

AKTUALNOŚCI BINET

Nr 4 / wrzesień 2009

www.koroun.edu.pl

Drogie Koleżanki i Koledzy!



Witam serdecznie po wakacjach, przekazując w Wasze ręce czwarty numer Aktualności BINet. Minione miesiące były czasem intensywnej pracy ośrodka referencyjnego, w którym to dzięki Waszemu zaangażowaniu gromadzimy coraz większą liczbę szczepów. Sieć rozrasta się, a my ze swojej strony staramy się zapewnić wszystkim jej członkom jak najszerszy dostęp do wiedzy i zebranych danych epidemiologicznych. W czerwcu br. odbyła się 3 konferencja BINet. Poświęcona była współpracy lekarzy i mikrobiologów w realizacji naszego projektu, i do tych osób była także skierowana. Współpraca ta, odgrywa kluczową rolę w udoskonalaniu monitorowania zakażeń w Polsce i prowadzi do sukcesów terapeutycznych. W ramach tej współpracy zapraszam do wzięcia udziału w opisywanym na ostatniej stronie konkursie.

Z pozdrowieniami,

Waleria Hryniewicz



Epidemiologia

Pozaszpitalne zakażenia inwazyjne wywoływane przez *Streptococcus pyogenes*

Dr n. med. Anna Skoczyńska

Streptococcus pyogenes (paciorkowiec ropotwórczy, beta-hemolizujący grupy A, GAS) jest drobnoustrojem chorobotwórczym wywołującym wiele zakażeń, z których najczęstsze to zapalenie gardła i migdałków podniebiennych oraz zakażenia skóry i tkanki podskórnej. Powoduje także ostre zapalenie ucha środkowego i zatok. Konsekwencją zakażeń mogą być odległe nieropne powikłania, takie jak choroba reumatyczna i kłębuszkowe zapalenie nerek. Oprócz tego GAS może wywoływać uogólniające się zakażenia przebiegające z objawami wstrząsu toksycznego (STSS, paciorkowcowy zespół wstrząsu toksycznego) często, jako następstwo martwiczego zapalenia powięzi. Szacuje się, że rocznie na świecie występuje ponad 600 000 przypadków zakażeń inwazyjnych wywołanych przez ten drobnoustrój, z czego około 25% kończy się zgonem. Ciężkie objawy zakażenia, piorunujący przebieg i najwyższa śmiertelność, sięgająca nawet 80%, towarzyszy zakażeniom przebiegającym z STSS. Większość zakażeń inwazyjnych wywołanych przez *S. pyogenes* ma charakter sporadyczny, a ponad 85% występuje w środowisku pozaszpitalnym.

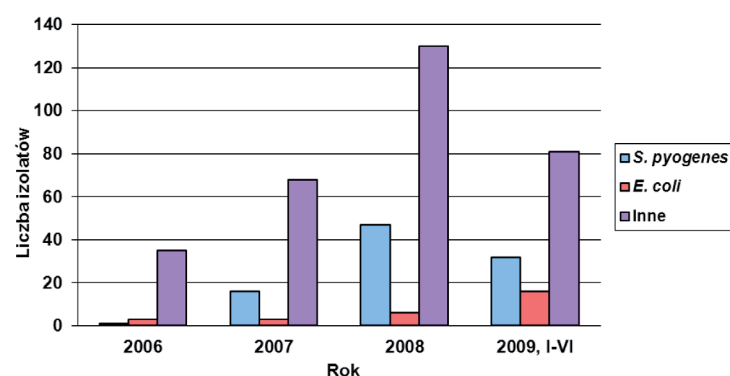
Od początku 2006 r. do połowy 2009 r. KOROUN otrzymał 96 izolatów *S. pyogenes* z zakażeń inwazyjnych (Ryc. 1.). Większość izolatów została wyhodowana z krwi pacjentów, a 4 izolaty wyhodowano z płynu mózgowo-rdzeniowego. Dziesięć przypadków zakażenia GAS miało miejsce u pacjentów poniżej 15 r.ż.

