

PL ISSN 0033-2100

PRZEGLĄD EPIDEMIOLOGICZNY

ORGAN
PAŃSTWOWEGO ZAKŁADU HIGIENY
I
POLSKIEGO TOWARZYSTWA EPIDEMIOLOGÓW I LEKARZY
CHORÓB ZAKAŻNYCH

KWARTALNIK

*

SUPLEMENT 3

TOM 54

WARSZAWA

ROK 2000

PAŃSTWOWY ZAKŁAD HIGIENY

**Polskie Towarzystwo Epidemiologów i Lekarzy
Chorób Zakaźnych**

XV Jubileuszowy Zjazd Bydgoszcz 21-23
września 2000 r.

**„ZAKAŻENIA - ETIOPATOGENEZA,
EPIDEMIOLOGIA, KLINIKA,
PROFILAKTYKA, LECZENIE”**

pod redakcją W. Haloty i M. Pawłowskiej

Publikacja zawiera referaty wygłoszone w trakcie Sesji
Naukowych Zjazdu

Komitet Naukowy

Przewodniczący: V-ce prof, dr hab. med. Waldemar Halota prof, dr
przewodniczący: hab. med. Janusz Ślusarczyk prof, dr hab.
med. Wojciech Służewski prof. dr hab. med.
Członkowie: Anna Boroń-Kaczmarska prof, dr hab. med.
Zdzisław Dziubek prof, dr hab. med. Janusz
Jeljaszewicz prof, dr hab. med. Jacek Juszczyk
prof, dr hab. med. Jan Kuydowicz prof, dr hab.
med. Wiesław Magdzik

**XV Jubileuszowy Zjazd Polskiego
Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy
Chorób Zakaźnych**

Szanowni Państwo,

Dobiegła końca XIV kadencja władz Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych. Był to pracowity okres dla Zarządu Głównego. Byliśmy organizatorami dwóch Konferencji Naukowych poświęconych ważnym problemom współczesnego zakaźnictwa.

Materiały tych konferencji zostały wydane w formie monograficznych opracowań: „Szczepienia i Szczepionki - Teraźniejszość i Przyszłość” oraz „Lekooporność drobnoustrojów”. Poza aspektami szkoleniowymi dodatkowym walorem obu tych konferencji było stworzenie płaszczyzny dla skoncentrowania wokół problemów zakaźnych przedstawicieli innych dyscyplin medycznych. Jest to niezbędne dla budowy autorytetu naszych specjalności medycznych.

Również Zjazd jest podporządkowany tej idei. W jego programie przewidziano 19 sesji problemowych i prawie 100 wystąpień ustnych. 240 prac przyjęto do sesji plakatowej. Obrazuje to rangę naukową tego wydarzenia.

Niniejsza publikacja zawiera większość referatów Zjazdu.

Dziękuję wszystkim, którzy przysłali pisemne opracowania swych wystąpień. Przy tej okazji chciałbym podziękować Komitetowi Organizacyjnemu Zjazdu, którego staraniom zawdzięczamy również tę publikację. Dziękuję również Redaktorowi Naczelnemu „Przeglądu Epidemiologicznego” za udostępnienie łamów pisma dla potrzeb Zjazdu.

Wyrażam nadzieję, że spotkanie w Bydgoszczy usatysfakcjonuje wszystkich uczestników, że wyjedziemy z Bydgoszczy bogatsi w wiedzę, zadowoleni z imprez towarzyszących i bardziej zintegrowani, czego nam ciągle potrzeba.



HISTORIA I WSPÓŁCZESNOŚĆ

Choroby zakaźne na ziemiach polskich w dwudziestym wieku

Danuta Naruszewicz-Lesiuk, Wiesław Magdzik

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny w Warszawie

Wiek dwudziesty był na ziemiach polskich okresem wielkich zmian politycznych, społecznych, demograficznych, narodowościowych, kulturowych, gospodarczych i... można byłoby wymieniać jeszcze wiele innych dziedzin. Wszystkie te zmiany miały większy lub mniejszy, ale zawsze istotny wpływ na występowanie i szerzenie się chorób zakaźnych.

Początkowe kilkanaście lat dwudziestego wieku to końcowy okres zaborów, podczas których ziemie polskie znajdowały się pod administracją trzech sąsiadujących krajów: Austrii, Prus i Rosji. Zróżnicowany stan sanitarny, różny poziom uświadczenia ludności, różne regulacje prawne w zakresie zapobiegania i zwalczania chorób zakaźnych powodowały, że warunki panujące w zaborze pruskim w mniejszym stopniu sprzyjały szerzeniu się chorób zakaźnych, niż w zaborze austriackim, a najgorsza sytuacja pod tym względem była w zaborze rosyjskim.

Sz szczególnie zła była sytuacja epidemiologiczna chorób szerzących się drogą pokarmową oraz gruźlicy i kiły, a także przenoszonych przez wesz chorób ricketcjowych z durrem plamistym na czele. Bardzo poważny problem zdrowotny stanowiła zimnica.

Jako przykład ważny dla charakterystyki sytuacji epidemiologicznej w tym okresie, mogą posłużyć dane dotyczące występowania duru plamistego. W latach 1905-1911 na terenie b. Królestwa Kongresowego liczba zarejestrowanych zachorowań na dur plamisty wahała się w granicach od 1200 – do 2718 przyp., liczba zgonów wynosiła ok. 220 rocznie; w Galicji rocznie zachorowań było ok. 2500 i zgonów przeciętnie 440.

Okres pierwszej wojny światowej i wojny bolszewickiej (1914-1922)

Pierwsza wojna światowa, już od początkowych miesięcy jej trwania, spowodowała gwałtowne pogorszenie się sytuacji epidemiologicznej.

Działania wojenne, przemieszczanie się całych armii, ewakuacje ludności cywilnej, zrujnowanie tysięcy budynków mieszkalnych powodujące ciasnotę w ocalałych pomieszczeniach, brak opału, oświetlenia, ograniczenie możliwości kąpieli, brak bielizny, odzieży, brak żywności graniczący z głodem, uczucie zagrożenia życia i co za tym idzie zły stan psychiczny sprzyjały szerzeniu się chorób zakaźnych.

Gwałtownie wzrastała liczba zachorowań na dur plamisty z ok. 35 tys. w 1916 r. do 44 tys. w 1917, prawie 100 000 w 1917 r., 230 tys. w 1919 r. W 1915 r. wystąpiła duża epidemia ospy w Galicji i pld. Kongresowce, rzędu kilkudziesięciu tysięcy zachorowań; w latach 1914, 1915 i 1917 wystąpiły duże epidemie czerwonki; w latach 1914 i 1915 zarejestrowano odpowiednio ok. 2700 i 30 000 chorych na cholere, zwłaszcza na terenie Galicji wschodniej. Liczba zachorowań na ospę, cholere i dur plamisty byłaby zapewne jeszcze większa, gdyby nie przedsięwzięte środki zapobiegawcze: szczepienia, kordon sanitarny oraz stacje kwarantannowe.

Historia i współczesność

Jak kształtowały się zachorowania i zgony pod koniec okresu wojennego najlepiej prześledzić na przykładzie danych z 1920 r. W tym czasie liczbę ludności Polski szacowano na 23-28 mln.

Zapadalność na dur plamisty na 100 000 w I- szej połowie roku wahała się od 250 do 365, w II- giej połowie obniżyła się do 40 na 100 000, przy śmiertelności 11-12%; na drugim miejscu znajdowały się zachorowania na czerwonkę - zapadalność ok. 70/100 000 przy śmiertelności ok. 18%, dur brzuszny z zapadalnością ok. 64/100 000 i śmiertelnością ok. 9% zajmował trzecie miejsce. Poważny problem stanowiła epidemia płonicy, która spowodowała ponad 16 tys. zachorowań - zapadalność 25 a śmiertelność 14%, ospa i błonica miały podobną zapadalność ok. 3,0 na 100 000, jednak śmiertelność w ospie była wyższa 17% w stosunku do 14% w błonicy.

Nie można nie wspomnieć o występujących w tym roku zachorowaniach na dur powrotny, wywołany przez *Borrelia recurrentis*, których było więcej niż na początku wojny, ok. 6 tys., czyli 2 razy więcej niż zachorowań na ospę - zapadalność ok. 7/100 000, oraz bardzo licznych i ciężkich zachorowaniach na zimnicę w tym również tropikalną.

Znany bakteriolog H. Zinsser taką właśnie sytuację miał na myśli pisząc „Miecze i lance, łuki i karabiny maszynowe, nawet materiały wybuchowe zaciążyły mniej na losach narodów niż wesz tyfusowa, pchła dżumowa i komar żółtej febry. Cywilizacja cofała się przed pelzakiem zimnicy, a wojska szły w rozsypkę, stawały się bezładną tłuszcą przed atakiem przecinkowca cholery lub zarazka czerwonki czy tyfusu”.

Dr Emil Godlewski, który był współautorem sprawozdania z działalności Naczelnego Nadzwyczajnego Komisariatu do spraw walki z epidemiami w roku 1920 i pierwszym półroczu 1921 r. pisał - „...materiały sprawozdawcze polskich instytucji pozwolą zapewne kiedyś na stworzenie jasnego obrazu cierpień społeczeństwa polskiego z epoki wojny a zarazem wysiłku jakiego ono dokonywało, aby uchronić się od ostatecznej zagłady”. O kosztach tego wysiłku świadczą m.in. nekrologi polskich lekarzy, którzy leczyli chorych na dur plamisty.

Rok 1921 upływał pod znakiem repatriacji - szacuje się, że do Polski tylko z terenów Rosji powróciło ponad 500 tys. osób. Dla uświadomienia włożonego wówczas wysiłku przytoczę tylko dwie informacje: od kwietnia do września 1921 r. w punkcie kontroli sanitarnej w Równem wykąpano i odwszawiono ok. 115 tys. osób, zaszczepiono przeciw ospie 46 tys. a tetra ponad 50 tys. osób. Przez punkt repatriacyjny w Baranowiczach, w tym samym czasie, przeszło ok. 150 tys. osób, z których zaszczepiono ponad 130 tys. osób.

Okres międzywojenny (1922-1939)

W latach 1922-1939 sytuacja demograficzna i gospodarcza Polski ulegała stopniowej stabilizacji. Ustępowały choroby, których szerzeniu się sprzyjały warunki wojenne. Ale choroby zakaźne nadal były pierwszoplanowym zagrożeniem zdrowotnym - były przyczyną ponad 20% wszystkich zgonów w Polsce.

W kraju zaczęła narastać epidemia błonicy - w stosunku do 1920 r., w 1927 r. zapadalność wzrosła trzykrotnie (25/100 000), w 1934 r. - sześciokrotnie (73/100 000).

W latach 1926-1930 wystąpiły duże epidemie płonicy - zapadalność osiągnęła poziom 107 do 140 na 100 000, również epidemie odry i krztuśca.

Dzięki szczepieniom opanowano ospę - ostatnie rodzime zachorowanie zanotowano w 1935 r. Intensywna akcja zwalczania zimnicy prowadzona w latach 1921-1926 przyniosła dobre rezultaty - od 1930 r. zapadalność spadła poniżej 1/100 000.

Pod koniec okresu międzywojennego nadal utrzymywała się dość wysoka zapadalność na gruźlicę, dur brzuszny i czerwonkę co wiązało się ze złym stanem higieny na znacznym terenie kraju, zanotowano też pierwsze, nieliczne, zachorowania na poliomyelitis.

Okres drugiej wojny światowej i pierwszych lat powojennych (1939-1949)

Druga wojna światowa a zwłaszcza działania wojenne w latach 1939, 1944 i 1945 spowodowały na terenie Polski ogromne, relatywnie znacznie wyższe niż w czasie I wojny światowej, straty w ludziach przede wszystkim ludności cywilnej. Zrujnowane miasta

Choroby zakaźne na ziemiach polskich w dwudziestym wieku

i wsie, trudności w produkcji i zaopatrzeniu w żywność, odzież, środki czystości, spowodowały gwałtowne pogorszenie warunków sanitarno-bytowych i ekonomicznych ludności cywilnej, zwłaszcza osób wysiedlonych z terenu województw zachodnich z terenu zamojszczyzny a po powstaniu wysiedlonych z Warszawy. Już nie w dramatycznych a wręcz tragicznych warunkach życiowych znalazła się ludność pochodzenia żydowskiego. Wszystko to przyczyniło się do wzrostu zachorowań przede wszystkim na choroby zakaźne.

Epidemiczne szerzenie się chorób zakaźnych przybrało ogromne rozmiary, ale nie tak wielkie jak w czasie pierwszej wojny światowej. Nie było epidemii cholery, nie występowały zachorowania na ospę. Epidemia duru plamistego osiągnęła szczyt w latach 1941 i 1942. W tym czasie tylko w Getcie Warszawskim zachorowało na dur plamisty ponad 100 000 osób.

Zapadalność na dur plamisty na terenie Generalnej Guberni, była w tych latach wprost niewyobrażalnie wysoka: 622 i 578 na 100 000, przy umieralności 34 i 38 na 100 000, ale już w latach 1943 i 1944 zmalała prawie trzykrotnie. Poza durem plamistym bardzo poważną przyczyną zgonów w obozach koncentracyjnych i wśród oddziałów partyzanckich była czerwonka, której obraz kliniczny w ekstremalnych warunkach życia jest wyjątkowo groźny.

W 1945 r, w roku zakończenia wojny, pierwsze miejsce pod względem zapadalności zajmował dur brzuszny, zapadalność osiągnęła niespotykany w historii naszego kraju poziom 455/100 000, na drugim i trzecim miejscu były błonica - 94,3 i dur plamisty - 74/100 000, dalsze miejsca zajmowały płońca - 52,5 i czerwonka - 31,3 na 100 000. Ponad pięciokrotnie wzrosła w stosunku do okresu przedwojennego zapadalność na zimnicę. Największe zagrożenie na przyszłość stwarzał jednak ogromny wzrost zachorowań na gruźlicę i choroby szerzące się drogą płciową, zwłaszcza na kiłę.

Sytuacja epidemiologiczna do 1950 r. nie tylko nie uległa stabilizacji ale nawet w niektórych dziedzinach ulegała pogorszeniu - było to spowodowane dużymi ruchami migracyjnymi ludności oraz m.in. przedłużającą się naprawą zdevastowanych urządzeń wodno-kanalizacyjnych. Zmiana granic Polski spowodowała przemieszczenie dużych grup ludności cywilnej ze wschodnich terenów do północnych i zachodnich rejonów kraju. Powracały do Polski duże grupy osób z obozów i miejsc deportacji z całej niemal Europy, wracali ludzie więzieni, ukrywający się w lasach i inni. Wymagało to zorganizowania szybkiego, w miarę możliwości planowanego zapobiegania i zwalczania chorób zakaźnych w Polsce. W wyniku zastosowania zabiegów higienicznych, a w szczególności z pomocą tzw. proszku DDT i innych insektycydów zlikwidowano wszawicę i w następstwie tego postać epidemiczną duru plamistego. Dzięki insektycydom i dzięki pracom melioracyjnym zwalczono rodzimą malarię. Ulegający polepszeniu stan sanitarny kraju, zwłaszcza poprawa zaopatrzenia w dobrą pod względem sanitarnym wodę i żywność oraz właściwe usuwanie nieczystości płynnych i stałych, powodowały stopniową poprawę sytuacji niektórych chorób szerzących się drogą pokarmową, jak np. duru brzuszego, w zwalczaniu którego pomocniczą rolę odegrały też szczepienia ochronne.

W tym miejscu, należy podkreślić znaczenie organizowanych na dużą skalę specjalnych akcji zapobiegania i zwalczania gruźlicy oraz wykrywania i leczenia chorób wenerycznych (słynna w latach powojennych akcja W).

Okres do 1990 r.

Druga połowa wieku - to okres endemizacji procesu epidemicznego wielu chorób, eradycji ospy prawdziwej i eliminacji duru plamistego, błonicy, zimnicy, poliomyelitis, poprawy sytuacji epidemiologicznej duru brzuszego, krztuśca, odry, płońcy i in. Osiągnięto to dzięki zastosowaniu insektycydów, szczepieniom, poprawie stanu sanitarno-higienicznego zwłaszcza w zakresie zapewnienia dobrej pod względem sanitarnym wody, żywności, właściwego odprowadzania nieczystości, leczeniu etiotropowemu.

W wyniku tych działań uległa zmniejszeniu nie tylko liczba zachorowań ale i liczba zgonów powodowanych przez choroby zakaźne. Zgony z powodu chorób zakaźnych stanowią

Historia i współczesność

obecnie 0,7 do 0,8% ogółu zgonów w kraju, należy podkreślić, że zgony z powodu gruźlicy stanowią powyżej 40% zgonów z powodu wszystkich chorób zakaźnych.

W drugiej połowie dwudziestego wieku pojawiły się i nabrały znaczenia, także na terenie Polski, choroby zakaźne, które nie występowały lub miały niewielkie znaczenie w latach wcześniejszych.

Do nich zaliczyć można:

- choroby szerzące się drogą naruszenia ciągłości tkanek (drogą krwi) a zwłaszcza wirusowe zapalenie wątroby typu B, C, w mniejszym stopniu D, zakażenia HIV, zachorowania na AIDS;
- choroby przenoszone przez kleszcze: borelioza, kleszczowe zapalenie mózgu;
- zachorowania wywołane przez *Mycoplasma pneumoniae* i przez pałeczki *Legionella*;
- wirusowe zapalenie wątroby typu A;
- zatrucia i zakażenia pokarmowe, zwłaszcza wywołane przez *S. enteritidis*;
- zakażenia szpitalne;
- zakażenia osób o zmniejszonej odporności

Tak więc entuzjazm wywołany zmniejszeniem umieralności i zapadalności na choroby zakaźne, charakterystyczny dla pierwszej połowy wieku, i wypowiedziane w drugiej połowie wieku emocjonalne stwierdzenia, że choroby zakaźne przestały być problemem, zostały opanowane i schodzą z wokandy itp. są niestety nieuzasadnione

Okres od 1990 roku - przełom wieków - pesymistyczno-optimistyczna wizja przyszłości

Na początku lat osiemdziesiątych WHO zachęcane powodzeniem akcji wykorzenia ospy, zainicjowało przygotowanie programów eliminacji i eradykacji następnych chorób zakaźnych (WHO - Karlove Vary - 1984). Po wielu różnych dyskusjach, w tym również krytycznych, po nowelizacji i uzupełnieniach programów, zaplanowano ostatecznie eradykację poliomielitis do 2000 r., odry - zależnie od Regionu na lata 2007 do 2010 r., eradykację świnki i różyczki na lata 2010 do 2020, wcześniej ma być opanowana różyczka wrodzona i tężec noworodków. Będzie to niewątpliwie ogromny sukces, ale zarazem rozwiązanie zaledwie małego wycinka nadal ogromnego problemu chorób zakaźnych i pasożytniczych.

Wiek XXI dziedziczy problemy, które są dalekie od opanowania a nawet mają tendencje narastającą. Są to :

- choroby szerzące się drogą naruszenia ciągłości tkanek, HIV/AIDS, wirusowe zapalenie wątroby, zwłaszcza typu C, choroba Creutzfeldta -Jacoba ;
- z chorób szerzących się drogą kropelkową:
epidemie grypy, lokalne epidemie parainfluenzy, legionelloza;
- choroby nawracające - np. gruźlica ale również kiła, rzeżączka;
- choroby nowo pojawiające się np. zakażenia wirusem Haantan, cholera wywołana przecinkowcem O139 i inne wibriozy np. wywołane *V. vulnificans*, zakażenia *E coli* O157:H7, listerioza.

Jest to tylko tło ogromnego problemu narastającej oporności drobnoustrojów zwłaszcza na antybiotyki i ogromnego problemu zakażeń szpitalnych .

Przedłużanie tego rejestru nie ma większego sensu ponieważ nigdy nie wyczerpie wszystkich zagadnień, chociażby dlatego, że w jego składzie wymienione są choroby nawracające i nowo pojawiające się. Ponadto w tym rejestrze przy stereotypowym podejściu do zagadnienia nie zostałyby uwzględnione zakażenia np. *Helicobacter pylori*, powodujące chorobę wrzodową żołądka i gastritis; *Chlamydia trachomatis* (bezplodność); *Campylobacter jejuni* wywołujące zespół Guillain -Barre, *Chlamydia pneumoniae* - czynnik etiologiczny miażdżycy.

Nie można nie zauważyć znacznych zmian w rozmieszczeniu geograficznym wektorów, co zagraża przywleczeniu na teren dotychczas tzw. dziewiczy nowych egzotycznych chorób, tak jak to wydarzyło się z zapaleniem mózgu Zachodniego Nilu zawleczonym przez komary do Nowego Jorku - w Polsce ten komar też występuje.

Choroby zakaźne na ziemiach polskich w dwudziestym wieku

I dlatego należałoby na początku nowego wieku zacząć od uściślenia pojęć i zakresu dziedziny „choroby zakaźne”.

Czy należy określenie „choroby zakaźne” zachować wyłącznie dla ostrych chorób zakaźnych, które wpisane są dla pamięci na druku zgłoszenia do stacji san-epid.

Czy nie nadszedł czas aby zamiast tego określenia posłużyć się pojęciem chorób infekcyjnych - tj. wszystkich chorób, w których patogenezie zasadniczą rolę odgrywa zakażenie jakimś drobnoustrojem.

Tego rodzaju podejście do zagadnienia uświadomiłoby wszystkim, że choroby zakaźne wymienione na karcie zawiadomienia o chorobie zakaźnej, to tylko część zagadnień, którymi zajmują się epidemiolodzy infekcjolodzy - a lista tych zagadnień będzie się niestety wydłużać w miarę rozwoju metod badań diagnostycznych i ...postępu tzw. cywilizacji.

Piśmiennictwo

1. Bilikiewicz T., Wszelaki S. : Krótki zarys dziejów nauki o chorobach zakaźnych. W Ostre choroby zakaźne. Podręcznik dla lekarzy (red) S. Wszelaki PZWL Warszawa 1956
2. Godlewski E., Schinzel Z. :Działalność Naczelnego Nadzwyczajnego Komisariatu do spraw walki z epidemiami w roku 1920 i pierwszym półroczu 1921. Przegl. Epidem. 1922, 11 (dodatkowy 7), 669-822
3. Jeljaszewicz J. : Nowe, ponownie pojawiające się zakażenia: globalne zagrożenia. Nauka 1999 (2), 17-39
4. Juszczyk J. : Choroby zakaźne w Polsce - kilka uwag na marginesie. Mikrobiologia Medycyna. 2000, 22 (1), 14-16
5. Kostrzewski J. (red) : Choroby zakaźne w Polsce i ich zwalczanie w latach 1919 1962. PZWL Warszawa 1964
6. Kostrzewski J. (red): Choroby zakaźne w Polsce i ich zwalczanie w latach 1961-1970. PZWL Warszawa, 1973
7. Kostrzewski J. (red): Choroby zakaźne w Polsce i ich zwalczanie w latach 1970-1979. Ossolineum Wrocław 1984
8. Magdzik W. : Sytuacja epidemiologiczna ostrych chorób zakaźnych po drugiej wojnie światowej. Postępy Mikrobiol. 1977, 16, (3), 5-14
9. Magdzik W. : Zadania w zakresie zapobiegania i zwalczania chorób zakaźnych w aktualnej sytuacji kraju. Przegl. Epid. 1983, 37 (1), 1-10
10. Naruszewicz-Lesiuk D. : Przewidywany rozwój sytuacji epidemiologicznej chorób zakaźnych w Polsce do roku 2000. Perspektywy zdrowotne Polski. Komitet Badań i Prognoz „Polska 2000”, 1987/2, 9-20 Ossolineum
11. Nadzwyczajny Komisariat do Walki z Epidemiami. Sprawozdanie z działalności NKWE za lata 1944-1945. Przegl. Epid. 1947, 1,(1), 5-83

Gruźlica w Polsce w XX wieku

Maria Miller

Zakład Promocji Zdrowia Państwowego Zakładu Higieny

Epidemiologię gruźlicy w XX wieku oraz jej prognozę wyznacza relacja pomiędzy stanem zakażenia prątkiem a zachorowaniem na klinicznie wyrażoną postać gruźlicy. Ryzyko zachorowania osoby zakażonej prątkiem szacuje się na 6–10% w ciągu przeciętnego trwania życia. Ryzyko to zależne jest od wieku: u niemowląt szacuje się je na ok. 40%; wśród

dzieci w wieku 1–5 lat zachoruje ok. 24% zakażonych prątkiem; a w wieku 11–15 lat ok. 15% zakażonych.

Ryzyko zachorowania osoby zakażonej zwiększa się, niekiedy bardzo znacznie, w sytuacji obniżonej odporności organizmu.

Miarą zakażenia prątkiem gruźlicy w populacjach nie szczepionych jest dodatni wynik odczynu tuberkulinowego. Wykorzystanie tego miernika jest ograniczone w krajach, w których stosowane są na szeroką skalę szczepienia BCG. Odczyny tuberkulinowe związane z zakażeniem prątkiem i obserwowane po szczepieniu BCG są bowiem w praktyce bardzo trudne do zróżnicowania.

Roczne ryzyko zakażenia prątkiem jest w oczywisty sposób związane z liczbą źródeł zakażenia prątkiem w populacji. Stwierdzono ilościową (liniową) zależność pomiędzy rocznym ryzykiem zakażenia prątkiem a zapadalnością na gruźlicę obficie prątkującą, tzn. taką postacią gruźlicy, w której obecność prątków stwierdza się w bezpośrednim badaniu mikroskopowym. Roczne ryzyko zakażenia 1% odpowiada zapadalności na gruźlicę z obfitym wydalaniem prątków 49/100 tys. (przy 95% przedziale ufności). Ta zależność pozwala z niewielkim ryzykiem błędu szacować roczne ryzyko zakażenia prątkiem w poszczególnych krajach i porównywać je w skali kontynentów, regionów świata.

Na początku wieku, a także później w okresie międzywojennym zakażenie prątkiem gruźlicy w Polsce było powszechne. Brak jednak informacji liczbowych określających globalną sytuację epidemiologiczną gruźlicy w tym okresie.

Statystyka gruźlicy na ziemiach polskich przez dłuższy czas ograniczała się tylko do sprawozdań szpitalnych z podaniem liczby chorych na gruźlicę oraz wyrwykowych danych o umieralności w różnych dzielnicach Polski. W latach 1880–1891 umieralność na gruźlicę wynosiła w Krakowie 700/100 tys.; we Lwowie 668/100 tys.; w Warszawie 310/100 tys. Teodor Dunin (1854–1909), na podstawie kart statystycznych starał się już wówczas wyjaśnić wpływ warunków socjalno-bytowych na poziom umieralności z powodu gruźlicy.

Pomimo podziału Polski na trzy zabory i konieczności podporządkowania się przepisom sanitarnym zaborców, świat lekarski utrzymywał łączność między sobą poprzez prasę, a nade wszystko dzięki systematycznym zjazdom lekarzy i przyrodników polskich. Z inicjatywy dr Tomasza Janiszewskiego (1867–1939) na IX Zjeździe Lekarzy i Przyrodników Polskich, który odbył się w Krakowie w roku 1900 utworzona została sekcja gruźlicza. Materiały sekcji gruźliczej stanowią bezcenne źródło informacji o stanie gruźlicy i walki z nią na ziemiach polskich.

Wynika z nich, że np. w Galicji na początku wieku umierało rocznie na gruźlicę i choroby zapalne narządu oddechowego co najmniej 45 tysięcy osób rocznie, co odpowiadało 670 zgonom na 100.000 mieszkańców. Spośród miast galicyjskich najwyższą umieralnością z gruźlicy na 100.000 mieszkańców wyróżniały się: Kraków – 1210, Lwów – 1130, Przemyśl – 980, Jarosław – 850, Tarnów – 780, Kołomyja – 730, Drohobycz – 710 i Stanisławów – 510 (wsk./100 tys.).

Informacje statystyczne z zaboru rosyjskiego były bardziej skąpe. Według Józefa Pola-ka umieralność z powodu gruźlicy w Warszawie w 1877 r. wynosiła od 400/100 tys. do 248,0/100 tys. w roku 1899. Natomiast w warszawskich szpitalach leczyło się z powodu gruźlicy 16.000 osób, w ciągu roku śmiertelność zaś wynosiła 30%. Dr Seweryn Sterling w oparciu o dane z 39 szpitali prowincjonalnych Królestwa Polskiego stwierdził, że śmiertelność hospitalizowanych w ciągu 5 lat chorych, „suchotników”, wynosiła 39%.

Dostępne, wycinkowe dane charakteryzujące natężenie umieralności z powodu gruźlicy wskazują, iż w 1917 roku w Warszawie umieralność z powodu gruźlicy wynosiła – 974, w Krakowie – 503, w Poznaniu 329 na 100 tys. W roku 1920 zarejestrowano umieralność w Warszawie – 340, w Łodzi – 375, w Krakowie – 369, w Poznaniu – 335 na 100 tys.

Szacowano, iż umieralność na gruźlicę w latach 1926–1932 wynosiła w Warszawie – 211, w Łodzi – 248, w Krakowie – 194, w Poznaniu 196 na 100 tys. ludności.

Bezpośrednio przed wybuchem drugiej wojny światowej – w latach 1936–1939 umie-

ralność wynosiła: w Warszawie - 187, w Łodzi - 215, w Krakowie - 158, w Poznaniu - 167 na 100 tys. ludności.

Druga wojna światowa spowodowała dramatyczne pogorszenie sytuacji gruźlicy: z jednej strony rzesze chorych wymagających pomocy, z drugiej zaś straty w kadrach lekarskich sięgające 50% stanu: zginęło ponad 20% członków Polskiego Towarzystwa Badań nad Gruźlicą. Brak jest z tego okresu jakichkolwiek liczbowych informacji o nasileniu gruźlicy, można jednak przypuszczać, że było ono ogromne.

W pierwszych latach po drugiej wojnie światowej gruźlica w Polsce osiągnęła takie rozmiary, że stała się prawdziwą klęską społeczną, prowadzącą do biologicznego wyniszczenia. Szacuje się, że w tych latach zachorowywało na gruźlicę 150 do 200 tysięcy osób rocznie, a liczba chorych wymagających opieki poradni przeciwgruźliczych szacowana była na 400-500 tysięcy osób. Gruźlica w znacznym stopniu atakowała dzieci i ludzi młodych. Choć nie w pełni porównywalne (ze względu na niejednorodność kryteriów), ale już systematycznie gromadzone są informacje o nasileniu gruźlicy w Polsce od początku lat 50-tych.

W 1950 roku zmarło z powodu gruźlicy 26.265 osób (105,8/100 tys.). Wśród osób zmarłych z powodu gruźlicy było 3.056 dzieci do 14 r. życia i 1647 młodocianych 15-19 lat. Zgony dzieci i młodocianych stanowiły ponad 18% ogółu zgonów powodowanych wówczas gruźlicą. W tych latach około 1.500 dzieci umierało z powodu najcięższej, obecnie prawie nie występującej postaci gruźlicy krwiopochodnej - gruźliczego zapalenia opon mózgowych i mózgu.

W końcu lat dziewięćdziesiątych umiera na gruźlicę ok. 1000 osób rocznie, a zgony wśród dzieci występują incydentalnie.

W tabeli I przedstawiono liczby i wskaźniki charakteryzujące umieralność powodowaną gruźlicą w Polsce. Trudno porównywać liczby różniące się tak znacznie. Charakteryzują one zupełnie odmienne sytuacje epidemiologiczne i zdrowotne społeczeństwa. Umieralność z gruźlicy w Polsce przestała być współcześnie wskaźnikiem epidemiologicznym, stała się miarą skali niepowodzeń w realizacji programu zwalczania gruźlicy i to niepowodzeń w zakresie sprawnego wykrywania chorych i trafnej diagnostyki. Zgony z powodu gruźlicy stanowią obecnie w Polsce około 0,3% ogółu zgonów i aż ok. 45% zgonów powodowanych chorobami zakaźnymi - wśród chorób zakaźnych pozostają pierwszą przyczyną zgonów.

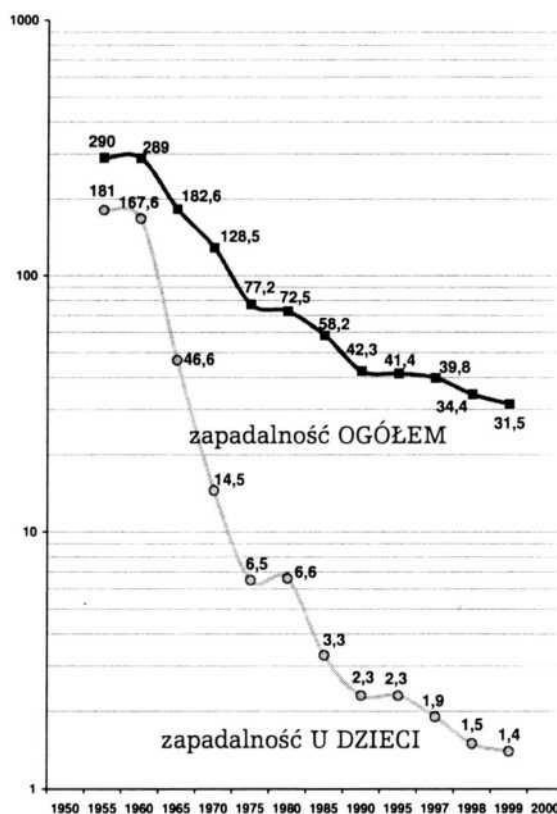
Tabela I. Umieralność z powodu gruźlicy w Polsce

	1950	1960	1970	1980	1990	2000
Liczba	26.265	11.602	8.306	2.945	1.349	>1000
wsk./100 tysięcy	105,8	39,2	25,3	8,3	3,5	~ 2,0

W warunkach Polski ważnym parametrem charakteryzującym nasilenie gruźlicy jest zapadalność. Analizując i oceniając zapadalność na gruźlicę w Polsce w okresie 100 lat, należy uświadamiać sobie fakt, iż ocenie podlegać mogą jedynie obserwowane trendy i skala zjawiska, a nie szczegółowe porównania liczb i wskaźników. Zmieniały się bowiem w czasie i doskonaliły systemy rejestracji chorych a skala niedorejestrowania zachorowań w latach powojennych trudna jest do oszacowania. Systematyczne informacje dotyczące zapadalności są dostępne od 1957 roku, choć całkowicie spójnymi i porównywalnymi wskaźnikami zapadalności na gruźlicę dysponujemy dopiero od 1965 roku. Wówczas to wprowadzono do epidemiologii gruźlicy jednolitą definicję przypadku, która uwzględnia zgodnie z zaleceniami WHO kryterium bakteriologiczne.

W latach 1957-1999 rejestrowana zapadalność na gruźlicę w Polsce zmniejszyła się ponad 6-cioкратно (p. ryc. 1).

Rycina 1. Zapadalność na gruźlicę w Polsce ogółem i u dzieci w latach: 1950-2000
Współczynniki na 100 000



W 1957 roku zarejestrowano ponad 82.000 zachorowań, w końcu roku 1999 notujemy ich ok. 12.179. Udział (%) zachorowań dzieci wynosił blisko 20% ogółu zachorowań, w końcu lat 90-tych wynosi 1,1%. Tempo zmniejszania się zapadalności na gruźlicę u dzieci było w Polsce znacznie szybsze niż u dorosłych (p. tab. I).

Ogromną rolę w opanowaniu gruźlicy u dzieci, a w szczególności ograniczeniu zachorowań na ciężkie, krwiopochodne postacie gruźlicy odegrały szczepienia BCG.

Cechy charakterystyczne zapadalności na gruźlicę w Polsce od wielu dziesięcioleci są podobne: zapadalność w Polsce charakteryzuje się spadkową tendencją, której średnioroczne tempo wynosi ponad 5%, lecz jej zmienność w poszczególnych latach jest znaczna – wynosi od 1% do 12% rocznie. W okresie kilku lat w dziewięćdziesiątych latach zanotowano przejściowy niewielki wzrost liczby zachorowań. Zapadalność na gruźlicę narasta wraz z wiekiem, jednak wśród osób chorych największy jest udział osób w wieku 20–44 lata (tab. II). Udział dzieci w wieku 0–14 lat zmniejsza się wyraźnie – w ostatnich latach wynosi 1,2%. Towarzyszy temu wzrost udziału wśród chorych osób powyżej 65 r. życia. Od wielu dziesięcioleci zapadalność na gruźlicę mężczyzn jest blisko dwukrotnie wyższa niż kobiet; na wsi występuje nieznacznie więcej zachorowań niż w mieście.

Udział gruźlicy potwierdzonej bakteriologicznie wśród zachorowań na gruźlicę czynną (tzn. taką, która w opinii lekarza wymaga leczenia p-prątkowego) od wielu lat jest w Pol-

Tabela II. Struktura zachorowań na gruźlicę w Polsce w latach 1957 - 1999

ROK	Ogółem		0 - 14		15 - 19		20 - 44		45 - 64		65+	
	L.	%	L.	%	L.	%	L.	%	L.	%	L.	%
1957	82.201	100,0	16.402	19,9	5.757	7,0	37.141	45,2	19.255	7,0	3.646	4,4
1960	85.529	100,0	16.580	19,3	4.781	5,6	37.244	43,5	22.746	26,6	4.178	4,9
1970	42.142	100,0	1.273	3,0	2.861	6,8	18.440	43,8	13.001	30,8	6.567	15,6
1980	25.807	100,0	573	2,2	990	3,8	11.358	44,0	8.434	32,7	4.452	17,3
1990	16.136	100,0	225	1,4	421	2,6	6.682	41,4	5.818	36,1	2.990	18,5
1995	15.959	100,0	205	1,3	363	2,3	6.337	39,7	5.577	34,9	3.477	21,8
1996	15.358	100,0	181	1,2	297	1,9	6.090	39,7	5.410	35,2	3.380	22,0
1997	13.967	100,0	161	1,2	301	2,2	5.397	38,6	4.987	35,7	3.121	22,3
1998	13.302	100,0	123	0,9	268	2,0	5.067	38,1	4.776	35,9	3.068	23,1
1999	12.179	100,0	108	0,8	268	2,3	4.187	34,3	4.680	38,4	2.936	24,1

sce podobny i wynosi nieco ponad 50%. W tej grupie gruźlicy potwierdzonej bakteriologicznie szczególne znaczenie mają przypadki obficie prątkujące, tzn. takie w których obecność prątków stwierdza się w bezpośrednim badaniu mikroskopowym – około połowa przypadków potwierdzonych bakteriologicznie – to przypadki obficie prątkujące. Epidemiologiczne znaczenie tej grupy jest szczególne ze względu na związek tej postaci gruźlicy z ryzykiem zakażenia prątkiem, o czym wspomniano wyżej.

Najczęstszą lokalizacją gruźlicy, ze względu na drogę wziewną szerzenia się zakażenia jest układ oddechowy. Gruźlica układu oddechowego stanowi w ostatnich latach ponad 96% ogółu zachorowań. Najczęstszymi postaciami gruźlicy pozapłucnej są: gruźlica układu moczowo-płciowego, gruźlica obwodowych węzłów chłonnych, kości i stawów.

Ważną informacją w epidemiologii gruźlicy są tzw. wznowy, tj. zachorowanie ponowne u osób, które już wcześniej były chore. Informacje o wznowach mogą być miarą skuteczności leczenia a także stanu endemii: narastający bowiem udział wznów wśród zachorowań z jednoczesnym obniżaniem się poziomu zapadalności jest informacją o ograniczającym się szerzeniu zakażenia. Udział wznów w zachorowaniach na gruźlicę w Polsce jest stosunkowo mały i wynosi w ostatnich latach 11–12%, przy czym wśród zachorowań ponownych znacznie wyższy jest udział przypadków potwierdzonych bakteriologicznie.

Zapadalność na gruźlicę w Polsce charakteryzuje się znacznym (blisko 3-krotnym) zróżnicowaniem regionalnym. Najwyższa zapadalność notowana jest w Polsce południowo-wschodniej, najniższa w okolicach północno-zachodnich.

Oceniając gruźlicę w Polsce z perspektywy 100 lat należy podkreślić, iż jest ona w końcu wieku zupełnie innym zjawiskiem zdrowotnym i społecznym. Ta odmienność polega nie tylko na tym, iż zmieniła się wielokrotnie częstość jej występowania, lecz także na tym, iż jest współcześnie chorobą o innym przebiegu i innym rokowaniu: stała się chorobą całkowicie i trwale wyleczalną. Zachorowania na ostre krwiopochodne postacie gruźlicy u dzieci ograniczono do pojedynczych przypadków.

Paradoksalnie gruźlica o znanym, zidentyfikowanym czynniku etiologicznym, znanych i skutecznych metodach leczenia i profilaktyki, jest wciąż problemem zdrowotnym świata, a Światowa Organizacja Zdrowia uznała gruźlicę za chorobę ponownie zagrażającą zdrowiu ludności świata.

Świat, w tym także Polska, znajdują się obecnie w bardzo szczególnym okresie pandemii gruźlicy – w osiemdziesiątych i dziewięćdziesiątych latach obserwuje się bowiem narastanie gruźlicy jako problemu zdrowotnego świata. Na ten globalny wzrost zachorowań składa się przede wszystkim znaczny ich wzrost w Afryce i Azji, gdzie występuje równocześnie najwyższy przyrost ludności, dotyczy jednak także w coraz większym stopniu rozwiniętych krajów europejskich.

Historia i współczesność

W wielu krajach rozwijających się, szczególnie w krajach Afryki tropikalnej, zanotowano W ostatnich latach znaczny wzrost zapadalności na gruźlicę, ściśle związany z występującą w tych krajach epidemią zakażeń HIV. Szczegółowa analiza danych epidemiologicznych zdaje się wskazywać, że zakażenie HIV może być odpowiedzialne za wzrost liczby przypadków gruźlicy rzędu 30-50%, dochodząc na niektórych obszarach o bardzo wysokim odsetku zakażonych HIV nawet do kilkuset procent.

Próby wyjaśnienia zjawiska narastania zachorowań na gruźlicę wyłącznie wpływem pandemii AIDS, co niewątpliwie ma miejsce w krajach Afryki tropikalnej a także w kilku krajach europejskich: we Francji i w Szwajcarii oraz w USA, nie wydają się być przekonujące w innych krajach, np. w Wielkiej Brytanii, krajach skandynawskich, Niemczech, Holandii a także w Polsce.

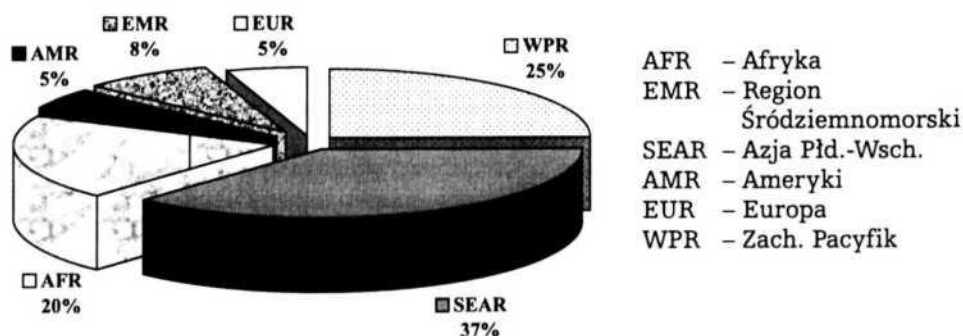
Ocenia się, że liczba osób zakażonych podwójnie (gruźlica i HIV) wynosi obecnie ponad 5 mln, w tym 150 tys. w krajach europejskich i Ameryce Północnej, a tempo wzrostu liczby osób podwójnie zakażonych wynosi około 5-10% rocznie (3, 8). W krajach Europy Zachodniej wyraźna większość zakażonych prątkiem to osoby powyżej 50 roku życia. Prawdopodobieństwo zakażenia podwójnego jest u nich mniejsze. W Polsce zakażonych prątkiem gruźlicy jest dziś ponad 12 mln osób, z tego ponad 40% to osoby poniżej 49 roku życia. Jednak liczba osób zakażonych HIV nie jest dotychczas aż tak znacząca.

W skali globalnej wpływ pandemii AIDS na sytuację epidemiologiczną gruźlicy wydaje się nie do uniknięcia.

Gruźlicę w świecie charakteryzują następujące fakty:

- 1/3 ludności świata, tj. około 2 miliardów ludzi jest zakażonych prątkiem gruźlicy. Z tej puli, która ma tendencję wzrostową, wywodzą się i jeszcze przez wiele lat wywodzić się będą nowe zachorowania na gruźlicę; liczbę chorych szacuje się na 16 mln, w tym ok. 7 mln to gruźlica prątkująca;
- corocznie zachorowuje na gruźlicę 8-9 milionów osób, w tym około 1,5 mln dzieci;
- z powodu tej w pełni wyleczalnej choroby corocznie umiera w świecie około 3 milionów ludzi, w tym około 500.000 dzieci. Gruźlica jest najczęstszą, pojedynczą przyczyną zgonów wśród chorób zakaźnych.
- 95% wszystkich zachorowań na gruźlicę i 98% zgonów z powodu tej choroby występuje w krajach Trzeciego Świata. W krajach tych gruźlica atakuje i pozbawia życia przede wszystkim ludzi młodych: 15-44 lata (p. ryc. 2).

Rycina 2. Geograficzny rozkład zachorowań na gruźlicę w 1997 r. wg regionów Światowej Organizacji Zdrowia *Estimates of TB burden by WHO Region **



Źródło/Date source:

Global burden of tuberculosis Estimated incidence, prevalence and mortality by country. JAMA 1999; 282; 677

Aktualna sytuacja epidemiologiczna gruźlicy oraz jej prognoza zdeterminowane są następującymi zjawiskami: znacznym zróżnicowaniem geograficznym poziomu zakażenia prątkiem i ryzyka zakażenia; znacznie zróżnicowanym ryzykiem zakażenia i dynamiką szerzenia się zakażenia HIV; zróżnicowaną strukturą demograficzną wpływającą na możliwość koincydencji zakażenia prątkiem i HIV; zróżnicowaną skutecznością prowadzonych akcji (programów) zwalczania gruźlicy; swobodnym przemieszczaniem się (migracją) ludności z obszarów o bardzo znacznym zagruźliczeniu do innych stref świata. Niekorzystnym prognostykiem gruźlicy jest ponadto narastający problem lekooporności prątków na podstawowe leki.

Znaczne rozpowszechnianie gruźlicy w świecie stwarza więc nadal określone zagrożenia także dla Polski i innych krajów europejskich.

Wybitny polski epidemiolog, myśliciel i filozof Marcin Kacprzak, ponad pół wieku temu wygłosił pogląd, że epidemiologię gruźlicy będziemy pisać od początku – wydaje się, iż doświadczamy takiego czasu.

Uwagi końcowe

1. Gruźlica na przełomie wieków zmieniła swoje oblicze: stała się na progu XXI wieku innym zjawiskiem zdrowotnym zarówno pod względem ilościowym, jak i ze względu na przebieg i rokowanie.
 2. Paradoksalnie, mimo dokładnego rozpoznania tej choroby (etiologia, diagnostyka, skuteczne leczenie, profilaktyka) gruźlica stanowi ważny problem zdrowotny i ponowne zagrożenie dla ludności świata.
 3. W Polsce od wielu lat realizowane są wszystkie elementy nowoczesnych programów zwalczania gruźlicy, w pełni dostępne jest skuteczne leczenie. Mimo znaczącej poprawy sytuacji epidemiologicznej gruźlicy w Polsce oraz utrzymującego się w ostatnich latach wyraźnie spadkowego trendu zachorowań, pozostaje ona ważnym problemem zdrowotnym w naszym kraju.
- Dystans jaki dzieli nasz kraj od krajów o najmniejszym nasileniu gruźlicy (Norwegia, Szwecja, Holandia, Dania) szacuje się na 20–25 lat.

Piśmiennictwo

1. Gruźlica i choroby płuc. Biuletyn Informacyjny Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc, Warszawa, 1998
2. Leowski J., Miller M.: Tuberculosis and AIDS: European and worldwide perspectives. *Soz. Präventivmed*, 1992 (37): 199–206
3. Leowski J., Miller M.: Ocena sytuacji epidemiologicznej gruźlicy w Polsce i w świecie. *Przegl. Epid.* 1993, 47, (3): 197–207
4. Niemirowska H.: Gruźlica, odkrycie, zapobieganie, leczenie. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Warszawa 1983
5. Raviglione M.C., Rieder H.L., Styblo K., Khomenko A.G., Esteves K., Kochi A.: Tuberculosis trends in Eastern Europe and the former USSR. *Tubercle Lung Dis.* 1994; 75: 400–6
6. Raviglione M.C., Snider D.E., Kochi A.: Global epidemiology of tuberculosis – morbidity and mortality of a worldwide epidemic. *JAMA*, 1995, (273): 220–226
7. Styblo K.: The relationship between the risk of tuberculosis infection and the risk of developing infectious tuberculosis. *Bull. Inf. Un. Tuberc.*, 1985, (60): 117–119
8. Szczuka I.: Gruźlica w Polsce w 1997 r. *Pneumonol. i Alergol. Pol.* 1999, 5–6: 189–199
9. Tuberculosis as an AIDS-defining disease in Europe. *HIV/AIDS Surveillance in Europe 1995*; 46
10. Surveillance of tuberculosis in Europe Euro TB. Report on tuberculosis cases notified in 1997. European Centre of the Epidemiological Monitoring of AIDS (CESES) WHO Collaborating Centre for the Surveillance of Tuberculosis in Europe. Royal Netherlands Tuberculosis Association (KNCV)

Zapobieganie i zwalczanie chorób zakaźnych w Polsce w okresie międzywojennym

Urszula Sztuka-Polińska

Terenowa Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Pabianicach

W 1918 roku, Niepodległa Polska była zlepkiem trzech terytoriów pozaborowych. Połączone obszary różniły się poziomem materialnym, poziomem kultury, stanem zdrowia mieszkańców. Czynnikiem scalającymi ziemie polskie były: język, religia, tradycje historyczne.

Sytuacja zdrowotna Polaków była krytyczna. Zniszczenia wojenne, głód, anty-sanitarne warunki życia, brak leków i środków sanitarnych, brak personelu medycznego, brak zakładów leczniczych, przemieszczanie się wojsk i ludności cywilnej sprzyjały wielkim epidemiom chorób zakaźnych. Za wschodnią granicą, na Ukrainie i w Rosji, panowała pandemia duru plamistego. W Polsce, szczególnie na terenach wschodnich, występowały masowe zachorowania na:

- choroby zakaźne szerzące się drogą pokarmową (dur brzuszny, czerwonka),
- choroby przenoszone przez wszy odzieżowe (dur plamisty),
- inne rickettsjozy, np. gorączka okopowa.

Na ziemiach południowo-wschodnich panowała cholera azjatycka i ospa prawdziwa. Taka sytuacja epidemiologiczna wymagała konieczności podjęcia działań zapobiegawczych, które podjął Rząd Polski.

Dnia 16 stycznia 1919 roku Naczelnik Państwa powołał dekretem Ministerstwo Zdrowia Publicznego (MZP). Zakres jego działania określiła zasadnicza ustawa sanitarna z dnia 19 lipca 1919 roku. Do szczególnych kompetencji MZP należało zwalczanie chorób zakaźnych ostrych i przewlekłych. W związku z tym MZP sprawowało nadzór nad:

- dezynfekcją, dezynsekcją, zakładami kąpielowymi,
- wyrobem surowic i szczepionek, pracowniami bakteriologicznymi,
- przewożeniem zwłok i cmentarzami,
- sprawami zaopatrzenia w wodę i usuwaniem wód zużytych,
- ochroną czystości powietrza, wody, gleby,
- higieną żywności, żywienia i przedmiotów użytku,
- higieną osiedli i mieszkań,
- nadzorem sanitarnym nad higieną społeczną.

Ważną i nadzwyczajną instytucją, która miała działać w sytuacji wyjątkowego zagrożenia epidemiami chorób zakaźnych stał się m.in. powołany przez Ministerstwo Zdrowia Publicznego 1 sierpnia 1919 roku Centralny Komitet do Spraw Walki z Durem Plamistym, popularnie nazwany C.K. Durem. Organ ten miał prowadzić akcję polegającą na dokładnej asenizacji ludności i otoczenia wszędzie tam, gdzie zanotowano przypadki zachorowań na dur plamisty. We wsiach i miasteczkach organizowano łaźnie i nakłaniano ludzi do częstego kąpania się, uruchamiano komory dezynsekcyjne do odswadzania sprzętu, odzieży i pościeli, przeprowadzano akcje odswadzania ludności, a także, wykraczając poza zwalczanie duru plamistego: oczyszczanie ścieków i ustępów, ich dezynfekcję, sprząatanie domów i ulic oraz usuwanie nieczystości stałych. Czynności te mieli wykonywać mieszkańcy osiedli, zgodnie z instrukcjami przekazywanymi przez samorządowe organy sanitarne. Nadzór nad działaniami i środki finansowe pochodziły z C.K. Duru.

Komitet działał przez siedem miesięcy (od 1 sierpnia 1919 roku do 5 marca 1920 roku) i jego praca nie przyniosła poważnych efektów w zwalczaniu duru plamistego. Przyczyną była nadmierna centralizacja i mało mobilna organizacja oraz brak szybkich decyzji i zbyt wąskie uprawnienia. Przeszkodę stanowił również brak sprzętu, mydła, bielizny,

kadry dezynfektorów, infrastruktury sanitarnej. Ludność, szczególnie w małych miasteczkach i na wsiach nie miała nawyku utrzymywania czystości wokół siebie, sprzątanania, walki z insektami, nie wiązała zachorowań na dur plamisty z warunkami życia. Do tego dochodziły nowe rzesze repatriantów oraz żołnierzy, które przyczyniły się do gwałtownego rozprzestrzenienia się duru plamistego pod koniec 1919 roku.

Ponieważ okazało się, że nie można było liczyć na czynniki samorządowe, tym bardziej, że epidemie brały początek głównie na wschodzie i południu, w miejscowościach najbardziej dotkniętych wojną i zniszczonych materialnie, należało powołać urząd, który dysponowałby środkami materialnymi i prawem egzekwowania swoich postanowień, większym nawet niż posiadało Ministerstwo Zdrowia utworzone do pracy w warunkach normalnych a nie wyjątkowych. Taki organ powołał Sejm na mocy ustawy z 14 lipca 1920 roku o utworzeniu urzędu Naczelnego Nadzwyczajnego Komisariatu do walki z epidemiami (NNK).

Minister Zdrowia Publicznego przekazał NNK swoje kompetencje w zakresie walki z ostrymi chorobami zakaźnymi. Były to uprawnienia w następujących sprawach:

- mianowania nadzwyczajnych komisarzy dla wyznaczonych obszarów kraju,
- powoływania do osobistych świadczeń na rzecz walki z epidemiami lekarzy i personelu pomocniczego,
- rekwirowania pomieszczeń i pojazdów,
- wpływania na producentów wytwarzających materiały i sprzęt potrzebny do zwalczania epidemii,
- wydawania powszechnie obowiązujących rozporządzeń w dziedzinie zwalczania epidemii,
- korzystania z sił wojskowych.

W początkowej fazie istnienia państwowej służby zdrowia powstała potrzeba zorganizowania zakładu badawczo-naukowego, w którym można byłoby przeprowadzać badania nad istotą szerzenia się, metodami zwalczania chorób zakaźnych i zapobiegania im. Istniało także duże zapotrzebowanie na surowice i szczepionki, bez których zapobieganie niektórym chorobom zakaźnym było wręcz niemożliwe.

Inicjatywę utworzenia Państwowego Centralnego Zakładu Epidemiologicznego, który później został przekształcony w Państwowy Zakład Epidemiologiczny, a następnie w 1923 roku w Państwowy Zakład Higieny podjął w 1918 roku L. Rajchman, dawny uczeń ojca polskiej mikrobiologii O. Bujwida.

Zadania Zakładu określono w statucie następująco: *„Rozpoznawanie chorób zakaźnych, badanie ich istoty, źródeł powstawania, sposobu zwalczania, oraz wyrobu i badania doświadczalnych surowic, szczepionek, krowianki i innych produktów bakteryjnych”*.

W 1926 roku do PZH została włączona, otwarta wówczas, Państwowa Szkoła Higieny, która kształciła kadry medyczne do walki z chorobami zakaźnymi.

W terenie działały państwowe władze sanitarne I i II instancji. Były to powiatowe i wojewódzkie wydziały zdrowia, które powstawały z okręgowych i powiatowych urzędów zdrowia tworzonych w latach 1917 – 1918.

Na czele wojewódzkiego wydziału zdrowia stał lekarz, któremu podlegało kilku inspektorów – lekarzy i farmaceutów, których głównym zadaniem było dokonywanie objazdów terenu województwa i kontrola różnych obiektów z punktu widzenia sanitarno-porządkowego. W latach 1935 – 1938 tworzono stanowiska epidemiologów wojewódzkich. Byli oni przedstawicielami wojewódzkiej władzy sanitarnej, a równocześnie stanowili ogniwo łączące administrację sanitarną z filiami PZH. Państwowymi władzami sanitarnymi I instancji były powiatowe urzędy zdrowia. Lekarz powiatowy sprawował nadzór sanitarny nad wszystkimi zagadnieniami dotyczącymi zdrowia publicznego na terenie powiatu, a do jego obowiązków jako kierownika akcji sanitarnej w powiecie należały następujące działania: walka z ostrymi chorobami zakaźnymi i społecznymi, oraz nadzór nad:

Historia i współczesność

- zaopatrzeniem w wodę,
- usuwaniem nieczystości,
- policją sanitarną (tj. działalnością kontrolera sanitarnego),
- żywnością,
- higieną szkolną.

Znał dokładnie stan każdej z tych dziedzin w obrębie powiatu. Prowadził dziennik zachorowań i zgonów na choroby zakaźne, wykazy rejestracyjne osób szczepionych, księgę sanitarną powiatu.

Lekarz powiatowy dysponował bardzo małym aparatem wykonawczym. Był to dozorca sanitarny, którego praca polegała na wykonywaniu inspekcji sanitarno-porządkowych i innych zadań zleconych mu przez lekarza urzędowego. Lekarz powiatowy był przedstawicielem państwowej służby zdrowia, zadania jego ograniczały się do czynności logistycznych i nadzorujących. Wykonawstwo zadań należało do samorządów zgodnie z zapisami zawartymi w ustawie sanitarnej z 19lipca1919 roku.

W 1925 roku przystąpiono do organizowania ośrodków zdrowia podporządkowanych samorządom powiatowym, których zadaniem była działalność zapobiegawcza, zwalczanie chorób zakaźnych i działanie na rzecz poprawy stanu sanitarnego kraju. W dwudziestoleciu międzywojennym, mimo trudności finansowych i niechęci lekarzy powstało około 600 ośrodków zdrowia, z czego 150 posiadało zatrudnionego kontrolera sanitarnego. Na wsiach w 1937 roku funkcjonowało około 400 ośrodków. Realizowały one zadania kontrolno-sanitarne, profilaktyczno-lecznicze i oświatowe.

W dwudziestoleciu międzywojennym tworzone polskie prawo sanitarne.

Przepisy prawne regulujące postępowanie administracji państwowej i samorządowej w sprawach bezpieczeństwa epidemicznego i sanitarnego na terenie Polski w okresie dwudziestolecia międzywojennego można podzielić na:

- ustawy,
- akty o randze rozporządzeń, okólników i pism okólnych, będące aktami wykonawczymi do ustaw o zwalczaniu chorób zakaźnych z 1919 i 1935 roku i zasadniczej ustawy sanitarnej z roku 1919,
- akty o randze ustaw, powołujące do życia centralne instytucje publicznej służby zdrowia,
- rozporządzenia i okólniki dotyczące higieny publicznej, w tym higieny żywności i higieny otoczenia.

Odrębną grupę stanowiły:

- przepisy wydawane w latach 1920 - 1935 przez Naczelnego Nadzwyczajnego Komisarza do walki z epidemiami,
- konwencje sanitarne międzynarodowe, do których Polska przystępowała lub które zawierała z państwami sąsiednimi.

Polskie prawo sanitarne II Rzeczypospolitej zaczęło urzeczywistniać się poprzez uchwalenie 3 w/w ważnych ustaw z 1919 roku, a zasadnicza ustawa sanitarna stała się podwaliną całego ustawodawstwa sanitarnego w Polsce w okresie międzywojennym.

Działania przeciwepidemiczne musiały być prowadzone przez fachowe kadry. Personel sanitarny tworzyli lekarze, kontrolerzy sanitarni i pielęgniarki. Pierwsze wykwalifikowane kadry zdrowia publicznego powstały w Polsce dzięki utworzonemu w roku 1924, w Państwowym Zakładzie Higieny - pierwszego w Europie centrum medycznego kształcenia podyplomowego - Państwowej Szkoły Higieny.

Polska Szkoła Higieny była inspirowana przez John Hopkins School of Public Health. Program nauczania obejmował bardzo szeroki zakres dziedzin zdrowia publicznego i był przystosowany do warunków panujących wówczas w Polsce.

Szkoleniu podlegali kandydaci na lekarzy powiatowych oraz personel pomocniczy. Szkoła istniała 13 lat i zaoferowała specjalistyczne szkolenia ponad 8-tysiącom pracowników medycznym.

Równocześnie z działaniami organizacyjnymi i legislacyjnymi prowadzono w kraju działania medyczne i zapobiegawcze. Starano się nie dopuścić do zawleczenia zakażeń z wschodniej granicy. Kordon sanitarny utworzony wzdłuż granicy polsko-rosyjskiej dysponował stacjami kwarantannowymi, szpitalami epidemicznymi, pracowniami bakteriologicznymi, komorami dezynfekcyjnymi, kąpieliskami. Głównym zadaniem ruchomych szpitali epidemicznych było zwalczanie duru plamistego. Szpital taki działał w promieniu 20 – 25 km. Czasem, kiedy brakowało miejsc dla chorych, uruchamiano szpitale prowizoryczne w budynkach szkół, w wagonach kolejowych, stawiano baraki na placach. W latach 1920 – 1923 uruchomiono 113 szpitali epidemicznych, w których było ogółem 6500 łóżek. Każdy szpital był wyposażony w bieliznę pościelową, posiadał ruchome aparaty dezynfekcyjne i komorę dezynfekcyjną. Komory dezynfekcyjno-kąpielowe obsługiwały ludność zamieszkującą teren działania szpitala. W chwili otrzymania wiadomości o wybuchu epidemii w promieniu działania szpitala wysyłano personel własnymi środkami transportu po chorych, których umieszczano w szpitalu i zależnie od sytuacji, dokonywano dezynfekcji, dezynsekcji i jednocześnie odkażano ich mieszkania.

Aby zapobiec przenoszeniu chorób zakaźnych w głąb kraju przez reemigrantów, na granicy rosyjskiej powstał kordon sanitarny, który był zbudowany z trzech pierścieni. Pierwszy pierścień obejmował posterunki jeszcze poza granicą Polski. Drugi był w stacjach granicznych, a trzeci w stacji docelowej. Najpierw udzielano przyjeżdżającym pierwszej pomocy, chorych umieszczano w przygotowanych wagonach i transportem przesyłano do drugiej linii kordonu – stacji kwarantannowej. Kwarantanna trwała co najmniej pięć dni. Ludzi chorych umieszczano w szpitalach, ludzi zdrowych kąpano, dezynfekowano ich ubrania i bagaże, poddawano odwszawianiu i szczepieniom ochronnym przeciwko drowi brzuszemu, cholerze, ospie prawdziwej. W punktach kontrolnych i kwarantannowych były pracownie bakteriologiczne, dzięki którym rozpoznawano czynniki etiologiczne chorób. Trzecim etapem podróży reemigrantów ze wschodu była stacja docelowa położona w miejscowości, do której chcieli dotrzeć. Tu przebywali pięć dni, do chwili osiedlenia się. Tu również były oddziały izolacyjne, w których zatrzymywano chorych zakaźnych, których nie zdołano wykryć wcześniej. Kontrola sanitarna i epidemiologiczna nad powracającymi Polakami ze wschodu ustawała w chwili ich stałego osiedlenia się.

O rozmiarach zjawiska imigracyjnego i rozmiarach klęski epidemii chorób zakaźnych mogą świadczyć dane:

- w październiku 1921 roku przez stację kwarantannową w Baranowiczach przeszło 50 981 osób powracających do Polski z Rosji; zmarło tam 497 osób;
- w listopadzie 1921 roku stacja w Baranowiczach przepравиła na drugą stronę kordonu 259 843 osoby, zmarło – 1400 osób;
- szacuje się, że w obszarze działania NNK do Polski przybyło ze Wschodu około 2 milionów ludzi.

W celu skutecznego zwalczania epidemii chorób zakaźnych niezbędne było przeprowadzanie dezynfekcji i dezynsekcji tam, gdzie pojawiły się zachorowania. Ustawa o zwalczaniu chorób zakaźnych zezwalała na zarządzanie przymusowego odkażania osób, sprzętów i pomieszczeń.