Pozaszpitalne zakażenia inwazyjne wywoływane przez *Escherichia coli*

Escherichia coli występuje powszechnie w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt oraz pełni rolę symbionta uczestnicząc w rozkładzie pokarmu i syntezie niektórych witamin. Wśród tego gatunku rozróżnia się 171 odmian antygenów somatycznych O, 55 odmian antygenów rzęskowych H i 80 odmian otoczkowych antygenów polisacharydowych K, co pozwala na podział serologiczny (ponad 160 serotypów). Ogólnie szczepy tego gatunku mogą wywoływać zakażenia dróg moczowych, szpitalne

zapalenia płuc, posocznicy, zakażenia miejsca operowanego, przewodu pokarmowego, zespół hemolityczno-mocznicy (HUS) oraz zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (ZOMR). Za większość inwazyjnych zakażeń u noworodków (około 80%), jak ZOMR czy bakteriemia/posocznica, odpowiadają szczepy *E. coli* K1, a ciężkość zakażenia jest bezpośrednio związana z obecnością i ilością tego właśnie antygeny otoczkowego. Otoczka polisacharydowa typu K1 jest zbudowana z polimeru kwasu sialowego i reaguje krzyżowo z polisacharydami otoczki szczepów *Neisseria meningitidis* serogrupy B. Należy o tym pamiętać stosując testy lateksowe, gdyż ten sam odczynnik wykrywa antygeny obu tych patogenów. Zatem identyfikacja do poziomu gatunku jest możliwa po zastosowaniu innych metod diagnostycznych, co zresztą jest zalecane przy wykonywaniu testów lateksowych (tekst poniżej).

Potencjalnym źródłem zakażenia szczepami *E. coli* K1 może być personel szpitala, gdyż badania przeprowadzone już wiele lat temu wykazały, że około połowa szpitalnego personelu pielęgniarskiego jest ich nosicielami. Źródłem wczesnego zakażenia *E. coli* mogą też być drogi moczowo-płciowe lub przewód pokarmowy zwłaszcza tych matek, których ciąża powikłana jest zakażeniem układu moczowego w okresie okołoporodowym. Czynniki ryzyka zakażenia *E. coli* ze strony noworodka są wcześniactwo, przerwanie ciągłości skóry oraz zaburzenia immunologiczne i metaboliczne.



Rycina 1. Liczba izolatów z gatunków *Streptococcus pyogenes*, *Escherichia coli* i Innych (głównie *Listeria monocytogenes*, *Streptococcus agalactiae*, *Staphylococcus aureus*) przesłanych do KOROUN od stycznia 2006 do końca czerwca 2009.

Od początku 2006 r. do połowy 2009 r. KOROUN otrzymał 28 izolatów *E. coli* z zakażeń inwazyjnych (Ryc. 1.), ale tylko 5 z nich pochodziło od noworodków, a 4 od niemowląt. Trudno jednak ocenić czy w Polsce jest rzeczywiście tak mało zakażeń u noworodków o etiologii *E. coli* czy też izolaty z tych zakażeń nie trafiają do KOROUN.

Dynamika epidemiologii inwazyjnej choroby pneumokokowej: przypadek serotypu 19A

Po wprowadzeniu do masowych programów szczepień (kalendarz) skonjugowanej szczepionki przeciw pneumokokom (PCV, pneumococcal conjugated vaccine), zaobserwowano szereg bardzo korzystnych zmian w epidemiologii inwazyjnej choroby pneumokokowej (IChP), jak drastyczne zmniejszenie zapadalności na IChP wśród szczepionych dzieci, zmniejszenie zapadalności na IChP wywołaną przez pneumokoki niewrażliwe na penicylinę oraz odporność populacyjną, o czym pisaliśmy już w ostatnim numerze Aktualności BINet.