W czasie największego natężenia epidemii duru plamistego, w początku 1919 roku, brak było urządzeń dezynfekcyjnych i dezynsekcyjnych. O środki na zakupy urządzeń i sprzętu oraz na zakładanie łaźni zabiegało Ministerstwo Zdrowia Publicznego. Zakupiono 400 samochodów sanitarnych, 200 samochodów ciężarowych, 25 wielkich pralni, duże ilości mydła, aparaty i środki do dezynfekcji. W 1921 roku państwowa służba sanitarna dysponowała około 800 przyrządami do dezynfekcji, a służba samorządowa posiadała około 200 takich urządzeń.

W 1922 roku Ministerstwo Zdrowia Publicznego i Naczelny Nadzwyczajny Komisariat wyposażyły 60 kolumn ruchomych dezynfekcyjno-kąpielowych, które mogły przemieszczać się w terenie. Naczelny Nadzwyczajny Komisariat uruchomił 53 kąpieliska i łaźnie.

Historia i współczesność

Szczególą rolę w zahamowaniu epidemii chorób zakaźnych miały szczepienia ochronne. Dwukrotnie w okresie dwudziestolecia międzywojennego wprowadzano przymus powszechnego szczepienia zapobiegawczego - przeciwko ospie prawdziwej i przeciwko błonicy. Przeciwno innym ostrym chorobom zakaźnym stosowano szczepienia zgodnie z najnowszą wiedzą medyczną. Przez cały okres II Rzeczypospolitej był jeden centralny ośrodek - PZH, przygotowujący programy szczepień ochronnych, które były realizowane przez lekarzy powiatowych przy pomocy kolumn szczepiennych.

„W Państwie Polskim wszystkich mieszkańców obowiązuje przymusowe szczepienie ochronne przeciw ospie”. Tak brzmiał artykuł 1 ustawy z 19lipca1919 roku o przymusowym szczepieniu ochronnym przeciwko ospie. Szczepienia ochronne, potężna broń w zwalczaniu chorób zakaźnych - a w tym przypadku ospy prawdziwej - została skutecznie wykorzystana. Wysoka w 1921 roku liczba przypadków ospy prawdziwej (około 5000) w 1923 roku zaczęła spadać (około 500) i w latach trzydziestych rejestrowano pojedyncze zachorowania w ciągu roku. Ostatni przypadek rodzimy zarejestrowano w 1935 roku. W końcu lat trzydziestych rocznie wykonywano około 2 milionów szczepień ochronnych przeciwko ospie.

Przymusowe szczepienia ochronne przeciwko cholercze i durowi brzuszemu zostały wprowadzone w 1921 roku dla osób szczególnie narażonych na zachorowanie. Dotyczyło to pracowników zakładów sanitarnych, szpitali, zakładów wodociągowych, zakładów pogrzebowych, cementarzy, policji, kolejarzy. W walce z cholerczą szczepiono ludność z terenów zagrożonych epidemią. Wszystkie przypadki cholery, które stwierdzono w Polsce w latach 1919 - 1922 były zawleczone zza wschodniej granicy. Przeciwno cholercze szczepiono osoby z otoczenia chorego, korzystających z tych samych ustępów, także tych którzy mieli przypadkowy kontakt z chorym, np. w podróży. W ciągu trzech lat, między 1919 a 1922 rokiem zaszczepiono około 2 miliony osób. Dur brzuszny należał do chorób panujących endemicznie w Polsce w okresie międzywojennym. Był jedną z najbardziej rozpowszechnionych chorób zakaźnych. Pod względem nasilenia zachorowań Polska zajmowała jedno z pierwszych miejsc w Europie. Pod koniec trzeciej dekady XX wieku Państwowa Naczelna Rada Zdrowia przy Ministrze Spraw Wewnętrznych uznała sprawę walki z dorem brzuszny za jedno z najważniejszych zagadnień zdrowotnych w kraju. Jednym z wniosków przedstawionych do pilnej realizacji było rozpowszechnienie i spopularyzowanie spraw szczepień przeciwdurowych. Chociaż od 1924 roku liczba szczepionych osób ciągle rosła (w 1924 roku wynosiła 28656 osób, a w 1928 roku - 90000), efekty osiągnane nie były zadowalające.

Przeciwko durowi plamistemu szczepiono personel medyczny mający kontakt z chorymi, osoby z otoczenia i mieszkańców niektórych terenów endemicznych. Do szczepień stosowano szczepionkę profesora R. Weigla. W 1935 roku Minister Opieki Społecznej zarządził, by lekarze powiatowi, samorządowi, cały personel szpitalny oddziałów zakaźnych, służba dezynfekcyjna oraz kontrolerzy sanitarni - czyli wszyscy, którzy zwalczają dur osut- kowy byli jak najszybciej poddani szczepieniu zapobiegawczemu przeciwko tej chorobie.

Województwa południowe i południowo-wschodnie były terenami endemicznymi dla czerwonki. Walka z czerwonką była też prowadzona za pomocą szczepień ochronnych. W 1937 roku liczba szczepionych osób wynosiła około 300000.

W 1923 roku Minister Zdrowia Publicznego informował wojewodów, że coraz szersze rozmiary przybiera epidemia błonicy. W 1928 roku szczepieniami ochronnymi zwalczano już: płonicę i błonicę. Akcja szczepień ochronnych przeciwbłoniczych przyjęła znaczne rozmiary. W roku 1926 zaszczepiono 200 tysięcy dzieci i zanotowano, że odsetek zachorowań wśród szczepionych był czterokrotnie mniejszy niż wśród nie szczepionych. Gwałtowny wzrost zachorowań na błonicę w roku 1928 skłonił Ministra Spraw Wewnętrznych do walki z epidemią również poprzez powszechne stosowanie szczepień. Od 1936 roku szczepienia ochronne przeciw błonicy były przymusowe. Podlegały mu wszystkie dzieci do lat dziesięciu i dzieci między dziesiątym a piętnastym rokiem życia w przypadku

epidemii błonicy. Szczepienia były bezpłatne. Koszty ponosił skarb państwa. W 1937 roku zaszczepiono przeciw błonicy około 500 000 osób.

Prawie wszystkie szczepionki i surowice używane do celów zapobiegawczych i leczniczych były produkowane w Państwowym Zakładzie Higieny. Między PZH w Warszawie a podobnymi instytutami w Pradze, w Kopenhadze, w Zagrzebiu, Sofii i Bukareszcie zawarto międzypaństwowe umowy, które gwarantowały wzajemne dostarczanie szczepionek i surowic, na które było małe zapotrzebowanie. W latach 1919 – 1937 najczęściej produkowano krowianki, następnie anatoksyny błoniczej, szczepionki czerwonej doustnej, szczepionki płoniczej.

W celu zapobiegania szerzenia się chorób zakaźnych prowadzono działania socjalne mające poprawić warunki bytowe ludności – właściwe zaopatrzenie w wodę i usuwanie nieczystości, nadzór nad warunkami higienicznymi produkcji i dystrybucji żywności i nad stanem sanitarnym otoczenia człowieka.

Sprawa dostarczania dobrej wody miała istotne znaczenie dla zdrowia ludzi ze względu na „epidemie wodne”, czyli szerzenie się duru brzuszego, czerwoni, cholery azjatyckiej za pośrednictwem zanieczyszczonej wody.

Od 1919 roku wykonywano analizy wód studziennych w państwowych zakładach badania żywności i przedmiotów użytku. Próby wody do badań dostarczały organy sanitarne, które pobierały wodę zgodnie ze wskazówkami wydanymi przez Ministerstwo Zdrowia Publicznego, dołączając jednocześnie kwestionariusz opisujący rodzaj studni.

Pod koniec lat trzydziestych we wszystkich pracowniach wodnych Zakładu wykonywano rocznie około 20 000 badań chemicznych i bakteriologicznych. W 1938 roku woda była badana systematycznie w 55% wodociągów miejskich.

Na początku okresu międzywojennego w Polsce nie była jeszcze rozpowszechniona ścisła kontrola produktów spożywczych, mająca duże znaczenie w zwalczaniu chorób zakaźnych. Po 1918 roku próby żywności pobierane przez lekarzy powiatowych, zgodnie z instrukcją wydaną przez Ministerstwo Zdrowia Publicznego, mogły być wysłane do Państwowych Zakładów Badania Żywności w kraju. Działalność nadzoru nad żywnością w latach 1919 – 1928 prawnie oparta była na postanowieniach zasadniczej ustawy sanitarnej, gdzie szczególnym kompetencjom Ministerstwa Zdrowia Publicznego podlegał m.in. nadzór sanitarny nad środkami żywności i przedmiotami użytku, zakłady badania produktów spożywczych, a do organów samorządowych należało współdziałanie w nadzorze z władzą rządową nad produktami spożywczymi, sposobem ich przechowywania i sprzedażą. Od roku 1928 sprawa dozoru nad żywnością uzyskała ustawową podstawę prawną w postaci rozporządzenia Prezydenta RP z dnia 22 marca o dozorze nad artykułami żywnościowymi i przedmiotami użytku. Kontrola zakładów polegała na pobieraniu prób do badania, wykonywaniu badań, wydawaniu orzeczeń i kierowaniu na drogę sądową spraw o przekroczenie obowiązujących przepisów. Artykuły żywności, które na podstawie badania okazały się szkodliwe dla zdrowia, były wycofane z obiegu i niszczone w obecności dwóch urzędowych świadków.

W okresie dwudziestolecia międzywojennego władze państwowe i samorządowe szanując prywatność obywateli nie ingerowały w warunki zachowania higieny osobistej w życiu codziennym, choć zdawano sobie sprawę z ogólnie niskiej kultury sanitarnej większej części społeczeństwa, szczególnie zamieszkującego wieś. Tu można było działać pośrednio, trafiać do świadomości ludzi poprzez oświatę zdrowotną. Uznano natomiast, że państwo ma obowiązek zadbać o zachowanie czystości otoczenia człowieka. W wykładzie rozpoczynającym działalność Państwowej Szkoły Higieny W. Chodźko pisał: „... *mydło i woda są najpotężniejszą bronią dezynfekcyjną (...)* Podkreślając całą wagę uzdrowienia otoczenia dla higieny publicznej, nie można nie podkreślić, jak wielkim przesądem jest mniemanie, że, o ile w pewnej miejscowości nie ma nowoczesnych urządzeń sanitarnych, nic tam zrobić się nie da dla zwalczania chorób zakaźnych, nic zatem robić nie należy”.

Walka z chorobami zakaźnymi podjęta przez Polskę została dostrzeżona przez inne państwa i organizacje międzynarodowe. Sytuacja epidemiologiczna w Polsce i Rosji była nie-

bezpieczna dla Europy. Jednocześnie Polska jako największy kraj w Europie wschodniej mogła być uważana za poligon doświadczalny w zwalczaniu epidemii.

Na konferencji Czerwonego Krzyża w sprawie walki z dudem plamistym w czerwcu 1919 roku w Genewie podjęto deklarację o przystąpieniu do działań powstrzymujących rozprzestrzenianie się zarazy na zachód Europy. Rok później, w 1920 roku w maju w Rzymie i w czerwcu w Londynie, na konferencjach Ligi Narodów postanowiono powołać Komisję Epidemiologiczną Ligi Narodów z siedzibą w Polsce, której celem było udzielanie subsydiów na organizowanie szpitali zakaźnych i obsługę bakteriologiczną kraju. Udział w problemach zdrowotnych Europy i świata zaznaczyła Polska, gdy rząd zwołał w marcu 1922 roku, z inicjatywy Komisji Epidemiologicznej Ligi Narodów, Konferencję Sanitarną z udziałem reprezentacji prawie wszystkich państw europejskich. Polska zawarła konwencje sanitarne z krajami sąsiadującymi, a Liga Narodów przyjęła zadania międzynarodowego koordynatora działań przeciwepidemicznych w Europie Wschodniej. Podjęte działania przeciwepidemiczne doprowadziły w okresie kilku lat do zwalczania epidemii i osiągnięcia względnej stabilizacji sytuacji epidemicznej w Polsce, a ponadto:

- zlikwidowano (ospa prawdziwa, cholera azjatycka) lub ograniczono rozmiary epidemii w pierwszych latach powojennych dzięki powstaniu NKK i innych ogniw służby sanitarno-epidemiologicznej,
- zorganizowano sprawną sieć instytucji diagnostyczno-naukowych - PZH i jego filie wspierające działania lecznicze i profilaktyczne służby zdrowia,
- stworzono strukturę urzędów odpowiadających za zdrowie publiczne (ministerstwo, wojewódzkie wydziały zdrowia, lekarze powiatowi),
- tworzono i ujednoczono prawo sanitarne na ziemiach polskich, które znalazły się w granicach II Rzeczypospolitej.

Piśmiennictwo

1. Balińska M.A. : *Państwowy Zakład Higieny a zdrowie publiczne w Polsce, 1918- 1939*. „*Postępy Mikrobiologii*”. 1998, XXXVII, 1.
 2. Chodźko W.: *Aktualne sprawy sanitarne na terenie międzynarodowym i w Polsce*. „*Medycyna Doświadczalna i Społeczna*”, 1923, 1,3-4.
 3. Fijałek J., Indulski J.: *Opieka zdrowotna w Łodzi do roku 1945. Studium organizacyjno-historyczne*. Łódź 1990
 4. Godlewski E., Schnizel Z.: *Działalność Naczelnego Nadzwyczajnego Komisariatu do spraw walki z epidemiami w roku 1920 i pierwszym półroczu 1921 roku*. „*Przegląd Epidemiologiczny*”. 1922. Zeszyt 77.
 5. Hilarowicz T.: *Zarys polskiego prawa sanitarnego*. Warszawa 1926.
 6. Kacprzak M.: *W sprawie szkolenia personelu służby zdrowia*. (W: „*Prace Państwowej Szkoły Higieny*”. Warszawa T.I. 1926- 1928).
 7. Kostrzewski J.(red.): *Choroby zakaźne w Polsce i ich zwalczanie w latach 1919- 1962*. Warszawa 1964.
 8. Przesmycki F.: *Państwowy Zakład Higieny i jego rola w kształtowaniu służby zdrowia w okresie 1918-1963*. „*JSTauka Polska*”. 1964, 4.
 9. *Sprawozdanie o stanie zdrowotnym Rzeczypospolitej Polskiej oraz działania władz i instytucji zdrowia publicznego w roku 1923*. MZP. Warszawa 1925.
 10. Więckowska E.: *Zwalczanie ostrych chorób zakaźnych w pierwszym roku istnienia Polski Niepodległej 1918 - 1919*. „*Przegląd Epidemiologiczny*”. 1999,53,1-2.
 11. Więckowska E.: *Organizacja centralnych urzędów publicznej służby zdrowia w II Rzeczypospolitej*. „*Zdrowie Publiczne*”. 1983, 11.
1. Zasadnicza ustawa sanitarna z dnia 19 lipca 1919 r. (Dz.Pr.P.P. nr 63, poz. 731).
 2. Ustawa z dnia 19 lipca 1919 r. o przymusowym szczepieniu ochronnym przeciwko ospie. (Dz.U.R.P. nr 13, poz. 113 z 1934 r.) - (tekst jednolity).
 3. Ustawa z dnia 25 lipca 1919 r. w przedmiocie zwalczania chorób zakaźnych oraz innych chorób występujących nagminnie. (Dz.U.R.P.nr 67, poz. 402).

Problematyka zakażeń we współczesnych podręcznikach innych specjalności

Jan Kuydowicz

Klinika Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej w Łodzi

Zakażenie (infectio) to wniknięcie i rozwój biologicznego czynnika chorobotwórczego w ustroju człowieka lub zwierzęcia.

Zarażenie (invasioductio) to proces wnikania jakimikolwiek wrotami do organizmu gospodarza lub przenosiciela mechanicznego pasożytów – pierwotniaków i tkankowców.

Zakażenia lub zarażenia nie są więc równoznaczne z chorobą zakaźną lub inwazyjną – ich znaczna większość przebiega bezobjawowo lub skąpoobjawowo i nie jest ani rozpoznawane ani zgłaszane jako choroba o odpowiednim kodzie statystycznym (A 00 – B 99).

Jednak choroba zakaźna zawsze jest skutkiem zakażenia, a inwazyjna – zarażenia. Śledzenie statystyk tych chorób daje możliwość oceny liczby zakażeń i zarażeń na określonym terenie i w określonym czasie. Przykładowo w r.1999 w Polsce zarejestrowano łącznie 2658264 przypadki chorób zakaźnych i inwazyjnych, bez gruźlicy (12 179 zachorowań) i nieokreślonej – lecz wysokiej – liczby zapaleń płuc, odmiedniczkowych zapaleń nerek i innych skutków zakażeń narządowych, umykających statystyce.

Należy więc domniemywać, że kilka-kilkanaście milionów Polaków choruje co roku w wyniku zakażenia lub zarażenia i z reguły podlega leczeniu przez lekarzy różnych specjalności: pediatrów, internistów, lekarzy ogólnych lub rodzinnych, chirurgów itd. Rzadko pacjenci ci trafiają do specjalistów chorób zakaźnych – co należy uznać za zjawisko normalne, choć pozornie paradoksalne.

W tym miejscu wyłania się jednak problem uwzględnienia wagi zakażeń i inwazji w programie nauczania studentów wydziałów lekarskich i specjalizujących się lekarzy 4 głównych specjalności, w aspekcie nowoczesnego poglądu na istotę chorób zakaźnych i odpowiedniego leczenia.

Należy tu postawić 2 pytania:

- jak dużo miejsca podręczniki chorób „nie zakaźnych” poświęcają chorobom będącym skutkiem zakażenia lub inwazji?
- czy w ostatnim okresie czasu problematyka zakażeń w tych podręcznikach jest omawiana coraz szerzej czy też zauważana coraz mniej?

Znalezienie odpowiedzi na te pytania wymagało przeanalizowania podręczników (z reguły podręczników dla studentów) z lat 90-tych i z okresu lat wcześniejszych przy założeniu, że okres około 20-letni jest wystarczający dla zauważenia kierunku zmian w nauczaniu wiedzy medycznej. Drugim założeniem była ocena tylko „objętościowa”, bez jakiegokolwiek oceny merytorycznej tekstów dotyczących zakażeń i inwazji.

Ponieważ specjalność CHOROBY ZAKAŻNE jest z całą pewnością działem interny, analizę należy rozpocząć od podręczników **chorób wewnętrznych**.

1. „CHOROBY WEWNĘTRZNE” pod red. H.Denniga (tłumaczenie z niemieckiego) ukazały się w r.1962 jako 2 tomy o objętości 2170 stron.

Na uwagę zasługuje:

- rozdział „Choroby zakaźne” liczący 273 strony czyli 12,6% całości
- rozdział „Gruźlica” liczący 86 stron czyli 4,0% tekstu
- rozproszone wiadomości „zakaźne” łącznej pojemności 107 stron czyli 4,9%

Wszystkie problemy zakażeń i inwazji w tym podręczniku zajęły łącznie 466 stron – aż 21,5% całego tekstu

1. „NAUKA O CHOROBACH WEWNĘTRZNYCH” pod red. W.Orłowskiego w 8 tomach o łącznej objętości 3379 stron ukazała się w latach 1989–1990. Problematyce zakażeń zostało poświęconych 250 stron, czyli 7,4% całego tekstu. Poszczególne główne zagadnienia zajęły:

Historia i współczesność

- gruźlica 31 stron czyli 0,91%
 - zapalenie otrzewnej 28 stron czyli 0,82%
 - zapalenia płuc 18 stron czyli 0,53%
 - zakaźne choroby wątroby 7 stron czyli 0,21%
 - pasożytnicze choroby jelit 8 stron czyli 0,24%
2. „CHOROBY WEWNĘTRZNE podręcznik dla studentów” pod red. F.Kokota ukazały się w r. 1996 z 1014 stronami tekstu. Skutki zakażeń i inwazji przedstawione zostały na 57 stronach łącznie (5,62% całości), przy czym najwięcej tekstu poświęcono:
- wirusowemu zapaleniu wątroby i przewlekłemu zapaleniu wątroby 9 stron (0,1%)
 - zapaleniu płuc 10 stron (0,1%)
 - chorobie wrzodowej 9 stron (0,1%)
- Pediatria również wydaje się bardzo bliska chorobom zakaźnym - jako specjalności medycznej.
1. „PEDIATRIA” pod red. R.Barańskiego została opublikowana w r. 1974 jako 1-tomowe dzieło o 763 stronach. Osobny rozdział „Choroby inwazyjne wieku dziecięcego” zajął 148 stron czyli 19,4% całego tekstu.
- Wiadomości „zakaźne” rozproszone w innych rozdziałach liczyły łącznie 62 strony (8,1% całości), w tym:
- biegunki 12 stron (1,6%)
 - zapalenie płuc i opłucnej 14 stron (1,8%)
 - choroba reumatyczna (paciorkowce!) 15 stron (2,0%)
- Problemy zakażeń i inwazji w tym podręczniku osiągnęły objętość łączną 210 stron czyli 27,5% całego dzieła!
1. „PEDIATRIA” pod red. B.Górnickiego, B.Dębiec i J.Baszczyńskiego była opublikowana w r.1995 w formie 2 tomów o łącznej objętości 1447 stron.
- Chorobom zakaźnym poświęcono 71 stronicowy osobny rozdział czyli 4,9% tekstu. Problematyka zakażeń zajęła rozproszonych 106 stron (7,3%), dotycząc m.in.:
- ostrych chorób układu oddechowego - 13 stron (0,9%)
 - gruźlicy wieku rozwojowego - 11 stron (0,76%)
 - infekcyjnego zapalenia wsierdza i osierdza - 9 stron (0,62%)
 - nabytego niedoboru odporności (AIDS) - 5 stron (0,34%)
 - zakaźnych chorób skóry - 5 stron (0,34%)
- Łącznie problematyka zakażeń zajęła 177 stron, czyli 12,23% podręcznika.
- Chirurgia wydaje się pełna problemów zakażeń, być może jest to nawet najważniejszy obecnie temat tej specjalności medycznej.
1. „CHIRURGIA podręcznik dla studentów medycyny” pod red. Z.Łapińskiego ukazała się w r. 1973 jako 1 tom o 719 stronach tekstu. Osobny rozdział „zakażenia chirurgiczne” (w tym m.in. tężec, zgorzel gazowa, zakażenia szpitalne) zajął 36 stron (= 5,0% całości). Pozostałe problemy zakażeń zostały rozsiane na 37 stronach różnych rozdziałów (= 5,1%), przy czym następujące zagadnienia zostały wyróżnione:
- zapalenie otrzewnej - 10 stron (1,4%)
 - zapalenie wyrostka robaczkowego - 8 stron (1,1%)
 - zapalenie płuc i opłucnej - 6 stron (0,83%)
- Całość problematyki zakaźnej w tym podręczniku zawarta została na stronach 73 czyli na 10,1% tekstu.
1. „CHIRURGIA dla studentów medycyny” pod red. J.Fibaka wydana została w r.1996 w objętości 802 stron. Problematyka zakażeń ukazana została w różnych rozdziałach zajmując łącznie 60 stron czyli 7,5% całego tekstu. Poszczególne tematy to:
- tężec i zgorzel gazowa - 3 strony (0,37%)
 - wstrząs septyczny - 2 strony (0,25%)
 - zakażenia szpitalne - 8 stron (1,0%)
 - zakażenia okołoperacyjne - 5 stron (0,62%)

- zakaźne choroby skóry – 5 stron (0,62%)
- 2. „CHIRURGIA Repetytorium” autorstwa J.Fibaka została wydana w r.1998 i liczy 465 stron. Także tutaj cała problematyka zakażeń została rozproszona w wielu rozdziałach, zajmując ostatecznie 42 strony czyli 9,0% tekstu.
- 3. Najobszerniej przedstawione tematy „zakaźne” to:
 - zakażenia okołoperacyjne, w tym profilaktyka HIV – 9 stron (1,9%)
 - zakażenia szpitalne – 7 stron (1,5%)
 - choroby zapalne powłok – 6 stron (1,3%)
 - tężec i zgorzel gazowa – 3 strony (0,65%)

Ginekologia z położnictwem to ostatnia z 4 głównych specjalności medycznych – również bogata w swoje problemy spowodowane zakażeniami.

1. „POŁOŻNICTWO I GINEKOLOGIA podręcznik dla studentów” pod red. S.Soszki zostało wydane w r. 1985 jako jeden 564-stronicowy tom. Problematykę zakażeń przedstawiono w wielu rozdziałach, łącznie zajęła ona 37 stron (6,56% całości tekstu). Za najważniejsze problemy „zakaźne” autorzy uznali:

- zakażenia, zarażenia i stany zapalne narządów płciowych – 21 stron (3,72%)
- choroby zakaźne w ciąży – 5 stron (0,88%)
- zakażenia swoiste łożyska – 2 strony (0,35%)

2. „POŁOŻNICTWO I GINEKOLOGIA podręcznik dla studentów” pod red. T.Piskorskiego wydano w r.1991 z tekstem obejmującym 502 strony. Zakażenia zaprezentowane zostały wyłącznie w formie rozproszonej, zajmując łącznie 28 stron (5,58% całego tekstu). Najwięcej uwagi poświęcono poniższemu tematowi:

- zakażenia i zapalenia żeńskich narządów płciowych – 12 str. (2,39%)
- zakażenia połogowe i sutka – 6 stron (1,19%)
- AIDS 3 strony (0,6%)

3. „GINEKOLOGIA podręcznik dla lekarzy i studentów” pod red. Z.Słomko ukazała się w r.1997 i liczy łącznie 742 strony formatu A-3. Skutki zakażeń i zarażeń zostały opisane w wielu miejscach dzieła, łącznie zajmując w nim 51 stron czyli 5,9% opublikowanego tekstu. Najwięcej stron zajęły następujące tematy:

- zakażenia żeńskich narządów płciowych – 21 stron (2,8%)
- zakażenie wirusem HPV (wirus onkogenny!) – 8 stron (1,08%)
- wstrząs septyczny – 5 stron (0,67%)

Przedstawiona powyżej analiza zawartości 11 podręczników czterech podstawowych dziedzin medycyny ludzkiej nie upoważnia do sformułowania jakichś fundamentalnych wniosków. Suche liczby i wielkość odsetków nic nie mówi o merytorycznej wartości fragmentów tych podręczników poruszających problemy zakażeń i inwazji. Tym niemniej na jej podstawie można zarejestrować **następujące obserwacje**:

- podręczniki chorób wewnętrznych i pediatrii opublikowane w latach 90-tych zawierają zbyt mało wiedzy o zakażeniach i inwazjach
- podręczniki chirurgii i ginekologii zawierały poprzednio i zawierają nadal szczątkową wiedzę o problemach „zakaźnych”
- na przestrzeni ostatnich 20–30 lat obserwuje się wyraźny spadek zainteresowania problemami „zakaźnymi” w podręcznikach 4 głównych dziedzin medycyny klinicznej.

Za miniony wzór należy uznać podręcznik interny z r.1962 pod red. H.Denniga, którego rozdziały „Choroby zakaźne” i „Gruźlica” zawierają wiedzę ciągle aktualną.

Jednocześnie należy wyrazić pogląd, że redagowanie rozdziałów poświęconych zakażeniom i zarażeniom we wszystkich podręcznikach dla studentów, bez względu na specjalność, powinno być zlecane mikrobiologom i specjalistom chorób zakaźnych – a nie autorom znającym tę problematykę tylko teoretycznie, powierzchownie i z opóźnieniem (co często widać w trakcie lektury odpowiednich rozdziałów).

Historia i współczesność

Piśmiennictwo

1. Barański R. (red.) „Pediatria” PZWL Warszawa 1974
2. Dennig H. (red.) „Choroby wewnętrzne” PZWL Warszawa 1962
3. Fibak J. „Chirurgia. Repetytorium” Wydawnictwo Lekarskie, PZWL 1998
4. Fibak J. (red.) „Chirurgia dla studentów medycyny” Wydawnictwo Lekarskie PZWL 1996
5. Górnicki B. (red.) „Pediatria” Wydawnictwo Lekarskie PZWL 1995
6. Kokot F. (red.) Choroby wewnętrzne” wydanie 6, Wydawnictwo Lekarskie PZWL 1996
7. Łapiński Z. (red.) „Chirurgia” PZWL Warszawa 1973
8. Orłowski W. (red.) „Nauka o chorobach wewnętrznych” w 8 tomach. PZWL Warszawa 1989-1990
9. Pisarski T.(red.) „Położnictwo i ginekologia” PZWL Warszawa 1991
10. Słomko Z. (red.) „Ginekologia” Wydawnictwo Lekarskie PZWL 1997
11. Soszko S. (red.) „Położnictwo i ginekologia” PZWL Warszawa 1985
12. „Wielki Słownik Medyczny PAN” Wydawnictwo Lekarskie PZWL 1996

Problemy demograficzne Polski na przełomie wieków z punktu widzenia epidemiologa

Wiesław Magdzik

Państwowy Zakład Higieny w Warszawie

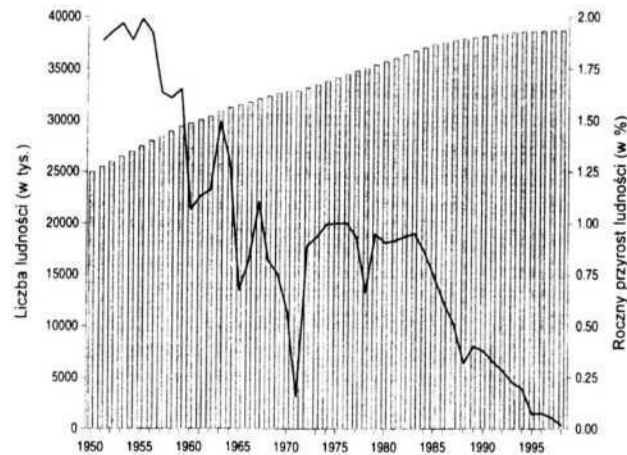
1. Sytuacja demograficzna pod koniec XX wieku

Pod względem demograficznym okres powojenny w Polsce, aż po osiemdziesiąte lata to okres wyżu demograficznego określanego jako eksplozja demograficzna z przejściowym osłabieniem tempa wzrostu ludności w latach sześćdziesiątych i pierwszych siedemdziesiątych. Wynikiem tej eksplozji był wzrost liczby ludności kraju od 25 milionów w 1950 r., a nawet niższej od 24 milionów liczby w 1946 r. do 38 milionów w 1989 r. tj. o ponad 52%. Należy docenić, że było to wynikiem dużych wyrzeczeń całego narodu i pozwoliło na zablźnienie biologicznych strat poniesionych podczas wojny. W poszczególnych latach tego okresu eksplozji demograficznej przyrost liczby ludności dość znacznie różnił się. Różnice te spowodowane były głównie liczebnością roczników, które wchodziły w wiek rozrodzcy. Natomiast po 1989 r. wzrost liczby ludności był niewielki od 38038 tysięcy w 1989 r. do 38667 tysięcy w 1998 r. (Ryc.1).

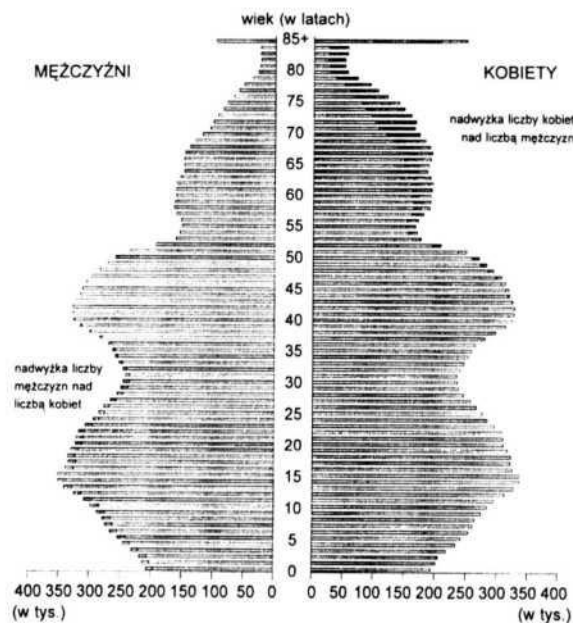
Tragiczne losy naszego narodu w XIX i XX wieku, powojenna eksplozja demograficzna i zmniejszenie liczby urodzeń żywych w latach sześćdziesiątych, a zwłaszcza w ostatnich latach, składają się na kształt polskiej piramidy demograficznej z przełomu wieków, która nie przypomina typowej dla większości krajów piramidy (Ryc.2).