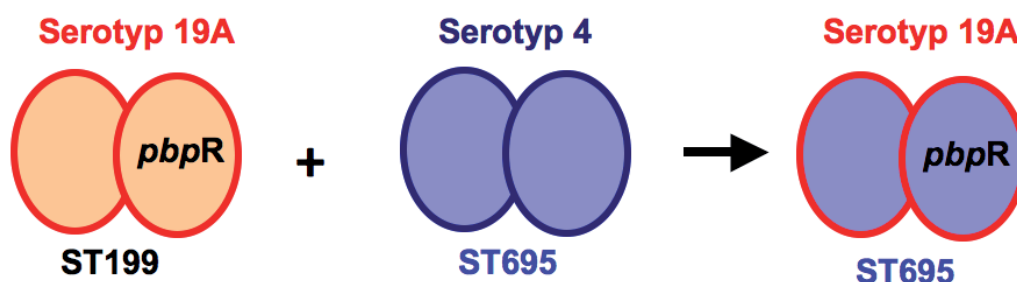
Poza powyższymi niezaprzeczalnymi pozytywnymi skutkami wprowadzenia szczepień, wyniki wielu badań, w krajach które wprowadziły szczepionkę, wskazywały na wzrost zakażeń wywołanych przez pneumokoki o serotypach nieszczepionkowych, a zwłaszcza niewrażliwego na antybiotyki serotypu 19A [Hicks i wsp. 2007, Singleton i wsp. 2007]. I chociaż niektórzy badacze sugerowali, iż wzrost ten może być związany z wprowadzeniem masowych szczepień i zastępowaniem serotypów szczepionkowych przez serotypy nieszczepionkowe, przyczyny tego zjawiska nie są wcale jednoznaczne. Świadczyć o tym mogą wyniki innego badania, w którym po wprowadzeniu PCV wskaźnik zachorowań na IChP wywołaną przez izolaty szczepionkowe zmalał o 92%, ale nie wzrósł wskaźnik zapadalności na IChP wywołaną przez serotypy nieszczepionkowe, w tym 19A [Lacapa i wsp. 2008]. Ponadto, badanie przeprowadzone w Korei Południowej wykazało wzrost częstości zachorowań wywołanych przez izolaty wieloopornego klonu 19A o 26% w ciągu 2 lat, jeszcze przed wprowadzeniem masowych szczepień [Choi i wsp. 2008]. Presja szczepień może odgrywać rolę w ekspansji izolatów serotypu 19A i innych nieszczepionkowych, ale wieloletnie obserwacje epidemiologii IChP w różnych

krajach i przytoczony tu przykład koreański wskazują, że przyczyn jest więcej. **W epidemiologii pneumokoków obserwuje się naturalnie występujące zmiany w dystrybucji serotypów w czasie;** przykładowo jeden z serotypów przez kilka lat może wywoływać znaczny odsetek zakażeń na danym terenie, a następnie bez wprowadzenia jakichkolwiek interwencji (np. szczepień) występować tylko sporadycznie. **Znaczący wpływ na zmianę sytuacji epidemiologicznej ma również nadużywanie i niewłaściwe stosowanie antybiotyków, wpływające na selekcję szczepów wieloopornych.** Okazało się, że większość doniesień na temat wzrostu zakażeń wywołanych przez izolaty 19A pochodzi z krajów/regionów, w których bardzo szeroko stosuje się lub nadużywa antybiotyków (zwłaszcza doustne cefalosporyny i azytromycynę) i w których wielolekooporność występuje często [Dagan i wsp. 2009]. Jednym z takich krajów, są Stany Zjednoczone, które jako pierwsze już w roku 2000 wprowadziły masowe szczepienia przeciw pneumokokom i gdzie doświadczenia związane z izolatami 19A są bogate. Przed wprowadzeniem szczepień w latach 1998-1999 izolaty serotypu 19A odpowiadały za 3% przypadków IChP (n=30; zapadalność 2,5/100 000) u dzieci poniżej 5 r.ż. w USA, a w roku 2004 było to 35% przypadków (n=103; zapadalność 7,8/100 000) [Hicks i wsp. 2007]. Tuż po wprowadzeniu szczepień, za wzrost liczby zakażeń wywołanych serotypem 19A odpowiadały izolaty obecne również przed wprowadzeniem szczepień, a więc przyczyny wzrostu zakażeń upatrywano w naturalnych trendach lub w niszy, zwolnionej przez izolaty szczepionkowe. Jednak badania w latach późniejszych wykazały pojawienie się izolatów o serotypie 19A, ale typie sekwencyjnym, ST695, charakterystycznym do tej pory dla izolatów szczepionkowego serotypu 4. Typ sekwencyjny pneumokoków ustalany jest na podstawie sekwencji siedmiu genów metabolizmu podstawowego i stanowi cechę określającą badany izolat. Obserwowana zmiana serotypu przy zachowanym ST wskazuje na zjawisko zmiany otoczki (capsule switching). W tym konkretnym przypadku izolat serotypu 4 o ST695 pobrał w procesie transformacji fragment DNA zawierający geny otoczki od izolatu serotypu 19A wraz z dwoma genami *pbp*, kodującymi białka wiążące penicylinę, w których zmiany wa-

runkują oporność na ten antybiotyk. W rezultacie powstał izolat o serotypie 19A oporny na penicylinę o typie sekwencyjnym ST695 [Brueggemann i wsp. 2007] (Ryc. 2).

Odpowiedzią na wyniki monitorowania, wskazujące na zmiany w epidemiologii IChP była m.in. decyzja o umieszczeniu antygeny 19A w przyszłej szczepionce 13-walentnej. Podobnie inne obserwacje po wprowadzeniu 7-walentnej szczepionki, dotyczące wzrostu liczby zakażeń wywoływanych przez niektóre izolaty serotypów nieszczepionkowych, stały się podstawą do rozszerzenia jej składu o wielocukry kolejnych serotypów, które są obecne w dostępnej już na rynku szczepionce 10-walentnej i przyszłej, będącej w ostatniej fazie rejestracji 13-walentnej.

W Polsce zakażenia inwazyjne wywoływane przez izolaty o serotypie 19A występują stosunkowo rzadko. Od początku działalności KOROUN, tj. od roku 1997 otrzymaliśmy 11 takich izolatów (po jednym w latach 2000, 2004, 2007, dwa w 2008 i sześć do końca czerwca 2009). Cztery z nich pochodziły od dzieci poniżej 5 r.ż. i jeden od 7-latka. Pozostałe zostały wyhodowane od osób w wieku 50-74 lat. Wśród 11 zebranych izolatów 2, pochodzące od osób dorosłych, posiadały obniżoną wrażliwość na penicylinę, pozostałe były wrażliwe. Doświadczenia KOROUN i innych krajów uczą, że dystrybucja serotypów wśród izolatów odpowiedzialnych za IChP może zmieniać się bardzo szybko. Dlatego konieczne jest stałe monitorowanie serotypów pneumokokowych, ze szczególnym uwzględnieniem tych, które są odporne na antybiotyki.



Rycina 2. Schemat zmiany otoczki (capsule switching). Izolat serotypu 4 o ST695 pobrał w procesie transformacji fragment DNA zawierający geny otoczki od izolatu serotypu 19A wraz z dwoma genami *pbp*, kodującymi białka wiążące penicylinę, w których zmiany warunkują oporność na ten antybiotyk. W rezultacie powstał izolat o ST695, serotypie 19A – oporny na penicylinę.

Klinika

Zapalenia płuc - epidemiologia, klinika i rozpoznawanie, zapobieganie i leczenie.

Dr n. med. Piotr Albrecht

W dobie przed wprowadzeniem koniugowanej szczepionki przeciw pneumokokowej częstość zapaleń płuc u dzieci w wieku poniżej 5 lat szacowano w Europie i Stanach Zjednoczonych Ameryki, podobnie jak w Polsce, na 34-40/1000. Zapadalność

u dorosłych szacowana jest na 5-12/1000, u osób w wieku >60 lat na 20/1000, a powyżej 70 r.ż. na ok. 34/1000. W krajach w których wprowadzono masowe szczepienia przeciw pneumokokowe epidemiologia uległa znacznej zmianie, zwłaszcza jeśli chodzi o populację poniżej 5 r.ż.

Etiologia

Patogeny zapalenia płuc zmieniają się wraz z wiekiem i tak u **noworodków** dominują paciorkowce z grupy B, gram-ujemne

pałeczki jelitowe, wirusy cytomegalii i *Listeria monocytogenes*.

U niemowląt i małych dzieci zakażenia wywołują głównie wirusy oddechowe, zwłaszcza RSV i paragrypy oraz *S. pneumoniae*, *H. influenzae* i *Chlamydia trachomatis*, niekiedy *Mycoplasma pneumoniae*, a u dzieci powyżej 5 r.ż. i u dorosłych *S. pneumoniae*, *M. pneumoniae* i *Chlamydia pneumophila*. Pamiętać trzeba, że nierzadkie (ok. 25%), zwłaszcza u dzieci, są zakażenia mieszane, wirusowo-bakteryjne (RSV i *S. pneumoniae*) i bakteryjno-bakteryjne (*Chlamydia pneumophila* i *S. pneumoniae*). Niestety aż w 50% przypadków etiologii zapalenia płuc nie udaje się ustalić. Warto sobie także uzmysłowić, że ***S. pneumoniae* jest wiodącym czynnikiem etiologicznym zapaleń płuc** wymagających hospitalizacji i odpowiada za 17-44% przyjęć do szpitala u dzieci oraz 13-34% u dorosłych. **Bakteria ta ponadto, jest najczęstszą przyczyną zgonów w skali świata i odpowiada za >1,6 milionów zgonów rocznie u dzieci < 5 r.ż., z czego główną przyczyną są właśnie zapalenia płuc.**