Znaczne różnice liczebności poszczególnych roczników, falowanie na przestrzeni lat następujących po sobie wyży i niży demograficznych były i są przyczyną szeregu trudności związanych z organizacją edukacji, zapewnieniem stanowisk pracy, zaburzeń w wielu dziedzinach w zakresie zastępowalności pokoleń, a także trudności w organizacji leczenia zwłaszcza specjalistycznego. Rzutowało to również i nadal rzutuje na pracę epidemiologa zwłaszcza na działalność profilaktyczną. Sytuacja demograficzna lat dziewięćdziesiątych XX wieku i prognoza demograficzna na pierwsze lata XXI wieku niosą ze sobą duże zmiany. W ostatnich la-

Ryc. 1. Liczba i roczny przyrost ludności w Polsce w latach 1950-1998



Ryc. 2. Ludność według płci i wieku w Polsce 1998 r.



tach osiemdziesiątych i latach dziewięćdziesiątych nastąpił znaczny spadek dzietności kobiet, liczby żywych urodzeń, spadek przyrostu naturalnego i przyrostu rzeczywistego ludności, aż do ujemnego przyrostu naturalnego jaki wystąpił w województwie łódzkim od 1986 r., w województwie warszawskim od 1989 r., w kilku innych województwach w 1995 i 1996 roku, we wszystkich miastach w Polsce w 1998 r., a w całym kraju w 1999 r.

Obecna sytuacja demograficzna Polski, zwłaszcza dotycząca spadku liczby urodzin żywych jest wynikiem co najmniej następujących dwu przyczyn:

Stopniowego wchodzenia od 1984 r. mniej licznych roczników z lat sześćdziesiątych w wiek rozrodzcy. Obserwowany spadek liczby urodzeń był i jest jednak znacznie dłużej utrzymujący się i głębszy niż można się było spodziewać

Historia i współczesność

Zmniejszającej się dzietności kobiet. Współczynnik dzietności kobiet w latach 1950-1998 uległ obniżeniu z 3,705 do 1,431, intensywnie po 1983 z 2,416 do 1,431, a zwłaszcza w latach dziewięćdziesiątych.

Współczynnik dzietności oznacza liczbę dzieci, które urodziłyby przeciętna kobieta w ciągu całego okresu rozrodczego (15-49 lat) przy założeniu, że w poszczególnych fazach tego okresu rodziłyby z intensywnością obserwowaną w badanym roku, przy przyjęciu cząstkowych współczynników płodności z tego okresu za niezmiennie.

Obniżenie wskaźnika dzietności kobiet zwłaszcza w ostatnich latach jest głównie wynikiem transformacji ustrojowej, zawodowego zaangażowania i dyspozycyjności kobiet, trudnych warunków bytowych w sytuacji wysokiego bezrobocia. Obniżenie współczynnika dzietności w latach dziewięćdziesiątych dotyczyło w jednakowym stopniu ludności miejskiej i wiejskiej. W 1998 r. współczynnik ten osiągnął dla miast - 1,251, a dla wsi

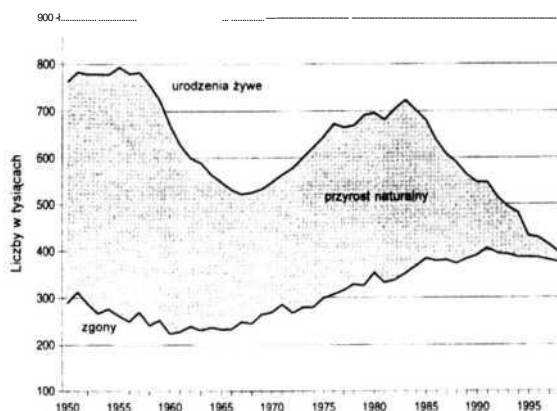
1, 730. W ciągu ostatnich 10 lat uległ obniżeniu dla miast o 31,1%, a dla wsi o 31%. Według województw w 1998 r. wahał się on od 1,582 w woj. podkarpackim do 1,247 w woj. opolskim.

Porównując współczynnik dzietności kobiet w Polsce w ostatnich latach ze współczynnikami w krajach europejskich należy stwierdzić, że wielkość jego jest na poziomie współczynników w większości tych krajów.

Te dwa wyżej wymienione czynniki były przyczyną dalszych obserwowanych na ogół niekorzystnych zjawisk demograficznych, a mianowicie:

- a) wspomnianej już zmniejszającej się liczby żywych urodzeń w Polsce. W latach pięćdziesiątych i w latach 1982-1984 notowano każdego roku powyżej 700 tysięcy żywych urodzeń, w latach sześćdziesiątych, siedemdziesiątych i w pozostałych latach osiemdziesiątych, aż do 1992 roku włącznie notowano między 500 a 700 tysięcy żywych urodzeń rocznie. W 1993 roku po raz pierwszy w okresie powojennym liczba żywych urodzeń spadła poniżej 500 tysięcy, w 1995 roku poniżej 450 tysięcy, w 1998 roku poniżej 400 tysięcy, a w 1999 roku poniżej liczby zgonów. (Ryc.3). Według tymczasowych danych w 1999 roku urodziło się w Polsce 382 tysiące dzieci, a zmarło 383 tysiące osób. Współczynnik żywych urodzeń na 1000 ludności zmniejszył się z wartości wyższych od 30 w latach pięćdziesiątych do 10,2 w 1998 roku;

Ryc. 3. Ruch naturalny ludności w Polsce w latach 1950-1998

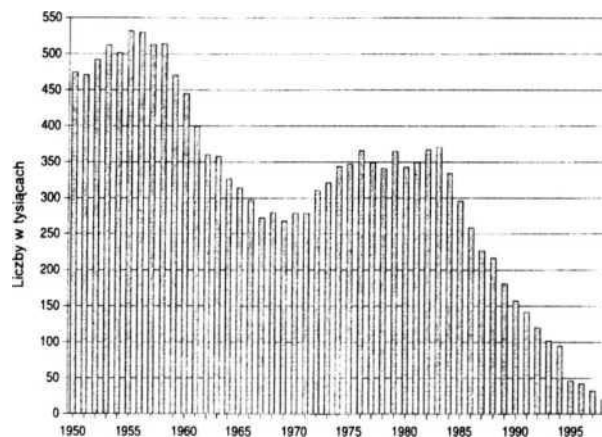


- b) zmniejszającego się przyrostu naturalnego ludności t.j. różnicy między liczbą urodzeń żywych, a liczbą zgonów. Przyrost naturalny między 1950 a 1998 rokiem spadł z 474 tysięcy do 20,3 tysięcy, a szczególnie intensywnie w drugiej połowie lat osiemdziesiątych i w latach dziewięćdziesiątych. (Ryc.4). W 1980 roku

Problemy demograficzne Polski na przełomie wieków z punktu widzenia epidemiologa

wynosił on 342,6 tysięcy, w 1985 roku 296,1 tysięcy, w 1990 roku - 157,4 tysięcy, w 1998 roku - 20,3 tysięcy, a w 1999 roku wykazywał on wartość ujemną;

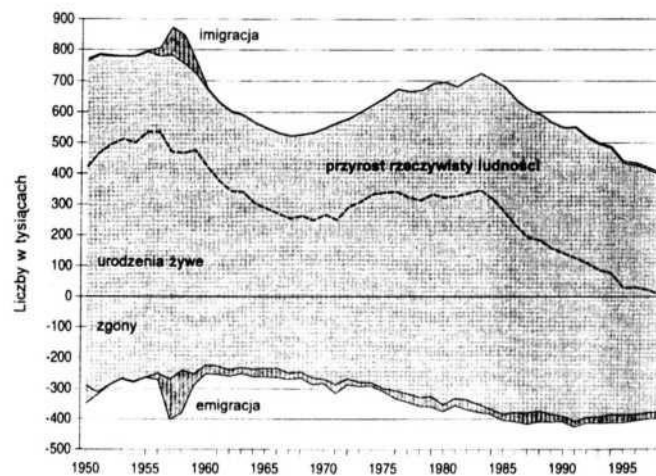
Ryc. 4. Przyrost naturalny ludności w Polsce w latach 1950-1998



- c) skutki zmniejszającego się przyrostu naturalnego pogłębione były ponadto migracją zagraniczną ludności, tj. utrzymującą się kilkakrotnie wyższą emigracją z kraju nad imigracją do kraju. W latach dziewięćdziesiątych co prawda imigracja do kraju znacznie wzrosła w stosunku do lat wcześniejszych, nadal jednak jest niższa od emigracji. Skutkiem tego przyrost rzeczywisty ludności był mniejszy niż przyrost naturalny. Uwidoczniło się to zwłaszcza w ostatnich latach przy niskim i malejącym przyroście naturalnym. I tak w 1998 roku przyrost naturalny wynosił 20,3 tysiące, emigracja - 22,2 tysiące, imigracja - 8,9 tysiąca. Przyrost rzeczywisty wyniósł więc tylko 7,0 tysięcy; (Ryc. 5)

Ryc. 5. Ruch ludności w Polsce w latach 1950-1998

ludności w Polsce w latach 1950-1998



Historia i współczesność

- a) ponadto liczba zgonów w Polsce wzrastała do 1991 roku, w którym to osiągnęła wartość 405,7 tysięcy. Po 1991 roku ulegała ona obniżeniu i w 1998 zanotowano 375,3 tysięcy zgonów (spadek o 7,5%). W tym czasie spadek liczby żywych urodzeń wyniósł 28,3%, a więc był znacznie wyższy. Zwiększała się również długość życia ludzi. Te różnice między liczbą urodzeń żywych, a zgonami są przyczyną spadku odsetka dzieci i młodzieży do lat 15 z 29,5% w 1950 roku do 20,3% w 1998 roku tj. o 31,2% i wzrostu odsetka osób w wieku 65 lat i starszych z 9,7% w 1950 roku do 11,9% w 1998 roku tj. o 22,7%.

2. Prognoza demograficzna na najbliższe lata.

Obserwowana obecnie sytuacja demograficzna ludności rzutuje również na prognozę demograficzną na przyszłe lata. Prognoza opracowana kilka lat temu na podstawie ówczesnych współczynników demograficznych przewidywała, że w Polsce w 2005 roku będzie 39,491 tysięcy ludności, w 2010 roku - 40.185 tysięcy, w 2015 roku 40,603 tysiące i w 2020 roku - 40.695 tysięcy.

Zmiany współczynników demograficznych obserwowane w ostatnich latach, a w szczególności spadek dzietności kobiet, spadek liczby urodzeń żywych, spadek przyrostu naturalnego *f* rzeczywistego ludności przy nieznacznym spadku liczby zgonów był przyczyną podjęcia prac dla określenia prognoz demograficznych do 2050 roku.

Biorąc pod uwagę różne warianty i założenia demograficzne opracowano w Głównym Urzędzie Statystycznym 7 scenariuszy rozwoju ludności. Według nich bezpośrednio po 2000 roku dzietność kobiet przejściowo przestanie się obniżać, trwanie życia będzie wzrastało, migracje zagraniczne będą wykazywały saldo dodatnie. Tym niemniej przewidywany poziom dzietności kobiet nie zapewni zastępowalności pokoleń i nadchodzący wyż urodzeń przyniesie dodatni przyrost naturalny i rzeczywisty tylko przez kilkanaście lat. Od 2030 roku według wszystkich 7 scenariuszy, a od 2020 roku według 6 scenariuszy przewidywany jest ujemny przyrost naturalny o wysokich wartościach od 100 tysięcy do blisko - 400 tysięcy rocznie.

W 2020 roku liczba ludności Polski według wyżej wspomnianych scenariuszy ma wahać się od 36,4 miliona do 39,3 miliona, w 2030 roku od 33,7 miliona do 38,7 miliona, w 2040 roku od 30,2 miliona do 37,4 miliona a w 2050 roku od 26,7 miliona do 36,1 miliona.

Tak więc marzenia o czterdziestomilionowym Państwie Polskim w najbliższej przyszłości zrealizowane nie będą. Przewiduje się, że za 50 lat w Polsce będzie więcej emerytów niż młodzieży. Według prof. Bohdana Jałowickiego w ciągu 10 lat Polska najpewniej będzie musiała przyjąć dużą liczbę imigrantów.

3. Zakończenie

Można mieć nadzieję, że ta pesymistyczna w istocie prognoza nie zostanie zrealizowana i zapowiadana katastrofa demograficzna nie nastąpi. Sprawa wymaga jednak konsekwentnego postępowania dla uzyskania wzrostu dzietności kobiet ponad przewidywany. Jest to w zasadzie klucz do całego problemu, pole do działania dla wielu specjalistów.

Swoją rolę mieć tu będzie również służba zdrowia, a wśród niej również służba sanitarno-epidemiologiczna, szczególnie w zakresie podejmowanych działań profilaktycznych w stosunku do dzieci i kobiet i oceny ich skuteczności.

Zachodzące zmiany demograficzne w coraz większym stopniu rzutują na następujące problemy epidemiologiczne:

- ocenę sytuacji epidemiologicznej chorób wieku dziecięcego oraz chorób wieku podeszłego. Wymaga ona korekty w związku ze zmniejszaniem się liczby i odsetka dzieci i młodzieży i wzrostu liczby i odsetka osób w wieku poprodukcyjnym. Być może wskazane będzie wzorem sposobu analizy statystycznej biegunek do lat 2 obliczanie współczynników dla niektórych chorób jak np. zapadalności w stosunku do liczby dzieci młodzieży a nie do liczby całej ludności;

Nowe patogeny - czynniki etiologiczne znanych zespołów chorobowych

- liczba dawek szczepionek potrzebnych do uodpornienia populacji dzieci i młodzieży ulegać będzie zmniejszeniu w stosunku do liczb dawek z okresu wyżu demograficznego;
- szczepienia przeciw różyczce kobiet po porodach wobec niskiej dzietności kobiet stają się mało skuteczne w profilaktyce zespołu różyczki wrodzonej i powinny być stosowane tylko kobietom, które planują następne ciążę i wyrażą zgodę na tego typu uodpornienie.

Nowe patogeny - czynniki etiologiczne znanych zespołów chorobowych

Ewa Majda-Stanistawska

Klinika Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej w Łodzi

Choroby zakaźne przez stulecia stanowiły główną gałąź medycyny. W średniowieczu epidemie dziesiątkowały ludność Europy. Jeszcze na początku naszego wieku zakażenia były poważnym zagrożeniem zdrowia a nawet życia niemowląt i małych dzieci. Wprowadzenie w połowie dwudziestego wieku masowych szczepień ochronnych, antybiotyków a następnie leków przeciw-wirusowych spowodowało znaczne ograniczenie liczby zachorowań, na choroby zakaźne, a wiele śmiertelnych dotychczas chorób stało się łatwymi do opanowania. Roczniki statystyczne pozwalają zauważyć, że szczególnie w krajach wysoko uprzemysłowionych, liczba klasycznych i rejestrowanych chorób zakaźnych systematycznie maleje. Błędem byłoby jednak sądzić, że postęp medycyny pozwoli już wkrótce na wykorzenienie tych chorób na świecie. Zagrożeniem stają się nowe czynniki zakaźne jak np. wirusy gorączek krwotocznych, hantawirusy, rozprzestrzeniają się na świecie nieznanym przedtem zespoły chorobowe jak np. AIDS, szerzą się infekcje wywołane przez odporne na antybiotyki bakterie, powracają malaria i gruźlica odporne na stosowane typowo leki.

Zestawienie wykrytych w ostatnich dwudziestu latach drobnoustrojów i wywoływanych przez nie zespołów chorobowych przedstawia tabela 1.

Retrowirusy

Początek lat osiemdziesiątych przyniósł odkrycia ludzkich retrowirusów: HTLV-1, HTLV-1 oraz HIV-1 i HIV-2. HTLV-1 i HTLV-2 to pierwsze wirusy bezpośrednio onkogenne, powodują bowiem białaczkę (ostra białaczka z komórek T, białaczka kosmatokomórkowa, przewlekła białaczka limfatyczna z komórek T), i chłoniaki (chłoniak z komórek B, przewlekły chłoniak z komórek T4), którym towarzyszy niewielkiego stopnia niedobór odporności. Wykryty w 1983 roku wirus HIV powoduje z kolei głębokie upośledzenie odporności, którego następstwem może być, obok infekcji oportunistycznych, powstawanie nowotworów (1).

Ludzkie wirusy z rodziny **Herpes**

Od 1988 roku odkryto aż trzy nowe wirusy z tej rodziny: herpesvirus typ 6,7 i 8 oznaczone jako HHV-6, HHV-7 i HHV-8. HHV-6 pierwotnie izolowany od pacjenta z chorobą rozrostową układu limfatycznego okazał się być przyczyną rumienia nagłego czyli tak zwanej 6^o rączki trzydniowej, częstej i łagodnej choroby zakaźnej dzieci do 3 roku życia. Wirus HHV-7 izolowany od zdrowego nosiciela mając się wydaje podobne znaczenie w patologii człowieka. W 1994 roku oznaczono przynależność do herpeswirusów i nazwano HHV-8 no-

Historia i współczesność

Tabela 1. Czynniki etiologiczne chorób zakaźnych zidentyfikowane po 1980 roku:

Rok	Mikroorganizm	Wywoływana choroba
1980	HTLV-1 (human T-cell lymphotropic virus)	Ostra białaczka z komórek T (ATL) Tropikalne porażenie spastyczne (TSP) Mielopatia związana z HTLV-1 (HAM)
1982	HTLV-2	Białaczka kosmatokomórkowa
1982	<i>Borrelia burgdorferi</i>	Borelioza z Lyme
1983	Ludzkie wirusy upośledzenia odporności – HIV-1, HIV-2	Nabyty zespół upośledzenia odporności – AIDS
1983	<i>Escherichia coli</i> O157:H7	Krwotoczne zapalenie jelit, zespół hemolityczno-mocznicowy
1983	<i>Helicobacter pylori</i>	Zapalenie błony śluzowej i wrzód żołądka, zwiększone ryzyko raka żołądka
1988	Herpesvirus typ 6 (HHV-6)	Rumień nagły (gorączka trzydniowa)
1989	<i>Ehrlichia</i> spp.	Ludzka ehrlichioza
1989	Wirus zapalenia wątroby typu C (HCV)	Wszczepienne zapalenie wątroby typu nie-A, nie-B
1990	Herpesvirus typ 7 (HHV-7)	Rumień nagły
1990	Wirusa zapalenia wątroby typu E (HEV)	Epidemiczne zapalenie wątroby typu nie-A, nie-B
1990	Wirus zapalenia wątroby typu F	Zapalenie wątroby typu nie-A, nie-B (?)
1992	<i>Vibrio cholerae</i> O 139:H7	Nowy szczep związany z epidemią cholery
1992	<i>Bartonella henselae</i>	Choroba kociego pazura, naczyniakowatość bakteryjna
1993	Wirus Sin Nombre	Hantawirusowy zespół płucny
1993	Wirus zapalenia wątroby typu G (HGV)	Zapalenia wątroby nie A-C
1994	Wirus Sabia	Brazylijska gorączka krwotoczna
1994	Herpesvirus typ 8 (HHV-8)	Mięsak Kaposiego
1995	Hendravirus	Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu
1996	Priony (BSE?)	Nowy wariant choroby Creutzfelda-Jakoba
1997	Wirus grypy A H5N1	Grypa (Hong Kong)
1997	Wirus TTV	?
1997	Enterowirus typ 71	Epidemiczne zapalenie mózgu
1998	Nipahvirus	Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu
1999	Wirus grypy A H9N2	Grypa (Hong Kong)
1999	Wirus typu Zachodniego Nilu	Zapalenie mózgu (Nowy Jork)

woodkrytego wirusa występującego w zmianach skórnych u ludzi chorych na mięsaka Ka- posiego - stąd też pochodzi inna nazwa - KSHV (Kaposi-Associated Herpes Virus) (2).

Wirusy zapalenia wątroby

Koniec lat 80-tych i lata 90-te przyniosły odkrycia nowych wirusów zapalenia wątroby. Wirusy te początkowo oznaczane zbiorczo jako nie-A, nie -B, w miarę ustalania ich przynależności i określania cech chorobotwórczych nazywano kolejnymi literami alfabetu.

Najczęstszą przyczyną wszczepionego zapalenia wątroby okazał się należący do Flaviviridae wirus zapalenia wątroby typu C (HCV). Pierwsze przesiewowe testy pozwalające na identyfikację tego wirusa w próbkach krwi dawców wprowadzono w 1991 roku. Wiadomo, że wirus ten występuje powszechnie na całym świecie, zakażenie nim jest zwykle przewlekłe może prowadzić do marskości i pierwotnego raka wątroby. Wirus reaguje w ograniczonym za

kresie na leczenie skojarzone za pomocą interferonu alfa skojarzonego z rybawiryną (3).

Kolejny, wykryty w 1990 roku wirus zapalenia wątroby typu E - HEV należy do Cal- civirusow i jest przyczyną przenieszonego drogą pokarmową zapalenia wątroby, które występuje na terenie Azji, Meksyku a w Europie głównie w basenie Morza Śródziemnego. Zakażenie nim ma przebieg ostry, śmiertelność jest stosunkowo wysoka -1%, a bardzo wysoka bo do 20% u kobiet w trzecim trymestrze ciąży (3).

Kolejne odkrycia dotyczące wirusów zapalenia wątroby przyniosły ze sobą wiele niejasności i kontrowersji. Wirus oznaczony jako HFV (hepatitis F wirus), izolowany był przez Philips et al. w 1991 roku od 10 pacjentów cierpiących na zapalenie wątroby o ciężkim i śmiertelnym przebiegu. Sugerowano, że opisywane u tych chorych wielkokomórkowe zapalenie wątroby spowodowane było pa- ramyxowirusem, jednakże badania te nie zostały nigdy później potwierdzone. Kolejny, wykryty w 1993 roku wirus HGV należy podobnie jak HCV do Flavivirusow. Nie mając dotąd dowodów na to, że wirus ten replikuje wewnątrz komórek wątroby, lub że wywołuje zapalenie tego narządu. Pomimo niewątpliwego istnienia tego wirusa w populacji ludzi na całym świecie i zakażenia drogą transfuzji krwi, nie obowiązuje jak dotychczas badanie preparatów krwi w kierunku obecności HGV (4).

W 1997 roku wykryto u pacjentów z zapaleniem wątroby pierwszego ludzkiego wirusa należącego do rodziny Circoviridae (DNA wirusy) i nazwano go TTV (transfusion-transmitted virus), łamiąc dotychczasową zasadę stosowania kolejnych liter alfabetu. Wirus ten jest bardzo powszechny w populacji ludzi (znaleziono go np. u jednej trzeciej badanych krwiodawców w USA) ale występuje też często u zwierząt domowych np. kurczaków, świń, krów i owiec. Podobnie jak w przypadku dwu poprzednich wirusów jego związek z zapaleniem wątroby typu nie A-C pozostaje bardzo kontrowersyjny (1).

Wirusy zapalenia opon mózgowych i mózgu

W latach 90 odnotowano kilka lokalnych epidemii wirusowych zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu wywołanych przez nieznane przedtem wirusy. W 1994 roku w Australii choroba objęła stadninę 18 koni i dwu opiekujących się nimi ludzi. Zmarł jeden człowiek, padło 14 koni, a następnie odnotowano pojedyncze zachorowania u ludzi w tej okolicy. Czynnikiem etiologicznym okazał się nowy paramyxovirus początkowo nazwany EMV (Equine morbillivirus) a potem wirusem Hendra. Podobna epidemia objęła na przełomie 1998 i 1999 roku w Malezji i Singapurze 250 hodowców świń, z których 100 zmarło. W tym przypadku chorowały także świnię, koty i psy. Izolowany wirus nazwano Ni- pahvirus, był on homologicznie bardzo zbliżony do wirusa Hendra

Enterowirus typ 71 znany był od lat siedemdziesiątych jako czynnik etiologiczny choroby dłoni, stóp i ust (hand, foot and mouth disease (HFMD)). W 1997 i 1998 roku spowodował on w Malezji, Japonii i na Tajwanie wybuch epidemii zapalenia mózgu z towarzyszącym obrzękiem płuc i wysoką śmiertelnością wśród małych dzieci.

W sierpniu 1999 roku na terenie Nowego Jorku wybuchła epidemia zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych spowodowana przez należącego do Flavivirusow wirusa Zachodniego Nilu, blisko spokrewnionego z wirusem powodującym tego typu epidemie w Egipcie i Izraelu (1).

Poza odkrywaniem nowych czynników etiologicznych chorób zakaźnych naukowcy coraz częściej znajdują związki pomiędzy kontaktem człowieka z drobnoustrojem a powstawaniem zespołów chorobowych nie wiązanych dotychczas z infekcją. Dotychczas schorzenia te były leczone w zależności od dominujących objawów przez lekarzy dermatologów, neurologów, kardiologów. Zjawisko to dotyczy praktycznie wszystkich dziedzin medycyny, nawet tak odległych jak psychiatria. Poniżej przedstawiamy nowe odkrycia dotyczące udziału czynników zakaźnych w różnych gałęziach medycyny.

1. Medycyna wewnętrzna

a. Gastroenterologia

Cukrzyca insulinozależna jest procesem o podłożu autoimmunologicznym. Jej rozwój Uwarunkowany jest wieloma czynnikami środowiskowymi, a jednym z nich jest kontakt

Historia i współczesność

w okresie życia płodowego z enterowirusami (prawdopodobnie należącymi do wirusów Coxsackie typu B) (5). Innymi przykładami chorób o podłożu autoimmunologicznym, które wyzwalane są poprzez obecność czynnika zakaźnego są choroba Crohna oraz wrzodzące zapalenia jelit, wiązane z infekcją paramyksowirusową (świnka, odra) przed ukończeniem drugiego roku życia (6).

W 1983 roku wykryto związek pomiędzy obecnością *Helicobacter pylori* w żołądku człowieka a występowaniem zapalenia błony śluzowej, wrzodu żołądka, zwiększonym prawdopodobieństwem raka tego narządu (7).

b. Hematologia

Przewlekłe zanikowe zapalenie błony śluzowej żołądka powstające w wyniku działania *Helicobacter pylori* prowadzi do zaburzeń wchłaniania witaminy B12 a w konsekwencji do niedokrwistości megaloblastycznej (8). Inne zespoły chorobowe znane hematologom a wywoływane przez czynniki zakaźne obejmują: anemię aplastyczną powodowaną przez Parwowirusa B19 (u osób z nieprawidłową odpornością), ale także związaną z zakażeniem wirusem HGV (4).

Zakażenie HCV prowadzić może obok przewlekłego zapalenia wątroby do poważnej anemii prawdopodobnie o podłożu autoimmunologicznym (3).

c. Kardiologia

Zmiany miażdżycowe tętnic okazały się być spowodowane nie tylko powstającymi w nich złogami lipidów, ale także przewlekłym odczynem zapalnym związanym obecnie z zakażeniem *Chlamydia pneumoniae*. W ten sposób czynnik zakaźny okazał się pierwotną przyczyną choroby wieńcowej, zawału mięśnia sercowego, udaru mózgu (9).

c. Onkologia

Ostatnie lata przyniosły szereg odkryć zakaźnych czynników rakotwórczych. Należą do nich wirusy jak HTLV-1 i HTLV-2 oraz HHV-8 (patrz tabela 1), ale także HCV i być może TTV (rak wątroby). Zakażenie *Helicobacter pylori* powoduje nie tylko przewlekłe zapalenie błony śluzowej oraz owrzodzenia żołądka i dwunastnicy, ale także może być czynnikiem onkogennym (rozwój chłoniaka, raka żołądka a nawet raka trzustki) (7). Trwają poszukiwania czynnika zakaźnego powodującego ostrą białaczkę limfoblastyczną u dzieci - ostatnie doniesienia wiążą ją z przechorowaniem grypy w pierwszym roku życia (10).

2. Dermatologia

Wiele patogenów wymienionych w tabeli 1 wywołuje zespoły objawów dermatologicznych a choroby takie jak AIDS czy Borelioza z Lyme były pierwotnie leczone przez specjalistów dermatologów. Zakażenie HCV wiązane jest z pewnymi postaciami łuszczycy, guzkowym zapaleniem naczyń, porfirią skórną późną, liszajem płaskim, bielactwem (3).

3. Neurologia

Zainteresowanie naukowców wzbudził fakt korzystnych efektów leczenia stwardnienia rozsianego za pomocą interferonu beta. Przypuszcza się że efekt ten może mieć związek z przeciwwirusowym działaniem tego leku, toteż trwają poszukiwania wirusów powodujących rozwój stwardnienia rozsianego. Podkreśla się tu prawdopodobną rolę ludzkich herpeswirusów ze względu na latentny charakter zakażenia, indukcję procesów demielinizacji w CUN przez te patogeny, a także wielokrotne znajdowanie ich materiału genetycznego w mózgu zmarłych pacjentów chorych na SM (11).

Porażenie nerwu twarzowego (porażenie Bella) jest, przynajmniej u części chorych, związane z reaktywacją latentnego zakażenia wirusem herpes simplex typu 1 (HSV-1). DNA tego wirusa znaleziono nie tylko w zwojach nerwowych ale w odgałęzieniach tego nerwu oraz w tkankach mięśnia przyuszynowego tych chorych (12).

4. Psychiatria

Związki chorób psychicznych z czynnikami zakaźnymi były badane od dawna, ale dowody na ich istnienie uzyskano w nielicznych przypadkach. Najbardziej znanym i najje

piej potwierdzonym czynnikiem jest wirus HIV powodujący zespół otępienny (AIDS – dementia complex).

Stwierdzono także zwiększoną częstość występowania schizofrenii w przypadku ekspozycji w drugim trymestrze życia płodowego (to jest okresie intensywnego rozwoju CUN) na wirusa grypy.

Wirus choroby Borna (BDV) znany był od XIX wieku jako czynnik etiologiczny zapalenia mózgu u zwierząt domowych: koni, owiec, kotów. Choroba ta u zwierząt powoduje zaburzenia zachowania: podniecenie i agresję a potem senność, brak apetytu, apatię. W latach 80 naszego wieku stwierdzono występowanie przeciwciał przeciwko temu wirusowi w surowicy krwi oraz antygenów BDV w komórkach jednojądrzastych (PBMC) u ludzi. Odkrycie to dotyczyło pacjentów oddziałów psychiatrycznych. Stwierdzono występowanie tych czynników u chorych na depresję, nerwice natręctw, organiczne zaburzenia nastroju. Antygen wirusa był wykrywalny u tych pacjentów w okresie ostrych objawów depresji. Okazało się, że po zakażeniu wirus w postaci latentnej egzystuje w układzie limbicznym zwierząt i człowieka, a u osobników podatnych wywołać może typowy zespół depresyjny z sennością, skłonnością do prób samobójczych (u 20% tych chorych doszło do samobójstwa) trwający z okresami zaostrzeń i remisji do końca życia pacjenta (13,14).

Zakażenie *Legionella pneumophila* prowadzi nie tylko do zapalenia płuc, ale także może być przyczyną wielu objawów neurologicznych i zaburzeń psychicznych. Najczęściej wymienia się dezorientację, bóle głowy, senność, podniecenie, stupor, zaburzenia afektywne, utratę pamięci, drgawki, porażenia nerwów czaszkowych (15).

Podsumowanie:

Wiedza o chorobach zakaźnych uległa radykalnym zmianom w ostatnim dwudziestoleciu.

Kierunki rozwoju tej wiedzy podsumować można następująco:

- I. Odkrycia dotyczące nowych czynników etiologicznych chorób zakaźnych
 1. Nowo wykryte i nazwane czynniki chorobotwórcze
 2. Pojawianie się znanych czynników etiologicznych tych chorób na nowych obszarach świata (wirus zapalenia mózgu Zachodniego Nilu)
 3. Przemieszczanie się patogenów z rezerwuaru zwierzęcego do środowiska ludzkiego: wirus Hendra, wirus grypy ptasiej
 4. Zmiana właściwości chorobotwórczych znanych drobnoustrojów (Enterowirus typ 71)
- II. Udział mikroorganizmów w powstawaniu znanych zespołów chorobowych
 1. Czynniki zakaźny bezpośrednią przyczyną takiego zespołu
 2. Choroba jest spowodowana reakcją zapalną wynikającą z kontaktu z mikroorganizmem
 3. Kontakt z czynnikiem zakaźnym uruchamia procesy immunologiczne prowadzące do powstawania znanych zespołów chorobowych (cukrzyca)

Piśmiennictwo:

1. Desselberger U. J. *Infection*, 2000,40,3–15
2. Majda-Stanisławska E, *Post.Mikrobiol.*, 1997,36,127–140
3. Majda-Stanisławska E, Krzemiński Z. *Nefrologia i Dializoterapia Polska*, 1998,2,18–22
4. Majda-Stanisławska E, Krzemiński Z. *Post.Mikrobiol.*, 1997,37,263–288
5. Dahlquist G, Frisk G, Ivarsson SA. *Diabetologia*, 1995,38,1371–1373
6. Montgomery SM, Morris DL, Pounder RE. *Gastroenterology*, 1999,116,796–803
7. Pakodi F, Abdel-Salam OM, Debreceni AJ. *Physiol.Paris*, 2000,94,139–152
8. Kaptan K, Beyan C, Ural AU. *Arch.Intern.Med.*, 2000,160,1349–1353
9. Ross R. *N.Engl.J.Med.*, 1999,340,115–126

10. Dockerty JD, Skegg DC, Elwood JM. Br.J.Cancer, 1999,80,1483-1489
11. Bergstrom T. Antiviral Research, 1999,41,1-19
12. Baringer JR. Ann.Intern.Med., 1996,1,63-65
13. Durrwald R, Ludwig H. J.Vet.Med., 1997,44,1-38
14. Ludvig H, Bode L. Intervirology, 1997,40,185-197
15. Plaschke M, Strohle A, Then Bergh F. Nervenarzt, 1997,68,342-345

Śmierć w następstwie zakażeń w Polsce i na świecie

Jan Kuydowicz

Klinika Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej w Łodzi

Śmierć to ustanie czynności życiowych w wyniku starzenia się i zużywania tkanek i narządów w następstwie procesów chorobowych ustroju lub ciężkich urazów. Tymi „procesami chorobowymi” mogą być i często są choroby zakaźne czyli choroby wywoływane przez zarazki i biologiczne czynniki przez nie wytwarzane.

Prawie zawsze choroba zakaźna jest chorobą zaraźliwą czyli wywołowaną przez biologiczny czynnik chorobotwórczy mogący przenosić się od osobnika zakażonego do zdrowego. Te zwięzłe definicje podane przez Wielki Słownik Medyczny PAN z r. 1996 pozwalają na uznanie wielu chorób ludzi i zwierząt za CHOROBY ZAKAŻNE mimo formalnego i tradycyjnego uważania ich za choroby niezakaźne i niezaraźliwe.

Jednocześnie zwraca uwagę podobieństwo „naukowej” definicji choroby zakaźnej do żartobliwej definicji życia szerzonej przez p. Macieja Zembatego „życie jest długą, ciężką i zawsze śmiertelną chorobą przenoszoną drogą płciową” - można tu dodać, że przez „czynnik biologiczny” - jakim jest plemnik.

Zbieżność tych dwu definicji dowodzi, że śmierć w wyniku chorób zakaźnych jest z całą pewnością problemem globalnym, dotyczącym wszystkich dziedzin medycyny - od genetyki zaczynając.

Śmierć w wyniku jakiegokolwiek choroby nie jest tematem chętnie podejmowanym i analizowanym, bo oznacza zazwyczaj porażkę - a nowoczesna medycyna jest niewątpliwie „optymistyczna”, nastawiona na sukcesy terapeutyczne w wyniku stosowania przez wspaniałych lekarzy różnych wspaniałych leków i metod leczenia we wspaniałych zakładach opieki zdrowotnej. Także oczekiwania pacjentów i ich rodzin dowodzą trwałości nierealnych przecież marzeń o nieśmiertelności lub przynajmniej - o długim życiu zupełnie pozbawionym chorób, również chorób zakaźnych.

Nie jest łatwo znaleźć publikacje podejmujące śmierć jako główny problem naukowy - zwłaszcza w skali globalnej.

W r. 1997 w kolejnych 4 numerach wolumenu 349 słynnego LANCETu panowie Christopher MURRAY z USA i Alan LOPEZ ze Szwajcarii opublikowali 4 kapitalne artykuły poświęcone przyczynom śmierci ludzi z 8 regionów obejmujących cały świat w r. 1990 - a więc w czasach nam współczesnych. Przedstawione przez nich badania zostały dokonane na zlecenie WHO i Banku Światowego, a zakres badań, liczba danych i perfekcja opracowywania informacji spowodowały pozorne 7-letnie opóźnienie publikacji.

Celami tych badań było:

- rzetelne określenie przyczyn zgonu ludzi obu płci od urodzenia aż do starości w następujących regionach świata: rozwinięte kraje wolnorynkowe, byłe kraje

socjalistyczne w Europie, Indie, Chiny, inne kraje Azji i wyspy, Afryka subsaharyjska, Ameryka Łacińska i Karaiby, środkowy wschód.

- zbadanie występowania, długości trwania i zakończenia 483 następstw 107 głównych chorób powodujących zgon
- znalezienie związków pomiędzy 10 głównymi czynnikami ryzyka a liczbą zgonów
- przewidzenie liczby zgonów i ich przyczyn w r. 2020.

Rezultaty tych badań zasługują na możliwie dokładne, choć z konieczności krótkie, przedstawienie.

W r.1990 na całym świecie zmarło 50 467 000 ludzi z powodu 107 przyczyn formalnie zgłoszonych. Wśród 30 najczęstszych przyczyn zgonu, na miejscu pierwszym znalazła się choroba niedokrwienna serca (6 260 000 zgonów) i udar mózgu (4 381 000) – a więc choroby będące rezultatem miażdżycy naczyń krwionośnych.

Choroby zakaźne i inwazyjne lub ich następstwa uplasowały się na następujących pozycjach:

„3” – zapalenie płuc	= 4 299 999 zgonów
„4” – biegunki	= 2 946 000 zgonów
„7” – gruźlica (bez HIV)	= 1 960 000 zgonów
„8” – odra	= 1 058 000 zgonów
„11” – zimnica	= 856 000 zgonów
„13” – marskość wątroby (HBV i HCV!)	= 779 000 zgonów
„18” – tężec	= 542 000 zgonów
„22” – rak wątroby (HBV i HCV!)	= 501 000 zgonów
„27” – krztusiec	= 347 000 zgonów
„28” – choroba reumatyczna serca (paciorkowce!)	= 340 000 zgonów
„30” – HIV/AIDS	= 312 000 zgonów

Oczywiście z powodu chorób zakaźnych i inwazyjnych umierały głównie dzieci w wieku poniżej 4 lat żyjące w krajach rozwijających się – było to aż 98% zgonów!

Ogólnie w wyniku ostrych chorób zakaźnych i inwazyjnych w r.1990 zmarło 93 299 999 ludzi, nie licząc zapalenia płuc (4 299 000). Te 2 grupy łącznie stanowiły najczęstszą przyczynę zgonów, przy czym 98,5% zgonów z powodu chorób zakaźnych (9 166 000) i 91% zgonów z powodu zapalenia płuc nastąpiła w biednych regionach świata.

Natomiast absolutnie WSZYSTKIE zgony z powodu biegunek zostały zarejestrowane w krajach rozwijających się!

Gruźlica okazała się główną przyczyną śmierci u kobiet (10% zgonów). Zgony bezpośrednio związane z ostrym wzw B i C to tylko 105 000 osób w r.1990, ale biorąc pod uwagę przewlekłe zakażenie HBV i HCV jako główne przyczyny marskości wątroby i raka wątroby te 2 wirusy były odpowiedzialne za śmierć 820 000 ludzi.

Siedem chorób odpowiedzialnych najczęściej za śmierć dzieci (łącznie 14 400 000 zgonów) to: zapalenie płuc, zaburzenia okołoporodowe, gruźlica, odra, zimnica, wzw B i C oraz ich następstwa – razem spowodowały one 28,5% wszystkich zgonów ludzi na świecie w r.1990. Dla porównania urazowe przyczyny zgonów takie jak wypadki komunikacyjne, samobójstwa, gwałty, utonięcia, urazy wojenne – spowodowały 10% zgonów, a więc 3-krotnie mniej.

Regionalne rozmieszczenie chorób zakończonych zgonem okazało się skrajnie nierównomierne, zresztą zgodnie z oczekiwaniami. Około 90% tych chorób wystąpiło w krajach rozwijających się, które dysponowały tylko 10% światowych funduszy zdrowotnych. Najgorsza sytuacja była w Afryce subsaharyjskiej (21,4% zgonów i 0,7% funduszy) oraz w Indiach (20,9% zgonów i 1,0% funduszy). Tylko 7,2% śmiertelnych chorób zarejestrowano w krajach rozwiniętych dysponujących 87,3% środków finansowych na cele zdrowotne. Grupa byłych europejskich państw socjalistycznych zarejestrowała 4,5% chorób zakończonych zgonem, przy dysponowaniu 2,9% wydatków światowych na zdrowie.

Równie interesujący okazał się wpływ 10 głównych czynników ryzyka na częstość chorób powodujących zgon. Największe znaczenie miało niedożywienie, najbardziej zauwa-

Historia i współczesność

żalne w Afryce subsaharyjskiej oraz Indiach, a zerowe w krajach rozwiniętych. Niedobór wody, zła higiena i stan sanitarny okazały się drugim czynnikiem ryzyka, wpływającym niekorzystnie na sytuację zdrowotną w krajach rozwijających się w porównaniu do krajów rozwiniętych (w proporcji 7,6: 0,1).

Trzecim znaczącym czynnikiem ryzyka okazało się ryzykowne życie płciowe (unsafe sex) również bardziej istotne dla krajów biednych (proporcje 3,7: 2,1).

Palenie tytoniu, alkohol, środowisko zawodowe, nadciśnienie krwi, brak aktywności fizycznej, narkotyki i zanieczyszczenie powietrza - te czynniki ryzyka były bardziej obciążające dla regionów rozwiniętych niż rozwijających się.

Szczególnie dramatycznie analiza ta wypadła dla wieku dziecięcego i dla krajów rozwijających się - tam niedożywienie było bezpośrednio odpowiedzialne za śmierć dzieci w 16% ilości wszystkich zgonów w r. 1990, a brak wody i zły stan higieniczno-sanitarny - za 7% wszystkich zgonów na świecie. Bardzo interesująco wypadła próba przewidzenia sytuacji zdrowotnej świata w r. 2020 w aspekcie liczby zgonów i ich przyczyn. Stosując skomplikowany program komputerowy, biorąc pod uwagę zjawiska epidemiologiczne, socjologiczne, ekonomiczne i polityczne z lat 1950-1990 oraz informacje Banku Światowego na temat przewidywanej płodności i umieralności - opracowano 3 możliwe scenariusze: optymistyczny, pesymistyczny i obiektywny.

Opracowane szacunki zasługują na uwagę.

Długość życia kobiet wzrośnie - bez względu na rodzaj scenariusza, osiągając przeciętną 90 lat w krajach rozwiniętych. Przewidywana długość życia mężczyzn wzrośnie znacznie mniej, a w byłych krajach socjalistycznych nie wzrośnie wcale. Obydwie te informacje mogą zatrzwożyć każdego Polaka. Najczęstszymi przyczynami zgonów w r.2020 mają być kolejno: choroba niedokrwienna serca, depresja, wypadki komunikacyjne, udar mózgu, przewlekły zespół płucno-sercowy, zapalenie płuc, gruźlica, urazy wojenne, biegunki i HIV/AIDS.

Zmiany pozycji chorób zakaźnych i inwazyjnych w tej przewidywanej klasyfikacji na rok 2020 są interesujące:

ZAPALENIE PŁUC	- z „3”	spadek na „4”	(-1)
BIEGUNKI	- z „4”	spadek na „11”	(-7)
GRUŹLICA	- z „7”	nadal na „7”	0
ZIMNICA	- z „11”	spadek na „29”	(-18)
MARSKOŚĆ WĄTROBY	- z „13”	wzrost na „12”	(+1)
RAK WĄTROBY	- z „21”	wzrost na „13”	(+8)
HIV/AIDS	- z „30”	wzrost na „9”	(+21)

Jeżeli wyniki szacunków sprawdzą się, to w r.2020 liczba zgonów z powodu chorób zakaźnych i inwazyjnych, zaburzeń okołoporodowych, wad wrodzonych, niedożywienia łącznie spadnie do 10,3 min wobec 17,2 min w r.1990. Natomiast powinna być częstsza śmierć „urazowa” doprowadzając do 8,4 min zgonów wobec „tylko” 5,1 min w r.1990. Pozostałe choroby będą odpowiedzialne za śmierć 49,7 min ludzi - w stosunku do 28,1 min zgonów z ich powodu w r.1990.

Z prawie całkowitą pewnością wielkim problemem świata w r.2020 powinna stać się liczba zgonów z powodu AIDS - będzie to jedna z 10 najczęstszych przyczyn śmierci. Wg aktualnych prognoz WHO w r.2006 liczba zgonów z powodu zakażenia HIV nie przekroczy 1,7 min, ale w przygotowanym scenariuszu optymistycznym ta ilość zgonów pojawi się dopiero w r.2012 (scenariusz pesymistyczny przewiduje wówczas 1,9 min zgonów). W r.2020 z powodu AIDS umrze najprawdopodobniej od 0,8 do 1,8 min ludzi (średnio 1,2 min)

- w zależności od rozwoju epidemii HIV/AIDS w Azji. Należy przyjąć, że 1/3 zakażonych HIV umrze z powodu gruźlicy, zwłaszcza w Afryce subsaharyjskiej. Oficjalny Światowy Program AIDS opracowany przez WHO zakłada na rok 2020 zniknięcie lub tylko sporadyczne występowanie nowych zakażeń HIV bez względu na region świata - co wydaje się mało realne.

Śmierć w następstwie zakażeń w Polsce i na Świecie

Dla porównania liczba zgonów z powodu palenia tytoniu zwiększy się z 3 mln w r. 1990 do 8,4 mln w r.2020 - zwłaszcza w krajach rozwiniętych.

Wydaje się jednak, że olbrzymi spadek liczby zgonów na skutek chorób zakaźnych i inwazyjnych obserwowany w II połowie wieku XX nie będzie nadal tak szybki i trwały - nawet przy ciągłym postępie cywilizacyjnym i ekonomicznym, przy nowych odkryciach naukowych i przy rozszerzającej się dostępności antybiotyków. Śmiertelność z powodu zakażeń i inwazji w skali świata będzie w przyszłości zależeć głównie od 3 czynników:

- odkrycie lub skonstruowanie nowych antybiotyków przywracających skuteczność leczenia gruźlicy, zimnicy, chorób wywołanych przez pneumokoki i gronkowce itp.
- liczba urazów powodujących zgon - wypadki komunikacyjne i urazy wojenne mogą być kontrolowane, a ich wzrost zahamowany.
- opanowanie odległych następstw zakażeń wirusowych takich jak rak wątroby u zakażonych HBV i/lub HCV

Przedstawione wiadomości wydają się potwierdzać mało znaną opinię, że nie ma ostrych granic pomiędzy różnymi przyczynami zgonów u ludzi - a więc śmierć jest problemem wspólnym dla wszystkich działów medycyny. Nie ulega także wątpliwości, że choroby zakaźne i pasożytnicze były, są i będą odpowiedzialne za kilkadziesiąt % zgonów - zwłaszcza w krajach źle zorganizowanych i biednych.

Mimo wszystko problem ten nie jest w Polsce tak bolesny jak w innych regionach świata. Jeszcze w latach międzywojennych tego wieku 20-25% zgonów było spowodowanych chorobami zakaźnymi. W r. 1990 w Polsce zmarło 390300 ludzi, ale w wyniku chorób zakaźnych i inwazyjnych - tylko 3774 (około 0,8%). Dominowały zgony z powodu gruźlicy (36%) i posocznicy (20,1%). Wirusowe zapalenie wątroby spowodowało śmierć w 8,2%, neuroinfekcje w 16,7% i grypa w 1,1% przypadków. Podobna sytuacja utrzymuje się obecnie, co należy uznać za objaw korzystny i dowodzący dobrego poziomu cywilizacyjnego Polski. Rozszerzenie statystyk o inne choroby formalnie niezakaźne, a w rzeczywistości zakaźne i zaraźliwe (np. zapalenia płuc, marskość wątroby, niektóre nowotwory) prawdopodobnie pogorszyłoby ten epidemiologiczny wizerunek naszego kraju.

Piśmiennictwo

1. Magdzik W., Naruszewicz-Lesiuk M.P., Czarkowski M.P.: Sytuacja demograficzna Polski w latach 1950-1998 i jej prognoza do 2050 roku. Wybór danych dla potrzeb opracowań epidemiologicznych (5) "Meldunek 3/A/OO PZH
2. Murray Ch.J.L., Lopez A.D.: Mortality by cause for eight regions of the world: Global Burden of Disease Study. Lancet 1997, 349, 1269
3. Murray Ch.J.L., Lopez A.D.: Regional patterns of disability - free life expectancy and disability - adjusted life expectancy: Global Burden of Disease Study. Lancet 1997, 349, 1347
4. Murray Ch.J.L., Lopez A.D.: Global mortality, disability, and the contribution of risk factors: Global Burden of Disease Study. Lancet 1997, 349, 1436
5. Murray Ch.J.L., Lopez A.D.: Alternative projections of mortality and disability by cause 1990-2020: Global Burden of Disease Study. Lancet 1997, 349, 1498
- 3- Wielki Słownik Medyczny (praca zbiorowa PAN) Wydawnictwo Lekarskie PZWL Warszawa 1996.

DIAGNOSTYKA

Obecne problemy w rozpoznawaniu chorób zakaźnych w Kraju

Zdzisław Dziubek

Klinika Chorób Odzwierzęcych i Tropikalnych Akademii Medycznej w Warszawie

Dysponowanie możliwościami wykonywania wielu, nierzadko zupełnie podstawowych badań (morfologia krwi obwodowej, posiewy materiału biologicznego, odczyny serologiczne) stanowi podstawę diagnostyki w większości chorób zakaźnych i pasożytniczych. Do niedawna nie stwarzało to większych trudności. Praktycznie nie istniały, poza zdrowym rozsądkiem, żadne inne ograniczenia wykonywania badań jeżeli tylko pracownia je wykonywała, jeżeli nie to można było materiał przesłać do innej pracowni, nikt nie protestował i nie kontrolował celowości zleconych badań. Sytuacja taka, komfortowa dla lekarza, w obecnych realiach nie powinna mieć miejsca. Uwarunkowania ekonomiczne nakazują liczyć się z kosztem każdego zlecenia. Badania więc powinny być wykonywane w sposób prawidłowy a wynik badania nie może budzić żadnych wątpliwości.

Reforma, jak dotąd wprowadziła dość skuteczne ograniczenie wydatków, nie dopracowana jednak powoduje cały szereg niekorzystnych zjawisk. Pracownie diagnostyczne, również te publiczne (np. pracownia Stacji San-Epidem.) za większość badań żądają opłat od zlecającego te badania. W stosunku do funduszy będących w posiadaniu zakładów leczniczych opłata nie jest niska, w wielu przypadkach sprawia nam to trudności w przestrzeganiu starych ale nadal obowiązujących przepisów zawartych w Ustawie o zwalczaniu chorób zakaźnych.

Badania bakteriologiczne należą do najważniejszych w diagnostyce wielu chorób zakaźnych, wykonywane w dobrych, współczesnych pracowniach gwarantują odpowiednią jakość. W przypadkach najcięższych np. w posocznicach w sposób zasadniczy ułatwiają prawidłowe leczenie ciężko chorego, szybko osiągalne antybiogramy pozwalają ponadto na prawidłowy, co często oznacza i oszczędny dobór leczenia. Głównym, jeżeli nie jedynym hamulcem ich wykonywania jest cena badania. Są one coraz droższe. A przecież w wielu przypadkach rosną szanse rozpoznania proporcjonalnie do ilości badań, u chorego z posocznicą zaleca się nawet kilkakrotne posianie materiału pobranego w ciągu paru pierwszych godzin, czasami jednoczesowe pobranie próbek z różnych miejsc (krew, płyn, treść z ogniska ropnego itp.) rosną wówczas szanse diagnostyczne ale i rosną koszty prowadzenia chorego.

Ostatnie dziesięciolecie wprowadziło do pracowni każdego profilu wiele udogodnień, nowoczesna aparatura czyni pracownię bardziej wydajną przy jednoczesnym zmniejszeniu zatrudnienia, a przy tym nierzadko i wyniki badań pozbawione są błędów ponieważ odczyty są dokonywane przez obiektywną aparaturę. Nie zawsze jednak i nie każdy aparat zastąpi człowieka. Dotychczas wiele pracowni analitycznych do obliczania składu morfologicznego krwi obwodowej używa aparatu, który skład krwinek białych podaje w wartościach orientacyjnych, krwinki białe różnicuje tylko jako podzielone i jednojądrowe, odsetki eozynofili, zasadochłonnych i pozostałe mieszczą się w



H-B-VAX[®] II

(Rekombinowana szczepionka przeciwko wirusowemu zapaleniu wątroby typu B, MSD)



Jakość

Optymalna dawka antygenu
dla każdego pacjenta

Ponad 99% czystości białka antygenowego¹



Siła

98% seroprotekcji po 2-giej dawce
u osób 11–19 letnich²

100% seroprotekcji po 2-giej dawce
u dzieci 1–10 lat²



Bezpieczeństwo

Pierwsza na świecie rekombinowana
szczepionka przeciwko WZW typu B¹

Ta sama dawka do 19-go roku życia
włącznie

**Przed przepisaniem szczepionki H-B-VAX[®] II
proszę zapoznać się z pełną informacją dla lekarzy.**



MERCK SHARP & DOHME IDEA INC*, S.A., Oddział w Polsce
02-785 Warszawa, ul. Puławska 303
tel.: (0-22) 549 51 00, fax: (0-22) 549 51 01

® Zastrzeżona nazwa handlowa MERCK & CO., INC., Whitehouse Station, N.J., U.S.A.
*Affiliate of MERCK & CO., INC., Whitehouse Station, N.J., U.S.A.
© Prawa autorskie zastrzeżone MERCK SHARP & DOHME INC., S.A., Oddział w Polsce

Referencje:

1. Ellis R W i Gerety R J. Plasma-derived and yeast-derived hepatitis B vaccines. *Am J Infect Control* 1989; 17(3): 181–189.
2. West D J. Clinical experience with hepatitis B vaccines. *Am J Infect Control* 1989; 17(3): 172–180.

07/2001/HB2/2000PL173

H-B-VAX*II, rekombinowana szczepionka przeciwko wirusowemu zapaleniu wątroby typu B (WZW B) jest szczepionką podjednostkową, zawierającą antygen powierzchniowy (HBsAg lub antygen Australia) wirusa zapalenia wątroby typu B, otrzymywany z hodowli komórek drożdży.

H-B-VAX*II jest jałową zawiesiną do podawania domięśniowego, może być jednak podawana podskórnie osobom podatnym na krwotoki po wstrzyknięciach domięśniowych (patrz: DAWKOWANIE i SPOSÓB PODAWANIA).

H-B-VAX*II zawiera tiomersal (1:20 000) jako środek konserwujący. W obu dawkach antygen powierzchniowy wirusa zapalenia wątroby typu B jest adsorbowany na około 0,5 mg glinu (w postaci wodorotlenku glinu) w 1 ml szczepionki. Szczepionka zawiera podtyp *adw*.

WSKAZANIA

H-B-VAX*II jest wskazany w celu czynnego uodpornienia przeciwko zakażeniu spowodowanemu przez wszystkie znane podtypy wirusa zapalenia wątroby typu B. Szczepionka powinna zapobiegać także wirusowemu zapaleniu wątroby typu D (powodowanemu przez wirus delta), ponieważ zapalenie wątroby typu D nie występuje bez jednoczesnego zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu B.

DAWKOWANIE I SPOSÓB PODAWANIA

Nie podawać dożylnie ani śródskórnie.

H-B-VAX*II jest przeznaczony do podawania domięśniowego. U dorosłych najlepszym miejscem do podawania domięśniowego jest mięsień naramienny. U niemowląt i matych dzieci wstrzyknięcia najlepiej dokonać w przednio-bocznej powierzchni uda. H-B-VAX*II wyjątkowo można podawać podskórnie tylko u osób narażonych na krwotoki po wstrzyknięciu domięśniowym (np. chorzy na hemofilię). Przed pobraniem do strzykawki i wstrzyknięciem szczepionkę należy starannie wstrząsnąć. Dokładne wstrząsanie przed podaniem jest konieczne, aby utrzymać szczepionkę w postaci zawiesiny.

Szczepionkę stosuje się w takiej postaci, w jakiej jest dostarczana. Nie jest potrzebne rozcieńczanie ani rozpuszczanie. Należy podać całą zalecaną dawkę.

Ważne jest, aby używać osobnej, jałowej strzykawki i igły dla każdego pacjenta, w celu uniknięcia przeniesienia z jednej osoby na drugą wirusa zakażenia wątroby lub innych czynników zakaźnych. Lekki podawane pozajelitowo należy przed podaniem starannie obejrzyć w celu wykrycia nierozpuszczonych cząstek lub zmian zabarwienia. Po starannym wstrząśnięciu H-B-VAX*II jest nieco opalizującą, białą zawiesiną.

Schemat dawkowania:

W celu uzyskania optymalnego zapobiegania zakażeniu, uodpornienie przeprowadza się w schematach: 0, 1, 6; 0, 1, 12 lub 0, 1, 2; 0, 2, 4. Stosując schemat z dłuższym okresem oddzielającym drugą dawkę od trzeciej np. 0, 1, 6 lub 0, 1, 12 uzyskuje się serokonwersję u podobnego odsetka szczepionych, a uzyskane miano przeciwciał jest znacznie wyższe, niż w przypadku schematów przyspieszonych. Poszczególne dawki powinny być podawane w odstępach co najmniej miesiąca.

- 1 dawka: w wybranym terminie.
- 2 dawka: przynajmniej po upływie miesiąca od pierwszej dawki.
- 3 dawka: przynajmniej po upływie miesiąca od drugiej dawki.

Alternatywnym do 3-dawkowego schematu szczepień jest schemat 4-dawkowy (0, 1, 2, 12), który może przyczynić się do wcześniejszego powstania zabezpieczającego miana przeciwciał u nieznacznie większej liczby osób szczepionych.

Dawki i postaci szczepionki H-B-VAX*II

GRUPA RYZYKA	DAWKA*	OZNAKOWANIE FIOŁKI
od 0 do 19 lat (noworodki, dzieci, młodzież)	5 mcg (0,5 ml)	żółte
od 20 lat (dorośli)	10 mcg (1 ml)	zielone

* Prawidłowa dawka może być osiągnięta przy użyciu innej dawki szczepionki pod warunkiem, że całkowita objętość podanej szczepionki nie przekroczy 1 ml.

Lek przeznaczony jest tylko do wstrzykiwań. Z fiołki należy pobrać odpowiednią dawkę za pomocą jałowej igły i strzykawki wolnej od środków konserwujących, antyseptycznych i od detergentów.

PRZECIWWSKAZANIA

Nadwrażliwość na drożdże lub którykolwiek ze składników szczepionki

ŚRODKI OSTROŻNOŚCI

U osób z niedoborami immunologicznymi lub leczonych immunosupresyjnie konieczne są większe dawki szczepionki, a uzyskana odpowiedź jest słabsza niż u osób zdrowych. Pacjenci, u których po podaniu wystąpiły objawy wskazujące na nadwrażliwość, nie mogą otrzymać następnych dawek szczepionki (patrz: PRZECIWWSKAZANIA). Podobnie, jak w przypadku innych szczepionek podawanych pozajelitowo, muszą być dostępne niezbędne leki, w tym adrenalina, na wypadek wystąpienia reakcji anafilaktycznej lub rzekomoanafilaktycznej. Każde cięższe, ostre zakażenie stanowi podstawę do odłożenia szczepienia, chyba, że lekarz uzna odłożenie szczepienia za większe ryzyko.

Brak jest kontrolowanych badań u kobiet ciężarnych. H-B-VAX*II można podawać ciężarnym tylko wtedy, gdy ewentualna korzyść przeważa nad potencjalnym ryzykiem dla płodu.

DZIAŁANIA NIEPOŻĄDANE

H-B-VAX*II jest na ogół dobrze tolerowany. Podczas badań klinicznych nie obserwowano poważnych działań niepożądanych wywołanych przez szczepienie. W badaniach klinicznych odnotowano następujące działania niepożądane występujące z częstotliwością 1% i powyżej: odczyn w miejscu wstrzyknięcia, głównie bóle miejscowe, bolesność i wrażliwość na dotyk, a także swędzenie, zaczerwienienie, wybroczyny, obrzęk, uczucie gorąca, powstawanie guzków; uczucie zmęczenia lub osłabienia, złe samopoczucie, gorączka (2 37,8°C); nudności, biegunka; bóle głowy; zapalenie gardła, zakażenia górnych dróg oddechowych.

Po wprowadzeniu szczepionki do lecznictwa odnotowano dodatkowo m. in. poniższe działania niepożądane: wystąpienie anafilaksji bądź objawy nadwrażliwości natychmiastowej, jak obrzęki, duszność, uczucie dyskomfortu w klatce piersiowej, skurcz oskrzeli i kołatanie serca; opisywano także występowanie objawowego zespołu późnej nadwrażliwości (podobnego do choroby posurowiczej) w okresie kilku dni do kilku tygodni po szczepieniu. Szczegółowe informacje o działaniach niepożądanych zawarte są* pełnej informacji o szczepionce.

DOSTĘPNE OPAKOWANIA

1 fiołka po 0,5 ml zawierająca 5 mcg antygenu powierzchniowego wirusa zapalenia wątroby typu B (oznakowanie żółte).

1 fiołka po 1 ml zawierająca 10 mcg antygenu powierzchniowego wirusa zapalenia wątroby typu B (oznakowanie zielone).

Przechowywanie

Zamknięte i otwarte fiołki przechowywać w temp. 2-8°C. Szczepionka przechowywana w temp. 2-8°C zachowuje trwałość przez 36 miesięcy. Nie zamrażać; zamrożenie niszczy aktywność szczepionki.

Przed przepisaniem H-B-VAX*II proszę zapoznać się z pełną informacją o szczepionce.

Obecne problemy w rozpoznawaniu chorób zakaźnych w Kraju

określeniu MXD. Parokrotnie już w swojej praktyce usłyszałem od pacjenta przekazaną mi opinię kiedy zażądałem od pracowni aby policzono skład krwinek białych pod mikroskopem odpowiedziano pacjentce, że musi to być lekarz, który nie wie jak współcześnie wykonuje się to badanie i że rozmazów to już się nie wykonuje. Dotyczyło to chorej z włośnicą. Niektóre pracownie posiadają już bardziej selektywne w tym zakresie aparaty, mimo to jednak dla nas będzie ważną wskazówką obecność np. ziarnistości toksycznych w granulocytach, mielocytów, promielocytów i innych postaci nie występujących powszechnie a mających ważne znaczenie diagnostyczne. Dlatego pracownik wykonujący badanie, w przypadku stwierdzenia jakichkolwiek nieprawidłowości, powinien sam zdecydować o konieczności rozszerzenia badania chociażby o wspomniany rozmaz krwi obwodowej jeżeli którykolwiek z obliczonych przez automat parametrów budzi zastrzeżenia.

Wyraźnie gorzej, przynajmniej w moich obserwacjach, wygląda diagnostyka serologiczna. Wolny rynek w zakresie usług spowodował powstanie wielu pracowni, laboratoriów o różnym poziomie usług. Obserwuje się to szczególnie wyraźnie w ostatnich latach. Coraz szersze zapotrzebowanie na badania, które powinny być wykonane przed planowaną ciążą np. wykrywanie antygenemii HBV czy przeciwciał dla tego antygeny, ostatnio także anty HCV, określenie poziomu przeciwciał dla różyczki, toksoplazmozy a także cytomegalii czy listeriozy spowodowało iż wiele pracowni podjęło się wykonywania tych badań. Podobna sytuacja wytworzyła się w serodiagnostyce boreliozy. Wiele firm z innych krajów wykorzystuje to rosnące zapotrzebowanie oferując zestawy diagnostyczne swojej produkcji. Podejmując się wykonywania tych badań pracownie zainteresowane są w otrzymywaniu zestawów diagnostycznych najtańszych i zakupywanych na najkorzystniejszych warunkach, są to często transakcje wiązane np. do zestawu odczynników dodawany jest „bezpłatnie” czytnik, który spłacisz stopniowo kupując zestaw odczynników tej firmy. Są to inne formy rewanżu.