Klinika i rozpoznawanie

Obraz kliniczny zapalenia płuc u dzieci jest stosunkowo mało swoisty i nie pozwala na postawienie rozpoznania, a jedynie jego podejrzenie. Zapalenie płuc sugeruje zespół objawów w postaci gorączki, kaszlu, przyspieszenia oddechu (<2 m.ż. >60/min., 2-12 m. ż. >50/min. i >12 m. ż. >40/min.), wciągania międzyżebry, zmian osłuchowych (rzężenia i trzeszczenia), skrócenia odgłosu opukowego, a czasem także szmeru oskrzelowego. **Objawami najbardziej czułymi i swoistymi są tachypnoe, gorączka > 38°C oraz wciąganie międzyżebry.** U dzieci leczonych ambulatoryjnie nie jest konieczne wykonywanie zdjęcia radiologicznego klatki piersiowej. Jego wykonanie zaleca się (projekcja tylna-przednia), gdy obraz kliniczny jest niejednoznaczny, objawy nie ustępują pomimo leczenia i gdy podejrzewamy powikłania (odma, wysięk itp.). Ropniaki opłucnej są najczęściej spowodowane przez serotypy 1, 19A, 14 i 3 pneumokoka. Pokrycie tych szczepów zapewnia częściowo szczepionka dziesięciowalentna i w lepszym stopniu trzynastowalentna szczepionka skoniugowana, będąca obecnie w ostatniej fazie rejestracji. **Wskazaniami do hospitalizacji u dzieci** są: ciężki przebieg, niewydolność krążenia,

liczba oddechów > 70/min. u niemowląt lub > 40/min. u dzieci starszych, tętno >160/min. u niemowląt lub >140/min. u dzieci starszych, leukocytoza >20000 lub <3000, PaO₂ <60 mmHg, SaO₂ <92% i PaCO₂ >50 mmHg, objawy neurologiczne, zaburzenia świadomości i drgawki, odwodnienie i inne zaburzenia wodno-elektrolitowe, wyniki laboratoryjne świadczące o znacznym nasileniu zakażenia i zapalenia, rozległe zmiany i odczyn optucnowy w badaniu radiologicznym, współistnienie innych poważnych chorób, np. astmy, wady serca, wiek < 6 m. ż., ubóstwo i problemy psychologiczno-wychowawcze. Dorośli z zapaleniem płuc najczęściej zgłaszają gorączkę, bóle w klatce piersiowej i duszność a typowymi objawami stwierdzanymi w badaniu przedmiotowym są: tachypnoe, tachykardia, stłumienie odgłosu opukowego i trzeszczenia nad zmienionymi zapalnie polami płucnymi. U dorosłych badanie kliniczne charakteryzuje się wysoką czułością i niską swoistością dlatego w tej grupie wiekowej zalecane jest wykonanie zdjęcia radiologicznego klatki piersiowej. Wskazaniem jest zwłaszcza stwierdzenie takich zaburzeń jak tachykardia >100/min, tachypnoe >24/min, temperatura ciała > 38°C lub wykrycie zmian ogniskowych nad płucami w badaniu fizykalnym. W decyzji o hospitalizacji u dorosłych kierować się trzeba sprawdzonymi wskaźnikami i kategoriami ryzyka. Badania mikrobiologiczne są zasadne, gdy istnieje ryzyko zakażenia drobnoustrojem wielolekoopornym lub etiologia może być inna niż najczęściej spotykana (np. *Legionella*).

Zapobieganie

W 2000 r. początkowo w USA, a następnie, stopniowo, w ponad 35 krajach świata wprowadzono do kalendarza szczepień skoniugowaną siedmiowalentną szczepionkę pneumokokową (PCV7). Zarejestrowana jest ona między innymi w zapobieganiu inwazyjnym i nieinwazyjnym zapaleniom płuc. Badania kliniczne wykazały, że powszechne szczepienia doprowadziły do, pierwotnie zupełnie nieoczekiwanego, spadku częstości zapaleń płuc w ogóle sięgającego u dzieci poniżej 5 r.ż. od 17,7 - 30,3% (w zależności od zastosowanej analizy). **PCV-7 spowodowała ponad 60% redukcję hospitalizacji z powodu zapaleń płuc** z potwierdzeniem radiologicznym u dzieci

poniżej 2 r.ż. Podobne wyniki wykazano w Kielcach, jedynym mieście w Polsce, w którym od trzech lat szczepi się dzieci nieodpłatnie przeciw pneumokokom (PCV7).