Skutki tego często odbijają się bardzo niekorzystnie, przede wszystkim dla pacjenta. Obecnie jak sądzę doświadczony lekarz praktyk ma często trudności z interpretacją wyników badań serologicznych, szczególnie wówczas kiedy otrzymuje dwa czy więcej testów a każdy z nich był wykonany w innej pracowni, do tego nie zadano sobie trudu podania nazwy firmy (producenta zestawu diagnostycznego) a niekiedy i metody badania. Czasami wynik badania podawany jest w obszernej formie opisowej, trudnej do zrozumienia przez lekarza ogólnie praktykującego. Sposób podawania wyniku powinien być zupełnie klarowny, odejść wreszcie od oznaczania plusem (+) czy minusem (-), zawsze wynik podany w liczbach, nawet w ułamkach jest bardziej klarowny, znaki + i - powinny być używane tylko w badaniach przesiewowych. Raz jeszcze chcę podkreślić iż wynik badania wręczony lekarzowi a szczególnie pacjentowi winien być klarowny, nie może zawierać informacji sformułowanej błędnie. W swojej praktyce zarówno w lecznictwie zamkniętym a częściej w otwartym dość często otrzymuję wynik badania np. w kierunku cytomegalii, toksoplazmozy i in., gdzie obok wartości odczytu np. stężenia przeciwciał podane jest w nawiasie określenie *norma*, akurat dla tych jednostek nie ma normy, kto przebył zakażenie będzie miał przeciwciała, ważne będzie w tych przypadkach wysokość miana przeciwciał i ich klasa.

Stale powstające nowe pracownie obok tych, które po krótkim czasie działalności znikają zdane są wyłącznie na siebie, w zasadzie nie ponoszą żadnej poza moralną, odpowiedzialności za jakość swojej pracy. Konsultant krajowy w dziedzinie diagnostyki laboratoryjnej, p.prof. D. Bobilewicz z którą przeprowadziłem na ten temat konsultację może kontrolować i ingerować w pracowniach o statusie publicznym. Pracownie prywatne, których w chwili obecnej, przynajmniej w Warszawie jest znacznie więcej niż uspołecznionych nie są nadzorowane. Sprawa nadzoru specjalistycznego była już podnoszona na naszym poprzednim Zjeździe, nie tylko zresztą na naszym, do dziś pozostała jak dotychczas.

Diagnostyka

Sądze, że te zagadnienia można uregulować żądając od każdej pracowni certyfikatu, obecnie już chyba o znaczeniu międzynarodowym, na wykonywane badania.

Pozostaje jeszcze jedno zagadnienie bardzo ważne dla kliniki kierowanej przeze mnie i dla innych klinik o podobnym profilu, zresztą nie tylko dla takich oddziałów, chodzi o możliwości diagnozowania a właściwie potwierdzania klinicznych rozpoznań chorób tzw. tropikalnych. Polska stała się krajem otwartym, z każdym rokiem rośnie liczba osób przybywających z krajów o odmiennych warunkach klimatycznych a tymczasem przed kilkunastu laty można było potwierdzić serologicznie więcej zakażeń nabytych w tropiku niż obecnie. Istnieją przecież w Kraju instytuty, które powinny z tytułu swego statusu zająć się tymi zagadnieniami.

Zastosowanie metod serologicznych w rozpoznawaniu gruźlicy

Urszula Demkow, Tadeusz M. Zielonka
Instytut Gruźlicy i Chorób Płuc

Część I - Serodiagnostyka gruźlicy

Rozpoznanie gruźlicy, mimo że należy ona do najczęstszych chorób zakaźnych, nie jest łatwe. Diagnoza opiera się na objawach kliniczno-radiologicznych, metodach mikrobiologicznych klasycznych i nowoczesnych, technikach molekularnych i badaniu histopatologicznym. U chorego na gruźlicę można wykryć cechy swoistego pobudzenia układu immunologicznego - komórkowego - reakcja tuberkulinowa lub humoralnego - produkcja przeciwciał przeciwprątkowych. Żadna z metod diagnostycznych nie daje szybkiej i pewnej odpowiedzi i dlatego wszystkie dostępne wyniki muszą być brane pod uwagę łącznie.

Objawy kliniczno-radiologiczne są niespecyficzne, obraz kliniczny może przypominać wiele chorób takich jak: nowotwory, zapalenia płuc, grzybice, sarkoidoza i inne choroby śródmiąższowe, zapalenia naczyń a także choroby pozapłucne. Gruźlica coraz częściej, zarówno klinicznie jak i radiologicznie przebiega w sposób zamaskowany lub atypowy - szczególnie u chorych z zaburzeniami odporności.

Złotym standardem w rozpoznaniu gruźlicy nadal są metody mikrobiologiczne. Badanie bezpośrednie rozmazu płwociny jest szybką i taną metodą ale czułość tego badania jest niska. W badanym materiale wymagana jest bowiem obecność prątków w ilości co najmniej 10⁴/ml. Tą metodą nie jest możliwe także różnicowanie pomiędzy poszczególnymi rodzajami prątka. Hodowla metodą klasyczną na podłożu L-J trwa 6-8 tygodni, natomiast nowoczesne odmiany technik hodowlanych pozwalają na skrócenie czasu do 10-14 dni lecz są bardzo kosztowne, wymagające specjalistycznego sprzętu i obciążone niedogodnościami związanymi z koniecznością użycia materiałów radioaktywnych.

Metody oparte na technikach molekularnych również są bardzo kosztowne i wymagające specjalistycznego oprzyrządowania. Metody te mogą również dawać wyniki fałszywie dodatnie i fałszywie ujemne.

Pomimo zastosowania nowoczesnych metod diagnostycznych nadal około 50% chorych na gruźlicę nie uzyskuje potwierdzenia bakteriologicznego.

1/3 chorych na gruźlicę ma zmiany pozapłucne, w których potwierdzenie bakterio

logiczne jest jeszcze trudniejsze. Szybkie rozpoznanie niezbędne jest również u chorych w ciężkim stanie klinicznym gdy istotne jest szybkie wdrożenie swoistego leczenia.

Dlatego cennym uzupełnieniem metod diagnostycznych mogą być techniki serologiczne polegające na wykrywaniu przeciwciał przeciwprątkowych w surowicy bądź w innych płynach ustrojowych. Metody serologiczne są powszechnie stosowane w rozpoznaniu wielu chorób zakaźnych. Dotyczy to szczególnie przypadków kiedy hodowla drobnoustroju jest trudna np. – wirusy. Również w diagnostyce gruźlicy metody serologiczne próbowano stosować od kilkadziesiąt lat. Pierwszą próbę podjął Arloing 1898r – dokładnie 100 lat temu w 16 lat po odkryciu prątków przez Kocha. Wykazał on obecność w surowicy przeciwciał aglutynujących. Przeciwciała te były obecne u 57% chorych i jedynie u 11% zdrowych bądź chorych na inne choroby. Od tego czasu próbowano opracować wiele testów ale żaden z nich nie zyskał akceptacji ze względu na zbyt niską czułość i swoistość. Sytuacja zmieniła się w roku 1972 gdy Engvall i Perlmann opisali techniką ELISA – immunoenzymatyczną. Metoda ELISA polega na tym, że antygen jest opłaszczony na płytce, na płytce nanosi się materiał w którym poszukuje się przeciwciał przeciwko temu antygenowi (surowice). O ile w surowicy są obecne przeciwciała wiążą się one z antygenem, następnie dodaje się przeciwciała znakowane enzymatycznie i substrat, który uruchamia reakcję barwną. Natężenie reakcji barwnej ocenia się spektrofotometrycznie. Zależy ono od ilości przeciwciał związanych na płytce.

W 1976 Nassau i wsp. po raz pierwszy zastosowali technikę ELISA do badań serologicznych w gruźlicy. Podstawową trudnością w rutynowym zastosowaniu techniki ELISA w gruźlicy był rodzaj użytego antygeny. Pierwotnie stosowane przesącze z hodowli, tuberkulina i nieoczyszczone lizaty komórek bakteryjnych nie były satysfakcjonujące. Bowiem u części ludzi zdrowych, osób szczepionych BCG, czy też chorych na inne choroby także wykrywano obecność przeciwciał. Zjawisko to można tłumaczyć tym, że większość gatunków mykobakterii to niechorobotwórcze saprofity bytujące wolno w środowisku w glebie, wodzie, powietrzu. Wszyscy ludzie od urodzenia stykają się z nimi. Prątki te nie wywołują choroby ale indukują produkcję przeciwciał reagujących krzyżowo z antygenami *M. tuberculosis* i mogą być przyczyną fałszywie dodatnich wyników. Aby wyeliminować wyniki nieswoiście dodatnie próbowano uzyskać oczyszczone antygeny występujące jedynie u prątków gruźlicy. Początkowo rozdzielanie antygenów dokonywano metodą elektroforezy w żelu, dzieląc je wg masy cząsteczkowej. Rozwój technik molekularnych doprowadził do sklonowania genów dla poszczególnych antygenów *M. tuberculosis*, wbudowanie go do genomu *E. coli*, co umożliwiło otrzymanie rekombinowanych polipeptydów odpowiadającym niektórym antygenom prątka. Obecnie w banku rekombinowanych białek WHO znajduje się kilkanaście sklonowanych genów *M. tuberculosis*. Kilka z nich próbowano wykorzystać do celów diagnostycznych: 38kDa, 16 kDa, 19 kDa, 30/31 kDa, 65 kDa, 14 kDa, 45 kDa. Najbardziej obiecującym obecnie antygenem wydaje się być antygen 38kDa. Białko to wchodzi w skład opisanego przez Daniel i Andersona antygeny 5. Antygen ten występuje jedynie u bakterii z grupy *Tuberculosis complex*, nie ma go u prątków atypowych. Ekspresja tego antygeny u szczepu BCG jest 10x słabsza niż u *M. tuberculosis* – co oznacza, że szczepienia nie powinny wpływać na poziom przeciwciał. W kilku perspektywnych badaniach stwierdzono, że czułość testów z tym antygenem wynosi 49–89 % a swoistość 98–100%. Swoistość testów z użyciem nieoczyszczonych antygenów jest zbyt niska aby je stosować w rutynowej praktyce – zbyt wiele jest wyników fałszywie dodatnich. Swoistość testu wzrasta przy zastosowaniu antygenów oczyszczonych. Suma wyników kilku oczyszczonych antygenów może zwiększyć czułość nie powodując zmniejszenia swoistości.

Odpowiedź humoralna wywołująca pozytywne miana przeciwciał pojawia się czę-

Diagnostyka

ściej u chorych, u których choroba trwa ponad 3 miesiące. W czasie leczenia miano przeciwciał rośnie przez 1-2 miesiące a potem spada ale jest wykrywane przez 2 lat. U chorych z przebytą gruźlicą, ze starymi wygojonymi zmianami miano jest ujemne. Bezobjawowe zakażenie pierwotne oraz zmiany minimalne również nie indukują wystarczającej odpowiedzi humoralnej. Najlepiej przebadaną o największym znaczeniu diagnostycznym jest klasa IgG. IgM pojawiają się na początku choroby ale występują też u ludzi zdrowych i prawdopodobnie nie będą przydatne w praktyce. Znaczenie IgA jest na razie nie znane, stwierdza się obecność swoistego IgA w surowicy chorych. Nie można wykluczyć roli swoistego IgA śluzówkowego np. w BALu w diagnostyce. Obecnie dostępne techniki serologiczne nie mogą zastąpić metod mikrobiologicznych ale mogą być ich cennym uzupełnieniem szczególnie w wybranych sytuacjach klinicznych jak gruźlica u dzieci, gruźlica pozapłucna, oraz u chorych w ciężkim stanie, wymagających szybkiego wdrożenia leczenia przed uzyskaniem wyników posiewu. Na szczególną uwagę zasługuje gruźlica pozapłucna, której rozpoznanie bywa bardzo trudne, objawy kliniczne naśladują wiele chorób, otrzymanie materiału do badań wymaga niejednokrotnie inwazyjnych metod, bakterioskopia najczęściej wypada ujemnie, a posiewy również niejednokrotnie trwają długo i mają niską czułość. Niewdrożenie leczenia może mieć poważne konsekwencje ze zgonem włącznie. Wilkinson i Ivanyi wykazali, że odsetek dodatnich wyników testu serologicznego z użyciem antygeny 38kDa u chorych z gruźlicą pozapłucną wynosił 70-80% niezależnie od zajętego narządu.

Serodiagnostyka jest niewątpliwie cenną metodą gdyż jest prosta w wykonaniu, szybka, tania i dlatego powinna mieć swoje miejsce w diagnostyce gruźlicy.

Piśmiennictwo:

1. Grange J.M.: Sem. Respir. Infect. 1994; 9: 71-77.
2. Havlir D. i wsp.: Infect. Immun. 1991; 59: 665-70.
3. Jacket P.S. i wsp. J. Clin. Microbiol. 1988; 26: 2313-18.
4. Kaczmarek A. i wsp.: Pneum. Alergol. Pol. 1991; 59: 40¹³.
5. Kaplan M., Chase M.W.: J. Infect. Dis. 1980; 142: 825-34.
6. Ma Y., Wang Y.M.: Am. Rev. Respir. Dis. 1986; 134: 1273-75.
7. Mehra V. i wsp.: J. Infect. Dis. 1996; 174: 431-4.
8. Wilkinson R.J. i wsp.: J. Clin. Microbiol. 1997; 35: 553-57.

Część II - Ocena przydatności testu immunochromatograficznego i immunoenzymatycznego oceniającego poziom przeciwciał IgG przeciwko antygenowi 38kDa prątka w rozpoznaniu gruźlicy.

Celem pracy była ocena przydatności testu paskowego służącego do wykrywania w surowicy chorych przeciwciał klasy IgG skierowanych przeciwko antygenowi prątka 38 kDa i równoczesne porównanie tej prostej metody z referencyjną metodą immunoenzymatyczną (ELISA). Paskowy Rapid Test TB (firma Omega, Szkocja) oparty jest na metodzie immuno-chromatograficznej, natomiast oceniany dla porównania test Pathozym TB complex (Omega, Szkocja) skonstruowany został na bazie metody ELISA i służy również do wykrywania przeciwciał klasy IgG przeciwko antygenowi prątka 38 kDa. Oba testy wykorzystują rekombinowany antygen prątka 38 kDa, który jest gatunkowo swoisty dla Mycobacterium tuberculosis complex.

Test paskowy polega na zanurzeniu w 100 ml badanej surowicy paska bibuły nasączonego antygenem. Po 15 minutach dokonuje się odczytu testu. Jeśli na pasku ukażą się dwa równoległe fioletowe prążki wówczas wynik testu uważa się za dodatni, natomiast pojedynczy barwny prążek kontrolny uznajemy za wynik ujemny. W przypadku testu ELISA

Zastosowanie metod serologicznych w rozpoznawaniu gruźlicy

badane próbki ocenia się spektrofotometrycznie porównując gęstość optyczną badanej surowicy w stosunku do gęstości optycznej słabo dodatniej próbki standardowej. Linią odcięcia wyznaczająca, które wyniki uznajemy za dodatnie ustalono zgodnie z wytycznymi producenta.

Przebadany przez nas materiał obejmował 268 osób, wśród których było 144 chorych na gruźlicę, 45 na sarkoidozę, 24 na raka płuc, 10 na mykobakteriozę, 12 na nieswoiste zakażenia układu oddechowego oraz 33 zdrowe osoby. W grupie chorych na gruźlicę rozpoznanie choroby potwierdzono bakteriologicznie u 106 osób, natomiast u pozostałych 38 chorych rozpoznanie oparto na obrazie kliniczno-radiologicznym. Większość chorych na gruźlicę (82) stanowiły przypadki świeżo wykrytej choroby. Pozostali chorzy (62) przewlekłe prątkowali od co najmniej jednego roku. Rozpoznanie sarkoidozy oraz raka płuc oparto na badaniu histopatologicznym. Mykobakteriozę w każdym przypadku potwierdzono bakteriologicznie. Zdrowe osoby rekrutowały się głównie z pracowników Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc, które stale są ekspozowane na antygeny prątka.

W grupie chorych na gruźlicę test Rapid wypadł dodatnio u 53% chorych, podczas gdy czułość testu Pathozym była nieco lepsza i wyniosła 55%. Częściej obecność przeciwciał przeciwprątkowych w znaczącym mianie stwierdzono u chorych prątkujących w chwili pobrania surowicy do badania. W przypadku testu Rapid u 56% prątkujących test był dodatni, a w teście Pathozym u 60%. Rzadziej stwierdzano dodatnie wyniki u osób, u których pomimo rozpoznania gruźlicy nie udało się wyhodować prątków, odpowiednio u 27% w przypadku zastosowania testu Rapid i u 32% chorych dla testu Pathozym. Należy sądzić, że nie wynikało to z błędnego rozpoznania gruźlicy, lecz raczej z faktu, że tzw. przypadki skąpoprątkowe na ogół wywołują słabszą reakcję immunologiczną. Natomiast częściej obserwowano dodatnie wyniki u osób przewlekłe chorych odpowiednio 61% dla testu Rapid i 64% dla testu Pathozym. W świeżo wykrytych przypadkach wyniki dodatnie były rzadziej stwierdzane zarówno w teście Rapid (u 32%) jak i w teście Pathozym (u 35%). Na wytworzenie odpowiedniej ilości przeciwciał przeciwprątkowych potrzebny jest pewien czas, stąd w przewlekłych przypadkach odpowiedź immunologiczna jest silniej wyrażona. W teście Pathozym w żadnym z badanych przypadków w grupie kontrolnej nie stwierdzono dodatniego wyniku, stąd swoistość testu w badanej grupie wynosiła 100%. W teście Rapid u 4 badanych z grupy kontrolnej obserwowano wyniki dodatnie. Miało to miejsce u 1 chorego na raka płuc, 2 na sarkoidozę i u 1 osoby zdrowej (swoistość 98,5%). U 87% badanych stwierdzono zgodne wyniki obu testów. U 13% obserwowano różnice tzn. jeden test wypadł dodatnio, podczas gdy drugi był ujemny. Reasumując można stwierdzić, że metody serologiczne są przydatne w diagnostyce gruźlicy. Oba testy są pomocne szczególnie w przypadkach chorych prątkujących i u tzw. chroniczków. Test paskowy wykazuje dużą zgodność wyników w porównaniu z referencyjną metodą immunoenzymatyczną, choć ma on nieco mniejszą czułość i swoistość. Ze względu na bardzo dużą prostotę wykonania tego testu, niewielkie koszty, krótki czas potrzebny do uzyskania wyniku można polecić go do stosowania w diagnostyce gruźlicy, szczególnie w warunkach braku specjalistycznego sprzętu.

Piśmiennictwo:

- 1- Grange J.M.: Sem.Respir.Infect. 1994; 9: 71-77.
2. Wilkins E.G., Ivanyi J.: Lancet 1990; 336: 641-44.
3. Bassey E.O. i wsp.: Tubercle, 1996; 77: 136-145.
4. Wilkinson R.J., Haslov K., Rappuoli R. et al.: J. Clin. Microbiol. 1997,35; 553-57.
- 5- Demkow U., Zielonka T.M., Michałowska-Mitczuk D.i wsp.: Pol. Arch. Med. Wewn. 1999; 51:99-105.
6. Demkow U., Zielonka T.M., Strzałkowski J. i wsp.: Pneum. Alergol. Pol. 1998; 66: 509.

Rola laboratoriów prątka gruźlicy w realizacji narodowego programu zwalczania gruźlicy

Zofia Zwolska

Zakład Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc

Mikrobiologiczne potwierdzenie gruźlicy stanowi bardzo ważny element diagnostyki chorego, służąc wykrywaniu źródła infekcji, potwierdzeniu przypadku podejrzanego klinicznie, wyboru odpowiedniego reżimu terapeutycznego, monitorowaniu leczenia oraz odległym obserwacjom wyleczonego chorego. Obecnie w nowej strategii walki z gruźlicą, programach zawartych w DOTS i DOTS+ wyznaczono badaniom bakteriologicznym jeszcze wyższą rangę. Dokładne i szybkie wykrycie prątków gruźlicy metodami mikrobiologicznymi w materiałach pochodzących od chorych stanowi jedno z najważniejszych zadań programu DOTS w zwalczaniu gruźlicy na świecie (1, 2, 5, 6,).

Metody mikrobiologiczne są tańsze od innych, identyfikują szybko chorych prątkujących, pozwalają na włączenie leczenia przeciwprątkowego i przerwanie łańcucha transmisji zakażenia w środowisku. W Polsce, podobnie jak w innych krajach zgodnie z zaleceniami WHO (6, 9) laboratoria prątka są zorganizowane we wspólną sieć, są wyłączone z pracy laboratoriów ogólnych mikrobiologii klinicznej i znajdują się pod nadzorem Krajowego Konsultanta ds. Pneumologii oraz Laboratorium Referencyjnego Prątka.

Sieć laboratoriów prątka zorganizowana w latach 60/70 stanowi najbardziej spójny system pracujący w pionie wykrywania chorób zakaźnych (4, 10,)

W maju 2000 r. zinventaryzowano w Polsce 151 laboratoriów mykobakteriologicznych.

Mikrobiologiczne diagnozowanie gruźlicy rozpoczęło się od odkrycia Roberta Kocha w 1882 r., ale dopiero po drugiej wojnie światowej w Europie Zachodniej rozwinęła się sieć laboratoriów prątka. Diagnostyka obejmowała dwie główne metody: mikroskopowe badanie rozmazów płwociny barwionej wg. metody Ziehl-Neelsena (Z-N)

i posiewanie materiałów klinicznych na pożywki stałe lub płynne wzbogacone białkiem zwierzęcym. W latach 50-70-tych do diagnostyki gruźlicy powszechnie w dużych laboratoriach używano zwierzęta doświadczalne: świnki morskie, króliki, myszy białe. Wszystkie te metody były dostępne od początku lat 50-tych również w Polsce (26).

Mikroskopowe badanie płwociny od czasów Ziehla i Neelsena ulegało jedynie niewielkim modyfikacjom, natomiast ogromny postęp dokonał się w metodach hodowli prątków. Próba biologiczna przestała mieć rację bytu wraz z rozwojem czułych, automatycznych systemów hodowlanych. W Polsce zaprzestano stosowania próby biologicznej z użyciem świnek morskich do diagnostyki gruźlicy w latach 90-tych.

Wraz z rozwojem nowych technik wykrywania prątków gruźlicy na świecie rozpoczęto wprowadzanie ich do polskich laboratoriów (7). W 1988 r. zakupiono do Zakładu Mikrobiologii IGiChP w Warszawie radiometryczny system Bactec 460-Tb (Becton-Dickinson) co stało się początkiem szybkiej modernizacji innych polskich laboratoriów. Kolejno w Zakładzie Mikrobiologii rozpoczęły pracę inne systemy automatyczne hodowlane i genetyczne. Dzięki staraniom intelektualnym i finansowym Konsultanta Krajowego ds. Pulmonologii, Kierownika Referencyjnego Laboratorium Prątka oraz dzięki zrozumieniu władz lokalnych, laboratoria w Polsce zostały wyposażone w automatyczne, nowoczesne systemy hodowlane i japońskie mikroskopy wysokiej klasy. Obecnie wiele polskich laboratoriów prątka dysponuje taką aparaturą.

Rola laboratoriów prątka gruźlicy w realizacji narodowego programu zwalczania gruźlicy

Jak można skrótowo ocenić stan wyposażenia po wprowadzeniu reformy służby zdrowia laboratoriów prątka. Największym walorem laboratoriów poza wyszkolonym i doświadczonym personelem fachowym jest wyposażenie w szybkie systemy hodowlane i mikroskopy. Do najważniejszych mankamentów należy brak odpowiednich wirówek, dostatecznej ilości dobrej klasy mikroskopów oraz boksów z przepływem laminarnym wyposażonych w filtry HEPA gwarantującym personelowi laboratoryjnemu bezpieczną pracę.

Organizacja sieci laboratoriów prątka w Polsce.

Zgodnie z zaleceniami WHO (8,10) utworzona ponad 30 lat temu sieć laboratoriów prątka została podzielona na trzy główne kategorie, które różnią się od siebie zakresem wykonywanych badań, ilością personelu specjalistycznego i wyposażeniem.

Najniższą strukturę stanowią **laboratoria I rzędu**, których głównym zadaniem jest przygotowywanie rozmazów, ich barwienie (mikroskopowanie lub nie) na obecność prątków kwasoodpornych (AFB acid-fast bacilli) oraz przesyłanie materiałów wraz z dokumentacją do laboratoriów wyższego rzędu. W wielu krajach świata, stanowią one trzon całej służby laboratoryjnej, nie wymagają bowiem specjalnego wyposażenia, można je zorganizować w prymitywnych warunkach lokalowych i na nich bardzo często kończy się diagnozowanie gruźlicy. Aby zabezpieczyć się przed infekcją, laboranci najpierw poddają płwociny procesowi zabicia bakterii, dopiero potem barwią je metodą Z-N.

W Polsce w 2000 r. zarejestrowano 3 laboratoria I rzędu, wszystkie wyposażone w mikroskopy z możliwością barwienia i wykonania badania na obecność AFB.

Do zadań **laboratoriów II rzędu** należy wykonywanie badań, które stanowią zadania laboratoriów I rzędu, zakładanie hodowli, izolowanie szczepów, identyfikowanie szczepów należących do *M.tuberculosis complex*, wykonywanie testów lekowrażliwości dla czterech, głównych leków przeciwprątkowych: INH, RMP, SM, EMB. W naszym kraju 75% laboratoriów należy do tej grupy. Personel tych laboratoriów powinien posiadać doskonale kwalifikacje, wymaga stałego szkolenia się i regularnego poddawania się testom kontroli jakości badań bakterioskopowych, lekooporności oraz żywności wykonywanej pożywki jajowej.

Najwyższy poziom reprezentują **laboratoria III rzędu**, do zadań których należy wykonywanie badań, które stanowią zadania laboratoriów niższych rzędów, identyfikacja ważniejszych gatunków mykobakterii, wykonywanie rozszerzonych testów lekooporności, zdobywanie akredytacji na podstawie jakości i wachlarza wykonywanych badań.

Ilość, kompetencje i zakres pracy laboratoriów prątka powinny zależeć od populacji danego kraju. WHO rekomenduje otwieranie jednego laboratorium II rzędu na 1 mln. mieszkańców, III rzędu na 3-4 mln. mieszkańców.

Nadrzędną rolę nad siecią laboratoriów pełni **krajowe, referencyjne laboratorium prątka**.

Do głównych jego zadań należy: nadzór nad odpowiednim poziomem badań bakteriologicznych we wszystkich typach laboratoriów, prowadzenie kontroli jakości wykonywanych badań w laboratoriach krajowych, regularne prowadzenie badań dotyczących częstości występowania we własnym kraju gruźlicy lekoopornej, współpraca międzynarodowa z innymi zagranicznymi referencyjnymi laboratoriami oraz z WHO. Cele te mogą być osiągnięte przez: rekomendowanie nowoczesnych metod i pomoc we Wprowadzaniu ich do pracy, weryfikację trudnych diagnoz, typowanie rzadko spotykanych gatunków prątków oraz ustalanie wzoru ich lekooporności, nadzorowanie i pomoc w pracach laboratoriów regionalnych, prowadzenie kursów szkoleniowych dla Wyższego i średniego personelu laboratoryjnego, poddawanie się międzynarodowej kontroli jakości badań. Prace jednego Laboratorium Referencyjnego powinny obejmować 25-50 mln populacji (6).

Diagnostyka

Istnienie Laboratorium Referencyjnego i jego praca w strukturach służb laboratoryjnych jest uważane przez ekspertów WHO za bardzo ważny element narodowych programów walki z gruźlicą (6, 8).

Wyniki testów lekooporności wykonane przez KRL powinny być weryfikowane w programach badawczych prowadzonych przez międzynarodową kontrolę jakości w Ponadnarodowych Laboratoriach Prątka (wyznaczonych przez WHO).

Jednym z najważniejszych elementów prawidłowej pracy sieci laboratoriów prątka jest ścisła współpraca bakteriologów z klinicystami.

Piśmiennictwo:

1. Espinal MA., Dye C., Raviglione M., Kochi A.: *Int. J Tuberc Lung Dis* 1999; 3: 561-63
2. Farga V.: *Int. J Tuberc Lung Dis* 1999; 3: 85-86.
3. Grosset J.: *Int J Tuberc Lung Dis* 1999, 3: 549-550.
4. Janowiec M., Andrzejczyk Z.: *Pneumonol.Alerg.Pol.* 1993,61,311-314.
5. Raviglione MC, Dye C., Schmidt S, Kochi A.: *Lancet* 1997; 350: 624-9
6. Rieder HL, Chonde TM, Myking H, et al.: *International Union Against Tuberculosis and Lung Disease*, 1998, Paris, France.
7. Siddiqi SH.: *Becton Dickinson Towson, MD, USA.*
8. Starke J. R., Heifetz L.: *Seminars in respiratory and Critical Care Medicine* 1997, 18, 5,509-522. supl.1, 30
9. World Health Organization. WHO/IUATLD Global Working group on Antituberculosis Drug resistance surveillance.: Geneva, Switzerland, 1997. WHO/TB/96.216.
10. Zwolska Z., Janowiec M.: *Pneumonol.Alergol.Pol.* 1995,63, supl. 1.30.

Hodowla *Mycobacterium* - złoty standard w diagnostyce gruźlicy

Ewa Augustynowicz-Kopeć

Zakład Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Stwierdzenie obecności prątków kwasoopornych w materiale diagnostycznym od chorego metodami mikrobiologicznymi jest najpewniejszym kryterium rozpoznawania gruźlicy.

Wynik tego badania jest pochodną wielu czynników na każdym etapie pracy, począwszy od decyzji jaki rodzaj materiału od chorego pobrać poprzez wszystkie etapy diagnostyczne aż do ostatecznego wyniku bakteriologicznego

Czas generacji *M.tuberculosis* jest długi i wynosi około 20 godzin. Jest to główny powód dla którego na wynik badania bakteriologicznego czeka się tak długo. Pełna diagnostyka mikrobiologiczna metodami konwencjonalnymi trwa od 2-4 miesięcy. Wprawdzie obecnie dysponujemy szeregiem metod pozwalających skrócić czas oczekiwania na wynik ale ich przydatność w diagnostyce zależy od wielu czynników.

Zadaniem służb medycznych jest szybkie zidentyfikowanie człowieka prątkującego. Służą to samemu choremu jak również zapobiega transmisji prątków w otoczeniu.

Hodowla *Mycobacterium* - złoty standard w diagnostyce gruźlicy

W dniu dzisiejszym laboratorium powinno szybko wykonywać badania na obecność prątków, zidentyfikować samemu wyizolowany szczep do kompleksu tuberculosis lub MOTT, a MOTT do grupy Ryuniona (I, II, III, IV) oraz wykonać test lekowrażliwości w możliwie najkrótszym czasie, tak aby prawidłowe leczenie chorego nie było znacznie opóźnione i aby w ten sposób zapobiec transmisji zakażenia (7).

W ciągu ostatnich 10 lat czułość metod mikrobiologicznych znacznie się zwiększyła, a czas wykonania uległ skróceniu, dzięki wprowadzeniu nowoczesnych metod diagnostycznych. Terminem „nowoczesne” nazywam zarówno techniki biologii molekularnej, szybkie systemy hodowlane, chromatograficzne metody klasyfikacji jak również używanie nowych metod lub odczynników w poszczególnych etapach pracy laboratoryjnej.

W polskich laboratoriach prątka wykonuje się rocznie blisko 1 milion bakterioskopii i tyle samo posiewów. Preparaty bezpośrednie w których stwierdza się prątki kwa- sooporne stanowią średnio ok. 5% ogólnej liczby bakterioskopii. Natomiast szczepy prątków wyhodowuje się z około 10% posiewów. Tak mała wykrywalność, ilość dodatnich bakterioskopii i hodowli wynikać może z następujących przyczyn:

1. kierowanie materiałów do badań bez obiektywnego uzasadnienia (błędy w klinice);
2. niewłaściwe pobranie materiału (błędy w klinice);
3. trudności związanych z hodowlą *Mycobacterium* (obiektywne trudności);
4. braku standaryzacji metod diagnostycznych w laboratoriach prątka (błędy laboratorium);
5. wyboru niewłaściwych metod diagnostycznych (błędy laboratorium).

Na prawidłowy wynik diagnozy mają wpływ wszystkie etapy pracy w laboratorium. Mogą one spowodować:

1. niewykrycie prątków gruźlicy obecnych w materiałach klinicznych (niezdiagnozowanie ich)
2. wykrycie ich gdy faktycznie nie ma ich w tych materiałach (wyniki fałszywie dodatnie)
3. wykrycie saprofitów i przypisanie im roli czynnika sprawczego gruźlicy.