Niespodziewanym efektem masowych szczepień PCV7 okazała się także tzw. odporność populacyjna polegająca na tym, że szczepienia niemowląt i małych dzieci doprowadziły do znacznego spadku zachorowań na inwazyjną chorobę pneumokokową (ICHp) w innych, nie szczepionych, grupach wiekowych. Spowodowane to zostało drastyczną redukcją nosicielstwa szczepów szczepionkowych u dzieci, głównego rezerwuaru pneumokoków w populacji ogólnej. W ramach tego efektu zmalała znacznie liczba, zwłaszcza inwazyjnych, zapaleń płuc u dorosłych.

Od kwietnia tego roku dostępna jest także 10 walentna skoniugowana szczepionka pneumokokowa (PCV-10). Szczepionka ta również ma wskazania do zapobiegania zapaleniom płuc, jednak tylko inwazyjnym. Pod koniec roku prawdopodobnie zarejestrowana zostanie 13 walentna szczepionka skoniugowana. Powstanie ona na bazie PCV-7 i zapewni największe pokrycie dla serotypów wywołujących zapalenie płuc i inne choroby pneumokokowe.

Leczenie

U noworodków do 3 tyg. ż. zapalenie płuc według Rekomendacji 2009 powinno być leczone ampicyliną z dodatkiem gentamycyny lub jednej z cefalosporyn III generacji (ceftriaksonu lub cefotaksymu).

U dzieci w wieku od 3 tygodni do 3 miesięcy, jeżeli zakażenie przebiega bez gorączki i ma charakter podostrego zakażenia a dodatkowo w badaniu radiologicznym zmiany mają lokalizację śródmiąższową, to należy podejrzewać *Ch. trachomatis*

i zastosować makrolid. W cięższym przebiegu choroby podejrzewać należy głównie *S. pneumoniae*, a rzadziej *S. aureus*. Cefuroksym i amoksycylina z klawulanianem to antybiotyki, które choć swoim spektrum obejmują oba te drobnoustroje i mają udokumentowaną skuteczność w zapaleniu płuc nie stanowią jednak optymalnego wyboru w bardzo ciężkich zakażeniach i wtedy u dziecka z objawami posocznicy lub w ciężkim stanie, terapia powinna obejmować skojarzenie ceftriaksonu lub cefotaksymu z kloksacyliną.

W wieku od 3 miesięcy do 5 lat antybiotyk pierwszego rzutu powinien być skuteczny głównie wobec *S. pneumoniae*. Według Rekomendacji 2009 lekiem z wyboru w tej sytuacji jest amoksycylina w dawce 75-90 mg/kg/dobę w 2 dawkach co 12 godzin przez 5 - 10 dni.

U dzieci w wieku 5-15 lat zaleca się zastosowanie amoksycyliny, ampicyliny (i.v.) lub wymiennie makrolidu. Gdy objawy wskazują na zakażenie atypowe a stan pacjenta jest ciężki zalecane jest kojarzenie antybiotyku beta-laktamowego (amoksycylina/ampicylina, ceftriakson, cefotaksym) z makrolidem; czas kuracji powinien wynosić 7-10 dni, a w przypadku azytromycyny 5 dni.

U dorosłych według Rekomendacji 2009 w pierwszym rzucie należy zastosować amoksycylinę doustnie (2 x 1,5-2g) lub ampicylinę dożylnie (4 x 1g). U młodych dorosłych z łagodnym przebiegiem zapalenia płuc możliwe jest zastosowanie w pierwszym rzucie makrolidu. W przypadku bardzo ciężkiego zapalenia płuc zalecane jest zastosowanie ceftriaksonu lub cefotaksymu z makrolidem. Czas leczenia powinien wynosić około 7 dni lub około 3 dni od uzyskania stabilizacji klinicznej.