WYBÓR MATERIAŁU KLINICZNEGO DO DIAGNOSTYKI

W gruźlicy bada się materiały adekwatne do chorego narządu. W przypadku gdy podejrzewa się gruźlicę układu oddechowego najodpowiedniejszym materiałem jest **plwocina**. Zaleca się pobranie trzech plwocin przez trzy kolejne dni od jednego chorego. W trudnych do zdiagnozowania przypadkach ilość materiałów nie powinna być limitowana. Chory powinien być uprzednio szczegółowo poinformowany o właściwym sposobie pobrania plwociny, zaś cała procedura powinna odbywać się pod nadzorem personelu medycznego.

Plwocina jest jedynym materiałem do diagnozowania gruźlicy, który **nie musi być natychmiast** dostarczony do laboratorium, ponieważ prątki są chronione przez znajdujący się tam śluz.

Popłuczyny oskrzelowe, wydzielina oskrzelowa, BAL (popłuczyny pęcherzyko- Wo-oskrzelowe) stanowią bardzo dobry materiał do diagnozowania gruźlicy układu oddechowego, muszą jednak być przekazane do laboratorium możliwie szybko i w jak największej objętości uzyskanego materiału.

Popłuczyny żołądkowe pobiera się od chorych którzy słabo odkrztuszają lub u tych, którzy polykają plwocinę co dotyczy przede wszystkim dzieci. Popłuczyny mają bardzo niskie pH roztworu, które jako szkodliwe dla prątków powinno być szybko zneutralizowane.

Płyn z opłucnej w warunkach fizjologicznych pochodzi z jałowych jam ciała. Surowiczy płyn może być bezpośrednio posiewany na pożywki hodowlane z pominięciem

Diagnostyka

procesu homogenizacji ponieważ w takich materiałach podejrzewa się występowanie samych prątków bez udziału dodatkowych bakterii. Natomiast ropny płyn z opłucnej powinien być w maksymalnej ilości dostarczony do pracowni (nawet do 1,5 litra). Materiał ten najpierw powinien być odwirowany a osad poddany procesowi homogenizacji i dekontaminacji.

W przypadku podejrzenia **gruźlicy pozapłucnej** bada się również inne materiały odpowiednie dla chorego narządu. Przy podejrzeniu gruźlicy układu moczowego materiałem tym jest **mocz**. Ponieważ w moczu mogą występować prątki saprofityczne, badanie bakterioskopowe jest bezcelowe i może wprowadzić klinicystę w błąd (prątki saprofityczne barwią się tak samo jak prątki gruźlicy). Przy objawach gruźlicy układu moczowego należy zbadać wiele próbek moczu czasami nawet do dziesięciu w pewnych odstępach czasowych co dwa trzy dni (8).

Pozostałe materiały do diagnozowania **gruźlicy pozapłucnej** to:

- **płyn mózgowo-rdzeniowy** w przypadku podejrzenia gruźliczego zapalenia opon mózgowych i mózgu
- **wyskrobny z kości i szpik kostny** przy podejrzeniu gruźlicy kostno-stawowej.

TECHNIKA IZOLACJI PRĄTKÓW Z MATERIAŁÓW DIAGNOSTYCZNYCH

Materiały kliniczne, które są sterylnie pobierane takie jak:

- wycinki tkanek;
- aspiraty ze zmian zamkniętych;
- płyny ustrojowe;
- surowiczy płyn z opłucnej

mogą być wprowadzane do odpowiednich pożywek hodowlanych bezpośrednio, bez wstępnej procedury dekontaminacji. Ten rodzaj procedury diagnostycznej umożliwia czułe systemy hodowlane BACTEC 460 tB oraz system MB/BacT.

Jednak, większość klinicznych specimenów przysłanych do laboratoriów jest zakażonych w różnym stopniu bakteriami szybko-rosnącymi, stanowiącymi florę bakteryjną gospodarza. Muszą one być poddane bardzo radykalnej procedurze trawienia czyli homogenizacji oraz dekontaminacji, pozbycia się bakterii Gram(+) i Gram(-), grzybów i pleśni. Wszystkie sposoby dekontaminacji są bardzo toksyczne zarówno dla bakterii towarzyszących jak i dla prątków gruźlicy. Dlatego też dla zachowania prątków przy życiu wymagane jest rygorystyczne przestrzeganie warunków metody dekontaminacji.

Możliwość wyhodowania prątków gruźlicy jest związana z większą opornością mykobakterii na działanie roztworów zasad i kwasów i zależy od:

- czasu kontaktu z roztworami dekontaminującymi;
- temperaturą wirowania specimenów;
- jakością wirówek tj. zdolnością do wytwarzania osadu prątków na dnie próbki. Obecnie w laboratoriach prętka na świecie rekomendowane są dwie metody do homogenizacji i dekontaminacji materiałów klinicznych:

- metoda Petroffa z 4% NaOH;
- N-acetylo-L -cysteina z 2% NaOH.

Metoda Petroffa powoduje zabijanie do 60-70% populacji prątków obecnych w materiałach klinicznych natomiast metoda z N-acetylo-L-cysteiną pozbawia żywotności od 30 do 40% komórek prątków. Wstępny efekt prątkobójczy jest niezależny od dodatkowych czynników jakimi są temperatura wirowania i wydajność wirówek.

NOWOCZESNE SYSTEMY HODOWLANE

Mikrobiologiczne potwierdzenie gruźlicy wymaga wyhodowania szczepu na pożywkach i określenie go na podstawie testów identyfikacyjnych. Hodowla stanowi „złoty standard” w potwierdzeniu procesu chorobowego. Metoda hodowli umożliwia wykry

Hodowla *Mycobacterium* - złoty standard w diagnostyce gruźlicy

cie prątków obecnych nawet w małych ilościach w materiałach diagnostycznych (około 10 komórek na ml). Czas uzyskania hodowli na stosowanych w laboratoriach powszechnie pożywkach L-J wynosi około 10 tygodni. Wprowadzenie nowoczesnych systemów hodowlanych znacznie skróciło czas oczekiwania na wyniki (7).

Nowe systemy można podzielić na dwie grupy. Pierwsza z nich to manualne systemy hodowlane:

SEPTI - CHEK: Jest dwufazowym systemem do hodowli prątków. W skład tego systemu wchodzi płynna pożywka Middlebrooke'a oraz trzy rodzaje pożywek stałych: L-J i Middlebrook do hodowli i różnicowania prątków oraz agar czekoladowy do wykrycia ewentualnej kontaminacji materiału od chorego.

MGIT: Jest to system wykorzystujący zjawisko fluorescencji. Zmniejszające się ciśnienie parcjale tlenu w próbówce hodowlanej na skutek zachodzącego metabolizmu bakterii powoduje wzbudzenie barwnika fluorescencyjnego i jego świecenie, które jest widoczne w lampie Wooda.

MB/REDOX: Jest to system hodowlany oparty o reakcję redox. Probówka hodowlana z pożywką Kirchnera zawiera bezbarwny roztwór soli tetrazolowych. W wyniku reakcji redukcji sole tetrazolowe będące akceptorami elektronów przechodzą w postać barwną. Na skutek metabolizmu bakterii zachodzącego w próbówce pożywka przybiera barwę od różowej poprzez czerwoną do fioletowej w zależności od intensywności rozmnażania się prątków.

Druga grupa to szybkie, automatyczne systemy hodowlane:

BACTEC 460 TB: Jest to radiometryczny system do hodowli prątków. W płynnej pożywce Middlebrooke'a substrat wzrostowy stanowi kwas palmitynowy znakowany izotopem węgla ^{14}C . Prątki zużywają go w czasie swoich procesów metabolicznych i wydają w postaci $^{14}\text{CO}_2$. Radioaktywność mierzona jest w aparacie BACTEC, a zachodzący wzrost w butelce określany jest w skali od 0 do 999. W systemie tym możliwa jest izolacja, identyfikacja testem NAP oraz określenie lekowrażliwości prątków.

MB/Bact: Jest to system kolorymetryczny. Zasada jego działania polega na tym, że znajdujący się na dnie butelki hodowlanej sensor kolorymetryczny zmienia swoje zabarwienie pod wpływem wzrostu stężenia produkowanego przez bakterie CO_2 . W systemie tym możliwa jest izolacja i określenie lekowrażliwości prątków.

MGIT 960: Zasada jego działania jest taka sama jak jego wersji manualnej. System ten umożliwia izolację prątków z materiału diagnostycznego i określenie lekowrażliwości.

Nowe systemy hodowlane w porównaniu z pożywkami klasycznymi (jajowymi i agarowymi) umożliwiają szybsze uzyskanie hodowli prątków, nawet w ciągu kilku dni. Systemy te mają poza tym większą czułość co oznacza możliwość otrzymania z tego samego materiału diagnostycznego większej ilości hodowli niż przy zastosowaniu pożywek konwencjonalnych, co ma szczególne znaczenie w przypadku materiałów ska- poprątkowych (8).

IDENTYFIKACJA MYCOBACTERIUM

Bardzo ważną procedurą jest określenie czy wyhodowany szczep należy do kompleksu tuberculosis czy też MOTT (Mykobakterie inne niż tuberculosis) oraz odróżnienie szczepu patogennego od saprofitycznego, przypadkowego zakażenia pochodzącego raczej ze środowiska a nie od pacjenta.

Analiza częstości występowania szczepów mykobakterii atypowych na pożywkach hodowlanych powinna należeć do rutynowych działań w laboratoriach prątka. Każdy przypadek wyhodowania szczepu MOTT powinien być skonfrontowany z obrazem klinicznym chorego. Powodem tak dużej ostrożności, jak już wspomniano, jest powszechne występowanie prątków w środowisku człowieka (naturalne rezerwuary wody, gleba, cząstki kurzu itp.) oraz kontaminacje wody wodociągowej i odczynników chemicznych.

Diagnostyka

W szpitalach pulmonologicznych leczących chorych na gruźlicę należy mieć na uwadze możliwość rozprzestrzeniania się prątków kwasoopornych. Prątki mogą przeżywać w bardzo różnych miejscach i nieznany jest terminalny czas ich przeżycia. Jest to szczególnie niebezpieczne na oddziałach i w szpitalach leczących chorych na gruźlicę. Duże znaczenie w transmisji zakażenia prątkami mają instrumenty medyczne, a wśród nich bronchoskopy (2).

Powodem zanieczyszczenia materiałów pobranych w czasie zabiegu bywa woda wodociągowa stosowana do płukania tych narzędzi. Występująca wówczas kontaminacja prątkami kwasoopornymi powinna być dokładnie zdiagnozowana w celu określenia czy pochodzi ona ze środowiska czy też z zanieczyszczenia bronchoskopu. Otrzymanie hodowli mykobakterii bez uzasadnienia klinicznego u chorego powinno być sygnałem do rozpoczęcia dochodzenia epidemiologicznego. Takie dochodzenie w przypadku prątków kwasoopornych jest procesem bardzo trudnym głównie z powodu długotrwałej, wielomiesięcznej diagnostyki. Pojawiające się prątki atypowe (MOTT) mogą być zlekceważone, lub odwrotnie przypisane błędnie choremu jako czynnik etiologiczny choroby. W tym wypadku choremu grozi zbędna, długotrwała i wieloletnia terapia (6).

Do najczęściej izolowanych prątków niegruźliczych, chorobotwórczych dla człowieka w populacji polskiej należą *M. kansasii*, *M. xenopii* i kompleks MAIC. Zidentyfikowanie mykobakteriozy u człowieka jest procesem trudnym i powinno opierać się w pierwszym rzędzie na obrazie klinicznym, zmianach radiologicznych oraz być potwierdzone przez kilkakrotną obfitą izolację tego samego gatunku atypowych prątków na pożywkach hodowlanych.

Wczesne przeglądanie hodowli umożliwia wykrycie szybko rosnących prątków, które mogą być pomyłone z prątkami gruźlicy. Jeżeli pierwszy przegląd wykonuje się po 2 tygodniach (tak jak jest to praktykowane w wielu laboratoriach) ryzyko takiej pomyłki jest dość duże. Natomiast pomiędzy 3-5 tygodniem wyrastają hodowle, które mogą być prątkami gruźlicy, ale także saprofitami lub potencjalnymi patogenami. Czas izolacji prątków z materiałów diagnostycznych nie może być kryterium identyfikacji ponieważ procesy homogenizacji i dekontaminacji w znaczący sposób wpływają na osłabienie metabolizmu prątków i czas ich izolacji w primokulturze. Dokładny czas wzrostu prątków powinien być ustalony na podstawie wzrostu w subkulturze.

Istotnym badaniem jest również sprawdzenie kwasooporności hodowli. Zakwalifikować prątki do odpowiedniej grupy można także obserwując morfologię kolonii za pomocą dobrej klasy mikroskopu.

TESTY IDENTYFIKACYJNE

Do najważniejszych testów identyfikacyjnych należą te, które różnicują dwa kompleksy: *M. tuberculosis complex* i MOTT. Są to:

- czas wzrostu;
- morfologia kolonii;
- wytwarzanie barwnika;
- test niacynowy;
- test NAP w systemie BACTEC 460 TB;
- wzór lekooporności

Dwa najważniejsze odczyny biochemiczne - wytwarzanie niacyny i wrażliwość na NAP grupują zupełnie inaczej gatunki prątków. Dodatni test niacynowy informuje o wyhodowaniu *M. tuberculosis*, chociaż nie ze 100% pewnością (*M. simiae* również wytwarza niacynę). Jest to test jakościowy i u około 10% prątków atypowych może być dodatni. Ujemny test niacynowy posiadają wszystkie szczepy *M. bovis* razem z BCG oraz odmiany geograficzne (*africanum*, *azjaticum*) oraz prątki atypowe (MOTT).

Hodowla *Mycobacterium* - złoty standard w diagnostyce gruźlicy

Wrażliwość na NAP w systemie radiometrycznym wskazuje, że szczep należy do *M. tuberculosis complex*. Tak więc na podstawie testu NAP widać, że w tej samej grupie znajdują się prątki ludzkie, bydłowe i BCG.

Pomimo intensywnych badań dotyczących testów różnicujących warianty wchodzące w skład kompleksu *tuberculosis*, nie ma jak do tej pory idealnych metod typowania. Trudności taksonomiczne pozostają w ścisłej korelacji z dużą zmiennością gatunków należących do *Mycobacterium* (5). Dwa najważniejsze gatunki w patogenezie ludzi i zwierząt *M. tuberculosis* i *M. bovis* są bardzo trudne do odróżnienia w warunkach laboratorium klinicznego. Dla tych dwóch blisko spokrewnionych gatunków stosuje się testy morfologiczne oraz szereg testów biochemicznych, które są czasochłonne, wymagają kilku tygodni obserwacji, a ponieważ posiadają wspólne cechy umieszczone są w różnych grupach.

Cechą przydatną w różnicowaniu *M. tuberculosis* od *M. bovis* może być cecha naturalnej oporności *M. bovis* na pyrazynamid (PZA). Prątki typu ludzkiego posiadają bowiem pyrazinamidazę dzięki której mają możliwość deaminacji pyrazinamidu do kwasu pyrazoinowego, podczas gdy naturalnie odporne szczepy *M. bovis* i *M. bovis* BCG nie przekształcają PZA w aktywną pochodną (4).

Jeszcze większe trudności sprawia odróżnienie *M. bovis* od *M. bovis* BCG. Z powodu jednakowych cech biochemicznych można je odróżnić od siebie poprzez badanie zjawiska dliwości na króliku, śwince morskiej lub przy użyciu mykobakteriofaga (1). Badania *in vivo* i *in vitro* są bardzo kosztowne, wymagają czasu i są możliwe do przeprowadzenia jedynie w nielicznych, wyspecjalizowanych ośrodkach.

Mykobakterie inne niż prątki gruźlicy (MOTT) wykazują odmienne cechy morfologiczne, biochemiczne oraz wzory oporności na leki. Wiele gatunków rośnie znacznie szybciej niż prątki gruźlicy, niektóre z nich tworzą pigment indukowany światłem (szczepy fotochromogenne), lub tworzony w ciemności (szczepy skotochromogenne), charakteryzują się naturalną opornością na wiele leków przeciwprątkowych i innych antybiotyków. Jedną z pierwszych prób usystematyzowania prątków kwasoodpornych była kwalifikacja opracowana w latach pięćdziesiątych przez Ernesta Runyona (3).

Na podstawie cech morfologicznych hodowli prątków takich jak pigment i warunki jego wytwarzania oraz szybkość wzrostu, prątki atypowe podzielone zostały na 4 grupy obejmujące gatunki o zbliżonych cechach morfologicznych. Wśród tych grup znajdują się gatunki patogenne dla ludzi i zwierząt oraz gatunki saprofityczne. Głównym ograniczeniem tej klasyfikacji jest brak współzależności między charakterystycznymi cechami wzrostu prątków atypowych a rodzajem schorzeń wywołanych u człowieka.

Największe trudności diagnostyczne związane z prątkami atypowymi (MOTT) to ich właściwa identyfikacja oraz odróżnienie gatunków pochodzących ze środowiska od gatunków występujących jako przyczyna choroby (mykobakteriozy) u ludzi.

PIŚMIENNICTWO

- 1- Jones W .D Jr.: Tubercle 1979,60,55-58.
- 2- Leers W.: Can.Med.Assoc.J. 1980,123; 275.
- 3- Runyon E.H.: Med. Clin. North. Amer. 1959,43,272-279.
Scorpio A. Zhangy.: Nature Med.1996,2,662-667.
- 5- Wayne L. G., Kubica G. P: Bacteriology 2. Baltimore Williams E.Wilkins Co 1986,1436-1457.
Zwolska Z., Jezierska-Anczuków A., Augustynowicz-Kopec.:
Nowa Medycyna 1998 V, 11,17-25.
Zwolska Z.; Warszawa, PZWL, 1996. Biblioteka pediatrii
Zwolska-Kwiec Z.: Klinika 1995; 1; 10-14.

System GEN-PROBE z gatunkowo specyficznymi sondami w diagnozowaniu gruźlicy i mykobakterioz

Albert Jaworski, Ewa Augustynowicz-Kopeć

Zakład Mikrobiologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie

Prątki gruźlicy mają duże znaczenie jako patogeny ludzi i zwierząt. Światowa Organizacja Zdrowia podaje, że na gruźlicę umiera rocznie 2,5 miliona ludzi. Dlatego gruźlica nosi niechlubne miano największego zabójcy na świecie wśród bakterii.

W ostatnich latach choroba ta stała się ponownie poważnym problemem zdrowotnym również w krajach bogatych. Ma na to wpływ wiele czynników, takich jak: pojawienie się wirusa HIV, emigracja ludzi z krajów rozwijających się i brak od 20 lat nowego leku przeciwgruźliczego. Dodatkowo coraz więcej szczepów nabywa cechy le-kooporności.

Dotyczy to zwłaszcza miejsc silnie zaludnionych i o niskim standardzie życia, takich jak przytulki dla bezdomnych, więzienia czy obozy dla uchodźców. Problem zakażenia wirusem HIV i choroba AIDS niesie ze sobą niebezpieczeństwo zakażeń spowodowanych bakteriami MOTT.

Powrót problemu gruźlicy zbiegł się na szczęście z rozwojem technik biologii molekularnej, które umożliwiły skrócenie czasu wykrywania i identyfikacji prątków.

Jednym z testów umożliwiających taką szybką diagnostykę jest system Gen-Probe opierający się na gatunkowo specyficznym sondach i umożliwiający identyfikację 5 gatunków bakterii z rodzaju *Mycobacterium* (testy AccuProbe), oraz wykrycie bezpośrednio w materiale klinicznym prątków z grupy *Mycobacterium tuberculosis complex* (test MTD).

Testy firmy Gen-Probe charakteryzują się dużą specyficznością i czułością, oraz co ważne są proste w wykonaniu co stanowi ich przewagę nad metodami opartymi na PCR.

Najważniejszym etapem obu testów jest hybrydyzacja między specyficznymi sondami a rRNA pochodzącą z prątka (testy AccuProbe), czy powstałego podczas amplifikacji (test MTD). Proces hybrydyzacji opracowany przez firmę Gen-Probe jest unikalny pod względem jakości uzyskiwanych wyników (wysoka specyficzność sond), jak i bezpieczeństwa pracy, ponieważ zrezygnowano z sond znakowanych izotopami na rzecz markerów chemicznych takich jak ester akrydyny. Cały proces hybrydyzacji, nazwany przez producenta Hybrydyzation Protection Assay (HPA), zachodzi dwuetapowo. Najpierw w temperaturze 60°C zachodzi właściwa hybrydyzacja między gatunkowo specyficznymi sondami DNA, a rRNA prątków, drugim etapem jest selekcja. Po dodaniu odczynnika selekcyjnego zachodzi reakcja chemiczna, dzięki której odróżnić można sondy shybrydyzowane od wolnych, które tracą markerowy ester akrydyny. Cały proces zachodzi w ciągu 30 min. I po tym czasie dokonuje się odczytu w lumino- metrze.

Producent opracował 6 sond dla 5 gatunków mykobakterii (*M. tuberculosis complex*, *M. avium-intracellulare complex*, *M. avium*, *M. intracellulare*, *M. kansasii*, *M. xenopii*).

Zupełnie nowym produktem jest test MTD (Mycobacterium Tuberculosis Direct Test) pozwala on na wykrycie prątków bezpośrednio w materiale klinicznym. Skraca to teoretycznie czas diagnostyki z kilkunastu dni do 4 godzin.

Test ten opiera się również na HPA, w którym hybryduje rRNA uzyskane podczas amplifikacji - Transcription Mediated Amplification (TMA). Jest to również nowa technologia opracowana przez firm Gen-Probe, pozwalająca skrócić amplifikację z

System gen-probe z gatunkowo specyficznymi sondami w diagnozowaniu gruźlicy i mykobakterioz

kilku godzin jak w PCR, do 1 godziny. Całość procesu zachodzi w jednej temperaturze 42°C, co pozwala uniknąć kosztów związanych z zakupem drogiego termocyclera.

W procesie tym używa się dwóch sekwencji starterowych (primers) i dwóch enzymów: polimerazy RNA (Pol RNA) i odwrotnej transkryptazy (RT). W pierwszym etapie amplifikacji starter, zawierający również sekwencję promotorową dla Pol RNA przylacza się do 3'-końca docelowego rRNA. RT syntetyzuje kopię DNA na matrycy rRNA. Tworzy się RNA: DNA heterodupleks, w którym RNA jest degradowane dzięki RT, aktywności RNA-zy H. Drugi starter hybrydyzuje do nowo zsyntetyzowanej kopii DNA, a RT tworzy drugą nić DNA. Polimeraza RNA, wykorzystując promotor, może na matrycy DNA transkrybować nowe kopie RNA. Nowe kopie RNA wchodzą do cyklu jako dodatkowe sekwencje docelowe. W ciągu godziny uzyskuje się ponad 10^7 kopii docelowej sekwencji (Hill, 1996).

Należy zwrócić uwagę, że zarówno w AccuProbe jak i w MTD sekwencją docelową dla hybrydyzacji i amplifikacji jest rRNA. Zaletą i przewagą RNA nad DNA jest krótszy okres półtrwania, co pozwala uniknąć wykrywania martwych bakterii oraz kontaminacji materiałów od pacjentów kwasami nukleinowymi znajdującymi się w powietrzu. Wykorzystanie rRNA umożliwia zwiększenie czułości testów, ponieważ w przeciwieństwie do charakterystycznych sekwencji DNA występują one w kilkuset powtórzeniach w żywej komórce bakteryjnej.

Podawana przez producenta czułość i specyficzność testu MTD wynosi odpowiednio 93,3% i 99,1% dla materiałów klinicznych, oraz 90,6% i 99,6% dla szczepów wzorcowych. Są to bardzo wysokie wartości, gwarantujące wiarygodność uzyskanych rezultatów, przede wszystkim pod względem specyficzności testu. Porównując je z wynikami specyficzności i czułości DIG-PCR Elisa, które wynoszą odpowiednio: 94,1% i 96,5% (Boruń, 1999), a dla innych testów opartych na PCR czułość wynosi 84,2%, specyficzność 100% (Abe i wsp. 1993, Świdarska, 1999). Wyniki uzyskane metodą MTD i PCR są zbliżone, również jakość testu jest bardzo podobna. Za przewagą testu MTD przemawia większa prostota i krótszy czas wykonania badania.

Czułość i specyficzność testu AccuProbe wynosi 99,8%.

W Instytucie Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie przeprowadzono testy mające ustalić specyficzność i czułość testu MTD dla szczepów klinicznych pochodzących od pacjentów z Instytutu. Przebadano 252 materiały i uzyskano następujące wyniki:

- czułość metody dla materiałów klinicznych wynosiła - 70%,
- specyficzność - 85%.

Zarówno wyniki czułości jak i specyficzności znacznie odbiegają od danych podawanych przez producenta. Dane literaturowe podają wyniki czułości na poziomie 97- 80% (Pfayffer i wsp. 1994; Miller i wsp. 1994). Czym może być spowodowany tak niski wynik czułości testu? Można przypuszczać, że na wynik ma wpływ obecność inhibitorów w materiałach klinicznych pochodzących od pacjentów. Podstawowym inhibitorem reakcji amplifikacji bywa zwykle hemoglobina. Mimo uważnego opracowywania materiału mogą się w nim wciąż znajdować śladowe ilości hemoglobiny, które wpływają na jakość testu (Kolk i wsp., 1994). Stanowi to poważny problem, gdyż często w materiałach diagnostycznych chorych mogą znajdować się niewielkie ilości krwi. Innymi inhibitorami enzymów uczestniczących w amplifikacji mogą być leki podawane chorym (Moore i wsp. 1996).

Tak niska wartość specyficzności (85%) obniża wartość diagnostyczną testu, ponieważ istnieje duże ryzyko wystąpienia fałszywie dodatnich wyników. Należy jednak Przypuszczać, że fałszywie dodatnie rezultaty testu nie są spowodowane wadą w zaprojektowanych starterach czy sondach DNA. Okazuje się, że wadą testu MTD podobnie jak PCR jest jego zbyt duża czułość. Czułość testów genetycznych jest najwyższa, wszystkich metod, gdyż - przykładowo - dzięki bakterioskopii można wykryć prątki jeśli stężenie bakterii wynosi 10^4 — 10^7 komórek na ml, podczas gdy w teście MTD

Diagnostyka

IO¹-IO² komórek na ml, a PCR 0,5x10¹-10² komórek na ml (Pfyffer i wsp. 1996). Tak wysoka czułość powoduje, że może się zdarzyć wykrycie prątków gruźlicy w materiale od chorego przy jednoczesnym braku procesów chorobowych. Testy genetyczne należy traktować jako wspomagające i pamiętać, że złotym środkiem jest hodowla.

Nie budzi natomiast żadnych wątpliwości użycie testu AccuProbe do określenia przynależności gatunkowej prątków uzyskanych w hodowli. Zastosowanie tego testu pozwala skrócić czas oczekiwania na typowanie z tygodni do 2 godzin. Można wykorzystywać zarówno bakterie wyhodowane na pożywce Löwenstaina - Jensena, jak i w płynnych pożywkach wykorzystywanych w systemach hodowlanych BACTEC 460 Tb i BACTEC 960 MGIT (Metchock i wsp., 1995).

Podsumowując należy stwierdzić, że użycie testów Gen-Probe z gatunkowo specyficznymi sondami pozwala na skrócenie czasu diagnostyki i uzyskanie pewnych rezultatów. Należy jednak pamiętać, że jakkolwiek testy genetyczne wykorzystujące amplifikację kwasów nukleinowych są potężnym narzędziem diagnostycznym, to należy je wykorzystywać wyłącznie jako test pomocniczy i zawsze wynik konfrontować z obrazem klinicznym pacjenta.

PIŚMIENNICTWO:

1. Abe C., Hirano K. i wsp. 1993. J. Clin. Microbiol., 31: 3270-3274.
2. Boruń M., 1999. (Praca doktorska wykonana w CMiW PAN).
3. Hill C.S., 1996. (Materiały własne Gen-Probe Inc.).
4. Kolk A. H. J., Noordhoek G. T. i wsp. 1994. J. Clin. Microbiol. 32: 1354-1356.
5. Metchock B., Diem L. 1995. J. Clin. Microbiol., 33: 1934-1937.
6. Miller N., Hernandez S. G. I wsp. 1994. J. Clin. Microbiol. 32: 393-397.
7. Moore D. E., Curry J. I. i wsp. 1996. J. Clin. Microbiol. 34: 1745-1749.
8. Pfyffer G. E., Kissling P. i wsp. 1994.. J. Clin. Microbiol., 32: 918-923.
9. Pfyffer G. E., Kissling P. i wsp. 1996. J. Clin. Microbiol., 34: 834-841.
10. Świdarska A. 1999. (Praca magisterska wykonana w Zakładzie Wirusologii UW).

Nowoczesna diagnostyka zakażeń wirusowych i bakteryjnych

Janusz J. Stańczak, Urszula Komorowska

Pracownia PCR i Mikrobiologii, Wojewódzki Szpital Zakaźny, Warszawa

Wstęp

Współczesna diagnostyka zakażeń wirusowych i bakteryjnych winna być szybka, czuła, swoista i jednoznaczna, unikająca laboratoryjnej obróbki interpretacyjnej; nie najmniej istotny jest aspekt ekonomiczny, sprowadzający się do zalecenia: diagnostyka tak tania, by jeszcze była wiarygodna. Dostępne testy stają się „przyjazne użytkownikowi” - tworzą system kompletny, logiczny, zawierający układy kontrolne oraz dokładną instrukcję wykonania.

Diagnostyka klasyczna

Wbrew powszechnym poglądom nowoczesna diagnostyka wykorzystuje też metody wcześniejsze - systemy hodowli, testy biochemiczne i serologiczne poddane wielu usprawnieniom i udoskonaleniom. Działania zmiernają w co najmniej trzech różnych

Nowoczesna diagnostyka zakażeń wirusowych i bakteryjnych

kierunkach: udoskonalanie metod istniejących, wprowadzanie metod nowatorskich oraz automatyzacja procesów diagnostycznych połączona z komputerową analizą wyników i ich archiwizacją.

1. Udoskonalanie metod istniejących.

Dobrym przykładem są metody serologicznej identyfikacji wirusów i bakterii. Testy lateksowe, w których cząsteczki lateksu są opłaszczane przeciwciałami monoklonalnymi są czułe i specyficzne; komercyjnie dostępne zestawy są wyposażane w systemy kontrolne, monitorujące przebieg testu, zapewniając wysoką ufność w wynik; opracowane testy są przyjazne użytkownikowi, proste, aspektem istotnym jest też estetyka wykonania testu. Wiele testów umożliwia identyfikację wiodących czynników sprawczych zakażeń badanego układu - tu sztandarowym przykładem może być test identyfikujący 3 gatunki (w tym 5 serotypów) bakterii odpowiedzialnych za 80% przypadków zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. Wykonanie tego testu, w połączeniu z rutynowym badaniem mikroskopowym, umożliwia wydanie wstępnego rozpoznania po 40-60 min. od dostarczenia próbki do laboratorium. W testach wykrywających przeciwciała najczęściej stosuje się antygeny uzyskane na drodze rekombinacji kodującego je DNA lub cDNA; w oznaczaniu lekooporności bakterii wprowadzono szybkie i dokładne E-testy, a poznanie genetycznych uwarunkowań oporności umożliwiło śledzenie np. oporności indukowanej. Udoskonalone podłoża zawierające inhibitory czynników przeciwbakteryjnych - przeciwciał, składowych układu dopełniacza, antybiotyków - umożliwiają ocenę próbek n.p. w czasie intensywnej antybiotykoterapii a zintegrowane systemy komputerowego nadzoru hodowli umożliwiają wykrycie próbek dodatnich nawet po godzinie od instalacji próbki (obserwacje własne), jednocześnie skracając czas wydania wyników ujemnych z przyjętych 10 do 7 dni.

2. Metody nowe: badania immunocytofluorescencyjne i immunocytochemiczne, wykorzystujące przeciwciała uzyskane drogą rekombinacji DNA zapewniają swoiste rozpoznanie czynników zakaźnych bezpośrednio w badanych tkankach lub komórkach. Nowością jest zastosowanie metod znanych w nowych wariantach - np. zastosowanie w cytometrii przepływowej przeciwciał rozpoznających antygeny bakterii i wirusów umożliwiło ocenę ich obecności w komórkach krwi, podobnie wykorzystuje się metody chromatografii cieczowej (HPLC) do identyfikacji i różnicowania biochemicznego wybranych drobnoustrojów.