Diagnostyka

Testy Lateksowe - doświadczenia KOROUN (cz.1)

Mgr Agnieszka Gołębiewska

Głównymi czynnikami etiologicznymi odpowiedzialnymi za bakteryjne, pozaszpitalne zakażenia ośrodkowego układu nerwowego (OUN) i inne choroby inwazyjne są: *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* oraz *Haemophilus influenzae*. Natomiast w okresie noworodkowym i niemowlęcym (do trzeciego miesiąca życia) za większość zakażeń OUN odpowiadają: *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* oraz *Listeria monocytogenes*. Rozpoznawanie oraz ustalenie czynnika etiologicznego posocznicy lub bakteryjnego zakażenia ośrodkowego układu nerwowego ciągle stanowi problem diagnostyczny, szczególnie w przypadku noworodków i niemowląt (z powodu np. niewielkiej ilości dostępnego materiału diagnostycznego). Wcześniejsza terapia antybiotykowa uniemożliwia uzyskanie dodatknej hodowli, która wciąż stanowi tzw. „złoty standard” w diagnostyce mikrobiologicznej i pozwala na dokładną charakterystykę izolatów bakteryjnych (określenie mechanizmów oporności, typowanie serologiczne, typowanie molekularne, itp.). Niestety jest to metoda czasochłonna, a w zakażeniach inwazyjnych konieczne jest podjęcie natychmiastowego leczenia. Dlatego też wciąż poszukuje się nowych, szybkich metod diagnostycznych. Jedną z nich, powszechnie stosowaną, są testy lateksowe. W momencie zakażenia organizmu w płynach fizjologicznych, takich jak płyn mózgowo-rdzeniowy, surowica czy mocz, pojawiają się rozpuszczalne antygeny bakteryjne. Wykrycie tych antygenów jest możliwe dzięki zastosowaniu testów lateksowych. Cząsteczki lateksu opłaszczane są swoistymi przeciwciałami skierowanymi przeciwko swoistym antygenom bakteryjnym. W rezultacie antygen bakteryjny łączy się ze swoistymi przeciwciałami, tworząc kompleks antygen-przeciwciało, widoczny w postaci aglutynacji. Przy braku antygeny w płynach fizjologicznych aglutynacja nie powstaje, a zawiesina lateksu pozostaje jednorodna. **Producenci testów podkreślają, że testy lateksowe są metodą skryningową i stanowią jedynie wstępną metodę diagnostyczną pomocną w momencie wystąpienia objawów klinicznych posocznicy lub zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych.**

Każdy wynik dodatni testu powinien być potwierdzony, najlepiej posiewem bądź inną metodą diagnostyczną np. PCR lub preparatem.

W KOROUN przeprowadzono badanie, celem porównania przydatności diagnostycznej testów lateksowych dwóch różnych producentów, dostępnych na polskim rynku (oznaczonych jako LATEKS 1 i LATEKS 2). Oba testy umożliwiają wykrycie antygenów bakteryjnych następujących czynników etiologicznych: *Neisseria meningitidis* (grupy A, B, C, W135, Y), *Escherichia coli*, *Streptococcus pneumoniae*, *Streptococcus* grupy B, *Haemophilus influenzae* typ b, obecnych w następujących materiałach: płyn mózgowo-rdzeniowy (pmr), surowica oraz mocz. Dodatkowo, zależnie od testu, istnieje możliwość poszukiwania antygenów bakteryjnych w hodowli krwi lub przeprowadzenia testu z koloniami bakteryjnymi z hodowli na podłożu stałym. Równocześnie w tych samych materiałach poszukiwano specyficznych sekwencji DNA z zastosowaniem reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR). Przeprowadzono badanie 117 próbek materiałów klinicznych (43 próbki płynu mózgowo-rdzeniowego, 74 próbek surowicy) dostarczonych do KOROUN w okresie od 01.12.2008r. do 31.03.2009r. Wyniki obu badań porównano ze sobą i zestawiono w tabeli 1. W 54 materiałach nie wykryto czynnika etiologicznego ani z zastosowaniem testów lateksowych, ani metodą PCR. W 11 przypadkach uzyskano dodatni wynik badania zarówno wykorzystując metodę serologiczną jak i metodę PCR. Innymi słowy w 58% wyniki testów lateksowych pokryły się z wynikami badania PCR. W pozostałych przypadkach istniały rozbieżności, zarówno pomiędzy wynikami testów lateksowych, PCR, jak i pomiędzy samymi lateksami (tabela 1).

Wątpliwości budzą zwłaszcza wyniki uzyskane dla LATEKSU 2. W 25 przypadkach dał on wynik dodatni, co nie znalazło potwierdzenia ani w LATEKSIE 1 ani w metodzie PCR. Spośród 25 dodatnich wyników, nie potwierdzonych innymi metodami, aż 76% dotyczyło odczynnika lateksowego *N. meningitidis* B/E. *coli*. Ponadto fałszywie dodatnie wyniki obserwowano głównie w przypadku zastosowania surowicy jako materiału do badań. Wyższą zgodność wyników zastosowanych metod

uzyskano dla płynu mózgowo-rdzeniowego (pmr). W 63% wyniki obu lateksów potwierdziły się z wynikami PCR, natomiast w przypadku surowicy w 51%.

Tabela 1 Zestawienie wyników testów lateksowych i metody PCR

Liczba badanych próbek	LATEKS 1	LATEKS 2	PCR
54	ujemny	ujemny	ujemny
11 (7 pmr)	dodatni	dodatni	dodatni
2	dodatni	ujemny	dodatni
9	ujemny	dodatni	dodatni
6	ujemny	ujemny	dodatni
4	dodatni	dodatni	ujemny
2	dodatni	ujemny	ujemny
25 *	ujemny	dodatni	ujemny

25* - w tym: 19 *N.meningitidis* B/*E.coli* (17 surowic, 2 pmr), 3 *N.meningitidis* A/Y (2 surowice, 1 pmr), 2 *N.meningitidis* C/W135 (1 surowica, 1 pmr), 1 GBS (surowica)

W 4 próbkach zaobserwowano bardzo duże rozbieżności pomiędzy wynikami LATEKS-u 1, LATEKS-u 2 i PCR (tabela 2). Przykładowo: LATEKS 1 wykazał obecność antygenów *S. pneumoniae*, LATEKS 2 równocześnie *N. meningitidis* B/E .*coli* i Hib, natomiast metodą PCR nie wykryto materiału genetycznego specyficznego dla poszukiwanych gatunków.

Tabela 2 Rozbieżności pomiędzy testami lateksowymi i PCR

Materiał	LATEKS1	LATEKS2	PCR
pmr	ujemny	B/ <i>E.coli</i> , Hib	ujemny
pmr	B/ <i>E.coli</i>	C/W135	ujemny
surowica	<i>S.pneumoniae</i>	B/ <i>E.coli</i> , Hib	ujemny
surowica	ujemny	B/ <i>E.coli</i> , Hib	ujemny

Pomimo wielu zalet (szybkość, możliwość wykrycia antygenów po rozpoczętej antybiotykoterapii, z uszkodzonych lub zabitych komórek) stosowanie testów lateksowych budzi kontrowersje. Wynika to z występowania zarówno fałszywie dodatnich, jak i fałszywie ujemnych wyników, co wpływa zarówno na czułość jak i swoistość metody. Przeprowadzone badanie wykazało, że do wyników otrzymanych za pomocą testów lateksowych należy podchodzić bardzo krytycznie. I chociaż w definicji Unii Europejskiej widnieje zapis, że dodatni wynik testu lateksowego dla płynu mózgowo-rdzeniowego (ale nie dla surowicy!) świadczy o potwierdzonym przypadku inwazyjnej choroby meningokokowej, to coraz więcej krajów odstępuje od wykonywania testów lateksowych, ze względu na trudności w uzyskaniu wiarygodnych wyników. Przykładem są Stany Zjednoczone, gdzie zgodnie z zaleceniami CDC (Centers for Disease Control and Prevention) tylko dodatni wynik posiewu stanowi potwierdzenie przypadku inwazyjnej choroby meningokokowej. Za prawdopodobny przypadek można uznać taki, w którym w badanej próbce płynu mózgowo-rdzeniowego wykryto obecność antygenów *N. meningitidis*.

Konkurs

Informujemy, że konkurs

„Współpraca lekarza i mikrobiologa w prawidłowej diagnostyce i terapii zakażeń inwazyjnych”, ze względu na małą ilość przysłanych prac zostaje przedłużony.

Prace prosimy przysłać do końca grudnia 2009 roku.

Zasady udziału: Prosimy o przygotowanie opisu przypadku inwazyjnej choroby bakteryjnej z uwzględnieniem: objawów klinicznych, przebiegu, zastosowanego leczenia oraz przeprowadzonej diagnostyki. Praca powinna zawierać nie więcej niż 2 strony maszynopisu. Prosimy o przesyłanie ich na nasz

adres pocztowy:

KOROUN,
Zakład Epidemiologii i Mikrobiologii Klinicznej
Narodowy Instytut Leków,
00-725 Warszawa

lub mailowy koroun@cls.edu.pl z dopiskiem: konkurs BINet.

Na Państwa prace czekamy do końca grudnia 2009 r.

Trzech zwycięzców nagrodzimy pozycjami książkowymi a najciekawszy przypadek opublikujemy na łamach aktualności BINet. Serdecznie zapraszamy.