Inną nową techniką jest elektroforetyczny rozdział kwasów nukleinowych w zmiennym polu elektrycznym (PFGE - pulse field gel electrophoresis). Umożliwia rozróżnienie bardzo dużych fragmentów DNA (do 10 Mb). Określając profil migracyjny genomów wirusowych i bakteryjnych jest doskonałym narzędziem do np. dochodzeń epidemiologicznych.

3. Automatyzacja. Systemy zautomatyzowane przyspieszają uzyskanie wyniku, skracają czas wydania wyniku ujemnego, zmniejszają ryzyko błędu ludzkiego oraz zapewniają wysoką powtarzalność procedur badawczych. Przykładami takich systemów są zestawy do posiewów krwi i innych płynów ustrojowych, z najbardziej popularnymi systemami BacTec (Becton Dickinson) lub BactAlert (Organon). Dla identyfikacji biochemicznej i oznaczania lekooporności powszechnie już stosuje się systemy typu Sceptor (Becton Dickinson) lub ATB Expression (bioMerieux). W połączeniu z testami paskowymi przyspieszają i upraszczają diagnostykę, jednocześnie, obejmując szersze spektrum badanych cech, dokładniej opisują identyfikowany drobnoustrój. Niektóre z wymienionych systemów posiadają doskonałe programy archiwizujące, umożliwiające szybką ocenę wyhodowań, analizę kosztów, dochodzenia epidemiologiczne, w tym siedzenie zakażeń wewnątrzszpitalnych.

Diagnostyka molekularna

Przedstawione wyżej metody usprawniają diagnostykę, jednak niewątpliwą rewolucją było wprowadzenie i upowszechnienie metod zapożyczonych z biologii molekularnej

Diagnostyka

larnej, głównie genetyki molekularnej, oznaczanych w literaturze anglojęzycznej mianem NATs (Nucleic Acid (Amplification) Techniques - Techniki (Amplifikacji) Kwasów Nukleinowych). Opracowane w latach 70 tych techniki stały się podstawowym narzędziem wykrywania i charakteryzowania nowych drobnoustrojów - np. HCV, HGV, TTV czy, ostatnio, wirusa Nipah. Coraz częściej wcześniej wiemy wszystko o genomie, pośrednio o kodowanych przezeń peptydach i antygenach, niż zobaczymy patogen metodą mikroskopii lub wykryjemy jego antygeny w reakcjach serologicznych. Pojawiły się nowe pojęcia - genotypy, warianty genetyczne, quasispecies; nowe możliwości, np. dokładna ocena wiremii czy lekooporności wirusów; drzewa filogenetyczne drobnoustrojów są konstruowane na nowo, tym razem uwzględniając najbardziej chyba miarodajny faktor - odległości genetyczne między izolatami.

Podstawowe obecnie techniki, takie jak ustalanie sekwencji nukleotydów, analiza restrykcyjna, analiza hybrydazyjny, z jednej strony umożliwiły i uprościły charakterystykę genomów bakterii i wirusów niosąc informacje niezbędne do syntezy oligo- nukleotydów, dalej wykorzystywanych jako sondy lub primery, uprościły procesy rekombinacji DNA, z drugiej - bardzo szybko zostały wprężnięte w rutynową diagnostykę czynników zakaźnych.

1. Podstawą charakterystyki genomów jest sekwencjonowanie - ustalenie sekwencji nukleotydów, jedno z podstawowych narzędzi współczesnej genetyki. Opisuje szukanie nukleotydów badanego DNA lub RNA, definiuje badany genom lub jego fragment, określa tzw. architekturę genu: ilość i rozkład eksonów i intronów, sekwencje regulatorowe, umożliwia poznanie czynników chorobotwórczych - w ostatnich latach poznano pełen zapis np. *M. tuberculosis* i *N. gonorrhoeae*. Metoda ta wykrywa i charakteryzuje pojawiające się mutacje; dzięki niej jest możliwa synteza peptydów kodowanych przez rekombinowany DNA, stosowanych np. w testach serologicznych lub szczepionkach. Sekwencjonowanie jest również źródłem informacji dla syntezy sond i prime- rów. Najbardziej powszechna jest opublikowana w 1977 r. metoda Sangera. Wykorzystuje ona zasadę przerywania (terminacji) wydłużania potomnej nici DNA przez wbudowanie dwudeoksynukleotydu.

2. Hybrydazyja kwasów nukleinowych. W tej metodzie badany DNA lub RNA, po denaturacji do form jednoniciowych, jest rozpoznawany i przyłączany na zasadzie parowania zasad (A/T/U, G/C) do sond - krótkich odcinków jednoniciowego DNA lub RNA, wyznakowanych izotopami lub innymi znacznikami (np. biotyną lub digoksygeniną). Układ sonda/poszukiwany kwas nukleinowy jest wykrywany drogą autoradiografii, reakcji enzymatycznych lub serologicznych. Opracowanie przez Southern'a w 1975 r. metody przenoszenia DNA na stałe nośniki (Southern transfer, przeniesienie RNA - Northern transfer) uprościło techniki hybrydazyjny i ułatwiło analizę kwasów nukleinowych.

Reakcje hybrydazyjny są przeprowadzane w wielu wariantach, na przykład hybrydazyja miejscowa - *in situ* hybrydazyja - umożliwia wykrywanie materiału genetycznego patogenów bezpośrednio w próbkach tkanek lub komórkach gospodarza a uzupełniona o badania densytometryczne - ocenę ilościową. Metody hybrydazyjny są powszechnie wykorzystywane w badaniach podstawowych, i, coraz częściej, w rutynowych testach diagnostycznych - warianty HCA (Hybrid Capture Assay), również większość diagnostycznych testów PCR kończy się hybrydazyją ze swoistymi sondami. Jedną z nowszych odmian to *in situ* hybrydazyja w systemie Chromoprobe Multiprobe (CytoCell Innovative Prob. Tech), gdzie na jednej płytce jest możliwe identyfikowanie 24 sekwencji.

3. Analiza restrykcyjny. W latach 70 wykryto i zdefiniowano endonukleazy restrykcyjny - enzymy rozpoznające swoje sobie sekwencje nukleotydów, i wprowadzające w te sekwencje cięcia. Efektem ich aktywności jest tworzenie fragmentów restrykcyjny. Wykorzystanie tych enzymów znacznie uprościło metody „obróbki” ma

Nowoczesna diagnostyka zakażeń wirusowych i bakteryjnych

teriału genetycznego, w tym techniki klonowania DNA. Endonukleazy restrykcyjne zostały także zastosowane w niektórych metodach diagnostycznych. Połączenie technik hybrydyzacji z analizą restrykcyjną to metoda oceny polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych (Restriction Fragment Length Polymorphism - RFLP). Stosując tę technikę określamy charakterystyczny dla drobnoustroju wzór RFLP, identyfikujemy typy genetyczne, mutacje lub nowe szczepy - metoda ta jest jednym z podstawowych narzędzi epidemiologów do śledzenia dróg przenoszenia patogenów. Powstały różne warianty tej metody, np. PCR RFLP.

4. Ocena polimorfizmu konformacji przestrzennej DNA (Single Strand Conformation Polymorphism - SSCP). Jest to metoda umożliwiająca wykrycie różnic w sekwencjach nukleotydów badanego DNA lub RNA. Wyizolowany lub namnożony materiał genetyczny jest denaturowany, następnie szybko schładzany. W powstałych pojedynczych niciach odtwarzają się lokalne odcinki dwuniciowe, powstające zgodnie z regułą parowania zasad. Nici są rozdzielane elektroforetycznie w żelach niedenaturujących, chroniących regiony dwuniciowe. Szybkość migracji zależy od ilości i długości fragmentów jedno i dwuniciowych. Im więcej jest odcinków dwuniciowych, tym szybciej nic migruje. Barwienie EtBr lub solami srebra uwidacznia wzór rozdzielonych fragmentów, informując o różnicach w sekwencjach nukleotydów badanej próbki. Wyniki SSCP umożliwiają np. wykrycie powstających mutacji. Obecnie najczęściej oznacza się konformację odcinków DNA namnożonych w reakcji PCR, technika ma nazwę SSCP-PCR.

Lata 90 to z kolei tworzenie złożonych, wyrafinowanych a jednocześnie prostych w wykonaniu i przyjaznych użytkownikowi metod badawczych, szybko wprowadzanych do rutynowej diagnostyki. Najczęściej stosuje się reakcję łańcuchową polimera-zy (PCR), metodę bDNA, rzadziej metodę LCR czy NASBA. Najnowsza metoda to TMA (Transcription-Mediated Amplification).

1. Reakcja łańcuchowa polimerazy (Polymerase Chain Reaction - PCR). Ideę przedstawił K. Mullis w 1983r., kilka lat później otrzymując za pomysł nagrodę Nobla. PCR naśladuje *in vitro* proces zachodzący *in vivo* - powiela wybrany fragment genomu. Jest to proces cykliczny, w którym do zdenaturowanego, jednoniciowego DNA lub cDNA przyłączają się z dwa primery - krótkie odcinki jednoniciowego DNA, komplementarne do badanych sekwencji. Ciepłooporna polimeraza DNA wydłuża primery, syntezując potomną nić, komplementarną do nici wzorcowej. Następny cykl zaczyna się ponownie od denaturacji, umożliwiając wykorzystanie również zsyntezowanych nici jako wzorca w ponawianej amplifikacji. Produktem PCR jest DNA, możliwa jest również analiza RNA, na przykład transkryptów genów lub genomowego RNA patogenów, np. HIV lub HCV. W takim badaniu RNA jest przepisywany na komplementarny DNA (cDNA) przez odwrotną transkryptazę w reakcji odwrotnej transkrypcji (reverse transcription -RT). Ten proces jest oznaczany jako RT PCR.

Zastosowania PCR są tak wielorakie, że nie jest sensowne ich wymienianie. Jako ciekawostkę można podać fakt wykorzystywania PCR przez inspektorów FDA do identyfikacji gatunków ryb, z których pochodzi importowany na teren USA kawior. W diagnostyce bakteriologicznej PCR jest stosowany w uzasadnionych przypadkach, np. do identyfikacji drobnoustrojów wolnorosnących, np. *Mycobacterium sp.*, również do oznaczania lekooporności prątków; w naszym laboratorium stosujemy PCR również do ^entyfikacji enterotoksynotwórczych szczepów *Cl. difficile* - skracamy czas diagnozowania z kilku dni do 3-4 godzin.

PCR znalazł szersze zastosowanie w diagnostyce zakażeń wirusowych, ze względu na brak wydajnych metod klasycznych. Możliwe jest oznaczanie wariantów genetycznych, śledzenie zmienności indywidualnej, genetycznego rozbiegania się szczepów w organizmie gospodarza oraz, właściwość bardzo istotna- oznaczanie ilościowe - określanie wirerii, np. w zakażeniach CMV, HBV, HCV lub HIV.

W ciągu kilku lat upowszechniania PCR powstały liczne udoskonalenia:

Diagnostyka

- nested PCR, zwiększający czułość metody i weryfikujący specyficzność produktu,
- multiplex PCR - zastosowanie w jednej reakcji kilku par primerów, rozpoznających różne genomy. Stosuje tę metodę do identyfikacji genów *mecA* i *nuc S. aureus*, firma Roche opracowuje test, umożliwiającą jednoczesne rozpoznanie HBV, HCV i HIV,
- *in situ* PCR - wykonywana na szkiełkach podstawowych lub innych nośnikach amplifikacja materiału genetycznego obecnego w komórkach lub mikroskrawkach tkanek,
- MS PCR (Methylation-Sensitive PCR) stosowany w genetyce człowieka, umożliwia rozróżnianie materiału genetycznego matczynego i ojcowskiego,
- wariant TaqMan - rewolucjonizujący przebieg PCR system produkujący sekwencje znakowane łatwo wykrywalnymi fluorochromami. W połączeniu z tzw. cyklerem świetlnym (Light Cycler) skraca czas reakcji do kilku minut oraz mierzy w czasie realnym ilość produktu, pośrednio - ilość poszukiwanych sekwencji.

2. Reakcja łańcuchowa ligazy - LCR - technologia promowana przez Abbott. W tej metodzie dwa oligonukleotydy rozpoznają i przyłączają się do dwu sąsiadujących sekwencji. Ligaza DNA łączy oligonukleotydy wiązaniem kowalencyjnym. Powstały fragment DNA, o wielkości równej sumie długości użytych oligonukleotydów, jest uwalniany przez denaturację i służy jako matryca w dalszych cyklach. System ten, intelektualnie elegancki, nie uległ popularyzacji, zwłaszcza przy ekspansji PCR. Jest stosowany do wyszukiwania mutacji punktowych, np. w genomie HBV, też do wykrywania pojedynczych wymian nukleotydów w badanym materiale genetycznym.

3. Metoda rozgałęzionego DNA (branched DNA - bDNA). W odróżnieniu od wyżej opisanych metod uzyskiwana czułość detekcji nie jest wynikiem namnażania poszukiwanego kwasu nukleinowego, lecz wzmacniania sygnału. bDNA jest ciągiem kilku różnych hybrydyzacji. W reakcji uczestniczą dwie sondy wykrywające (zawierają sekwencję komplementarną do poszukiwanego DNA lub RNA oraz sekwencje komplementarne do umieszczonej na nośniku sondy chwytającej lub do przyłączanego w końcowym etapie reakcji bDNA), sonda chwytająca (trwale połączona z nośnikiem rozpoznaje i łączy się z jedną z sond rozpoznających poszukiwany DNA/RNA) oraz tak zwany rozgałęziony DNA (branched DNA - bDNA), zwany też wzmacniaczem. bDNA przyłącza się do drugiej grupy sond, komplementarnych do poszukiwanej sekwencji; jego rozgałęziona struktura umożliwia przyłączenie dużej ilości znaczników chemiluminescencyjnych. W ostatnim etapie badania obecność oraz ilość znaczników jest wykrywana chemiluminescencyjnie. Podobnie jak PCR również bDNA umożliwia ilościowe oznaczanie badanych sekwencji.

4. Zależna od sekwencji amplifikacja kwasów nukleinowych (Nucleic Acid Sequence-Based Amplification - NASBA). W tej metodzie identyfikuje się poszukiwany materiał genetyczny i namnaża w postaci RNA. W reakcji biorą udział dwa primery (jeden zawiera sekwencję komplementarną do poszukiwanego DNA lub RNA oraz sekwencję promotorową dla polimerazy RNA faga T7, drugi niesie sekwencję komplementarną do nowosyntezowanego DNA) i trzy enzymy (odwrotna transkryptaza - syntezuje cDNA na wzorcu DNA, RNazaH - trawi nić RNA w kompleksie RNA/cDNA oraz poli-meraza RNA faga T7 - na wzorcu DNA syntezuje wiele kopii RNA).

Reakcja NASBA różni się od PCR następująco: namnaża RNA, nie DNA, zachodzi w stałej temperaturze 40°C, uczestniczą w niej trzy aktywności enzymatyczne. NASBA jest co najmniej równa PCR w wydajności syntezy.

5. Dalekim kuzynem NASBA jest procedura TMA (Transcription-Mediated Amplification) - amplifikacja z pośrednictwem transkrypcji. Metoda ta wykrywa DNA lub RNA, następnie, wykorzystując specyficzne primery, DNA zależną polimerazę RNA syntezuje duże ilości RNA. Powstał już wariant umożliwiający ocenę ilościową. Komercyjnie dostępne protokoły umożliwiają wykrywanie HCV, też *M. tuberculosis*.

Nowoczesna diagnostyka zakażeń wirusowych i bakteryjnych

Podobnie jak w diagnostyce klasycznej, także w diagnostyce genetycznej pojawiła się automatyzacja, jako środek niwelujący błędy wewnątrzlaboratoryjne oraz upraszczający i standaryzujący przebieg testów. Systemami zautomatyzowanymi są zestawy Cobas Amplicor (Roche) wykonujące reakcje PCR lub RT PCR, następnie samodzielnie wykrywające produkt i oceniające ilość poszukiwanego materiału genetycznego. Tu udział diagnosty sprowadza się do zainstalowania zestawu odczynników i wprowadzenia próbek z wyizolowanym materiałem genetycznym. Firma obiecuje wprowadzenie AmpliPrep- zestawu do automatycznej izolacji materiału genetycznego. W takim systemie praca będzie polegać na wprowadzeniu próbki badanej do systemu izolującego kwas nukleinowy, następnie przeniesieniu izolatu do Cobasa, i wydaniu wyniku. Firma Abbott opracowała system podobny, nazwany LCx Analyzer, służący m. in. wykrywaniu i ocenie wirusii HCV. Innym przykładem są zestawy automatyzujące przebieg bDNA - DNA Amplifier (Bayer).

Automatyzacja testów genetycznych umożliwiła n.p. wprowadzenie w ostatnich tygodniach w Polsce zgodnego z wymogami UE badania wszystkich donacji krwi w kierunku HCV. W USA America's Blood Center promuje technikę minipooling, testując zestawy 24 lub 16 próbek. Szacowano, że w maju 1999 r. 50% krwi w USA było poddane takiemu testowi. Wyliczono, że powoduje to wzrost ceny 1U masy krwinkowej z 75\$ do 81-82\$.

Opisane metody genetyczne, niedawno nowatorskie, stają się klasyką. Niewątpliwie dalszą rewolucją jest wprowadzany system profili genowych (gene array, microarray) oceniający aktywność genów oraz identyfikujący sekwencje nukleotydów. System ten tworzą tzw. czipy, kostki DNA (DNA chips) - na trwałe nośnik (np. membranę nitrocelulozową lub nylonową, ale też na klasyczną płytkę krzemową) są naniesione sondy rozpoznające tysiące sekwencji nukleotydów (np. firma Affymetrics osadza na kilkucentymetrowej płytce krzemowej do 100 tys. różnych sekwencji). Charakteryzowany materiał genetyczny jest poddawany hybrydyzacji, a identyfikacja hybryd następuje w automatycznych czytnikach. Wynik jest oceniany przez program komputerowy identyfikujący sekwencję, wykrywający mutacje oraz oceniający ilość badanego kwasu nukleinowego.

Pierwsze komercyjnie dostępne zestawy umożliwiały analizę ekspresji 4 290 genów *E. coli* i 4107 *B. subtilis* (Panorama™ *E. coli*, *B. subtilis* Gene Array - Sigma GenosysJ, jednak już następny test zapewniał ocenę aktywności 375 genów kodujących ludzkie cytokiny, chemokiny, pokrewne czynniki komórkowe oraz ich receptory. W dyskusjach z inwentorami Sigma Aldrich sugerowałem i uzasadniłem przydatność stworzenia systemu rozpoznającego np. wszystkie wirusy hepatotropowe, połączonego z identyfikacją genów układu HLA.

Obecnie dostępne zastosowania to czipy do wykrywania już znanych sekwencji, czy- PY do analizy sekwencji nieznanymi (sekwencjonowanie) oraz czipy śledzące aktywność genów.

Pierwsze praktyczne zastosowania w diagnostyce mikrobiologicznej to:

- chip analizujący mutacje HIV,
- zastosowanie w US ARMY Medical Research Institute of Infectious Diseases czipu oceniającego efekt zakażenia dwoma odmianami wirusa Ebola: odmiana Zair wywołuje zakażenia o bardzo wysokim odsetku śmiertelności, podczas gdy odmiana Reston jest praktycznie niechorobotwórcza. Analiza z użyciem czipów analizujących aktywność 1400 genów ludzkich leukocytów wykazała różną ich aktywację po zakażeniu poszczególnymi odmianami wirusa;
- w St. George's Hospital Medical School, Londyn, wykorzystano czipy analizujące aktywność wszystkich genów *Mycobacterium tuberculosis*, oceniając ich rolę w pierwszych etapach zakażenia.

Sądzę, że metoda DNA czipów będzie rozwijać się lawinowo, gdyż etap najbardziej ^{Czasochłonny} poznania sekwencji interesujących nas genów i genomów, jest w więk-

Diagnostyka

szości już dokonane, a dalsze kroki - dobór i synteza sond- są szybkie i bardzo tanie. Automatyzacja procedury, możliwość śledzenia aktywności wieluset genów lub wykrywania wszystkich możliwych patogenów czyni tę technikę bardzo atrakcyjną.

Zagrożenia

Zycie codzienne dobitnie przekonuje nas, że rewolucja zjada własne dzieci, a nowe techniki wprowadzają nowe zagrożenia. Poniżej wyliczyliśmy niektóre jedynie problemy związane z wprowadzaniem NATs do rutynowej diagnostyki.

1. Metodologia. Praca z podatnym na uszkodzenia fizyczne i degradację materiałem genetycznym, duża ilość różnych technik izolacji i brak procedur standaryzujących powoduje, że wynik NAT w znacznym stopniu zależy od jakości całego ciągu diagnostycznego. Bardzo dobitnie wykazuje ten problem porównanie wpływu różnych metod izolacji DNA na skuteczność detekcji CMV: izolacja metodą Qiamp blood kit (QIA- GEN) - 0,0% dodatnich, metodą Amplicor whole-blood prep. Kit (Roche) - 1%, metodą Isoquick nuci. Acid prep (Microprobe) - 8% dodatnich.

Prowadzone przez Netherlands's Red Cross weryfikacje laboratoriów europejskich stosujących techniki NATs wykazują ciągle znaczny rozrzut wyników.

2. Terminologia - nawet czytając prasę naukową zauważamy potrzebę ujednoczenia nazewnictwa. Na przykład dla genetyka LTR oznacza Long Terminal Repeats (fragment genomu niektórych wirusów, dla hepatologa - Long Term Responders (długotrwałe odpowiadający na leczenie np. antywirusowe). Inny przykład: w publikacjach wiremia jest opisywana w: copies/mL, log copies/mL, Genome equivalents/mL. Mega Equivalents/mL, picograms/mL no i oczywiście International Units/mL Taki chaos konfu- duje czytelnika i zmusza do przeliczeń.

3. Komercjalizacja. Nowy, szokujący aspekt technik NATs. Informacja zdobywa wymierną wartość finansową. Potrącające o naukowy skandal zawieruchy związane z programem HUGO mają swoją reprezentację w dziedzinie diagnostyki mikrobiologicznej. Są patentowane metody stworzone kilka lat wcześniej, przez osoby i ośrodki nie czerpiące z tego faktu zysków finansowych. Skrajnym znany mi wynaturzeniem, i odstępstwem od przyjętej weryfikacji wyników przez ich publikację i osąd społeczności badaczy, jest wywiad udzielony 20.06.1999 „New York Times'owi” przez przedstawiciela firmy DiaSorin. Przedstawiono w nim prawdopodobne odkrycie wirusa odpowiedzialnego za większość przypadków wzw Nie-A Nie-E. Jednocześnie poinformowano o odstąpieniu od upowszechnienia wyników do czasu opracowania skutecznego testu serologicznego i zgarnięcia idących za tym profitów.

4. Czynniki ludzkie. Wprowadzenie metod nowoczesnych, skrajnie czułych, tworzy rewolucję w diagnostyce. Jednocześnie czułość i wrażliwość tych metod narzuca wszystkim zaangażowanym w proces diagnostyczny nowe, poprzednio nieobecne wymagania. Sądzę, że kryminogennym uproszczeniem jest powielanie w wielu protokołach diagnostycznych zdanie, iż dany proces wymaga doświadczonego zespołu laboratoryjnego. Laboratorium opisuje i ocenia otrzymaną próbkę, wszystkie wcześniejsze etapy - przygotowanie pacjenta, pobranie, opracowanie przedlaboratoryjne, transport

- mogą być i są przyczyną zafałszowań. Nawet w trakcie pisania tych refleksji otrzymaliśmy kilkanaście próbek surowicy w buteleczkach z ciemnego szkła, z pewnością dokładnie umytych, prawdopodobnie po witaminach, zakorkowanych korkiem gumowym, z pewnością „turlającym” się kilka tygodni po dnie szuflady. Jak przyłożyć do tego procedurę kosztującą 230 zł, o czułości 40 wirionów/mL?

W znanych zainteresowanym przypadkach przerost entuzjazmu nad wynikającym z doświadczenia „wyrachowaniem” powodował utratę i znacznych funduszy, i reputacji, i obstrukcję procesu terapeutycznego. Każda nowa metoda diagnostyczna winna być przedyskutowana przez wszystkich zainteresowanych, a kontakt laboratorium z kliniką jest podstawą rzetelnej diagnostyki.

Techniki inżynierii genetycznej w badaniach epidemiologicznych

Józef Kur

Katedra Mikrobiologii Wydział Chemiczny Politechniki Gdańskiej

Wstęp

Zakażenia szpitalne są przyczyną wielu zgonów oraz pochłaniają ogromne ilości pieniędzy, gdyż wiążą się one z przedłużonym leczeniem i rekonwalescencją, odszkodowaniami wypłacanymi w przypadku wystąpienia zakażeń szpitalnych. Dane oparte na prospektywnych badaniach Centers for Diseases Control sugerują, że bezpośrednia umieralność pacjentów z zakażeniami szpitalnymi wynosi 10%, a pośrednia 30%. Obecnie w Stanach Zjednoczonych szacuje się, że wydatki związane z występowaniem zakażeń tego rodzaju wynoszą od 3 do 5 miliardów rocznie. W Polsce brak jest wiarygodnych danych dotyczących zakażeń szpitalnych. Do najczęstszych zakażeń szpitalnych należą infekcje układu moczowego (39%), infekcje płucno-oskrzelowe (22%), symptomy lokalne (14%), sepsa (13%). W latach 90-tych trzy najpowszechniejsze ziarenkowce Gram-dodatnie (*S. aureus*, koagulazo-ujemne gronkowce i enetrokoki) były odpowiedzialne za 34% infekcji szpitalnych. Do najczęstszych patogenów Gram-ujemnych należą: *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp. oraz *Klebsiella pneumoniae* (32% zakażeń szpitalnych). Duży problem stanowią infekcje szpitalne wywołane przez szczepy wielooporne, których leczenie jest problematyczne ze względu na ograniczone możliwości terapeutyczne. Wśród ziarenkowców Gram-dodatnich główny problem stanowią metycylinooporne gronkowce złociste (*S. aureus* MRSA), których częstość występowania w polskich szpitalach jest wysoka. Niedawno pojawiły się szczepy z obniżonym poziomem wrażliwości na wankomycynę, co może stanowić zwiastun sytuacji, w której brak jest jakichkolwiek możliwości leczenia infekcji gronkowcowych.

Zakażeń szpitalnych nie da się całkowicie wyeliminować. Niezbędne jest jednak dążenie do maksymalnego ich ograniczenia. Można ich uniknąć w 80%. Walka z zakażeniami szpitalnymi wymaga zintegrowania wielu działań takich jak właściwa dezynfekcja i sterylizacja sprzętu medycznego, możliwości izolacji pacjentów, wprowadzanie programów kontroli infekcji szpitalnych, istnienie zespołów kontroli polityki antybiotykowej, istnienie wiarygodnych danych epidemiologicznych, a także tak prozaicznej i niedocenianej czynności jak mycie rąk. Ważną rolę w ograniczaniu zakażeń szpitalnych odgrywa diagnostyka mikrobiologiczna. Celem mikrobiologii klinicznej jest jak najszybsza izolacja czynnika etiologicznego infekcji, określenie jego oporności, a także dalsza weryfikacja w stosunku do stanu klinicznego pacjenta. Laboratorium mikrobiologiczne dostarcza także danych

o występowaniu epidemiologicznych zagrożeń. Znajomość najczęściej występujących mikroorganizmów na danym oddziale, ich wrażliwość na antybiotyki i chemioterapeutyki jest niezwykle cenną wskazówką leczniczą, gdyż umożliwia zastosowanie z dużym prawdopodobieństwem skutecznego i jednocześnie możliwie taniego antybiotyku już w momencie postawienia diagnozy zakażenia szpitalnego bez konieczności oczekiwania na wyniki badania mikrobiologicznego.

Współczesna diagnostyka mikrobiologiczna

Dotychczas stosowane metody wykrywania i identyfikacji drobnoustrojów opierały się głównie na badaniu cech morfologicznych, serologicznych i biochemicznych. Jednakże- ostatnie osiągnięcia inżynierii genetycznej, biologii molekularnej i biotechnologii szybko zmieniają procedury diagnostyczne stosowane w analizie mikrobiologicznej. Bakterie chorobotwórcze, a także wirusy, grzyby i pasożyty, wcześniej izolowane i identy

Diagnostyka

fikowane pracochłonnymi i długotrwałymi metodami klasycznej mikrobiologii mogą dzisiaj być wykrywane przez zastosowanie testów opartych na analizie kwasów nukleinowych. Jedną z najbardziej eksploatowanych metod w tych próbach, opartych na analizie materiału genetycznego, jest technika PCR, która w ciągu kilku lat stała się jedną z podstawowych technik zarówno badawczych, jak i diagnostycznych. Wydaje się, że w najbliższej przyszłości, metody diagnostyczne oparte na technice PCR staną się rutynowymi procedurami diagnostycznymi. Wprowadzono już bardzo znaczącą liczbę testów opartych na technice PCR do specyficznego wykrywania mikroorganizmów chorobotwórczych. Można powiedzieć, że lata 90-te przejdą do historii jako okres rozpowszechnienia diagnostyki molekularnej. Badania DNA dołączyły w ten sposób do zaakceptowanych technik diagnostycznych. Metody analizy DNA (RNA), w porównaniu z innymi metodami diagnostycznymi, są niewątpliwie badaniami kosztownymi. W miarę jak stają się one badaniami rutynowymi, obserwuje się ciągłą redukcję związanych z nią nakładów. Dla wielu zastosowań diagnostycznych metody analizy materiału genetycznego stają się badaniami z wyboru.

Duże firmy farmaceutyczne o ugruntowanej pozycji na rynku diagnostycznym bardzo szybko zauważyły potencjał tej techniki i zaczęły stopniowo wprowadzać na rynek zestawy diagnostyczne do badań DNA. Pierwszy etap wdrożenia badań DNA do analizy chorób infekcyjnych poświęcony był głównie opracowaniu testów molekularnych dla badań chł- mydli, gruźlicy, AIDS i wirusowego zapalenia wątroby. Szczególny postęp zanotowano w diagnostyce patogenów wolno rosnących lub trudnych do hodowli.

Różnicowanie mikroorganizmów

Typowanie mikroorganizmów ma ogromne znaczenie w mikrobiologii medycznej, a w szczególności w badaniach epidemiologicznych. Określanie unikalnych cech organizmów za pomocą typowania umożliwia badanie kolonizacji i zakażeń szpitalnych, a także pozwala na wyznaczenie powiązań filogenetycznych między mikroorganizmami. Wyniki takich badań mogą być podstawą do wprowadzenia środków zapobiegawczych i działań sanitarnych, mających ograniczyć rozprzestrzenianie się zakażeń szpitalnych i związanej z nimi lekooporności. Klasyczne metody różnicowania drobnoustrojów opierają się głównie na obserwacji cech fenotypowych, czyli na ocenie poziomu ekspresji cech biochemicznych, morfologii kolonii, barwieniu komórek, otoczek, przetrwalników oraz określaniu wrażliwości na antybiotyki i bakteriofagi. Wysoki poziom zmienności fenotypowej wśród populacji bakteryjnej może jednak prowadzić do zafałszowania wyników przeprowadzanych analiz, co w niektórych przypadkach może okazać się katastrofalne w skutkach.

W sytuacji gdy stwierdza się niewystarczalność metod fenotypowych pomocne mogą okazać się techniki typowania mikroorganizmów oparte na analizie materiału genetycznego- metody genotypowe. Materiał genetyczny jest unikalny i stały (niezmienny w porównaniu do cech fenotypowych) dla każdego organizmu. Z tego względu metody genotypowe znajdują coraz szersze zastosowanie w diagnostyce mikrobiologicznej (identyfikacji, wykrywaniu, różnicowaniu).

Metody genotypowe

W organizmach rozmnażających się bezpłciowo, jakimi są bakterie, różnice między genomami szczepów należących do tego samego gatunku wynikają z "przyrodzonych" niejako właściwości materiału genetycznego, jak rekombinacja czy też mutacje zachodzące podczas replikacji. Zmienność genetyczna może być badana za pomocą różnych technik inżynierii genetycznej i biologii molekularnej.

Gruntowne poznanie dotychczas nieznanych mechanizmów molekularnych pozwala na tworzenie nowych, coraz bardziej dokładnych metod analizy materiału genetycznego występującego w naturze.

Techniki inżynierii genetycznej w badaniach epidemiologicznych

W odróżnieniu od metod fenotypowych, metody genotypowe polegają na bezpośredniej analizie materiału genetycznego drobnoustrojów. Generalnie, procedury genotypowania uważa się za bardziej kompleksowe, lecz w zależności od rodzaju metody cechuje je różna powtarzalność i moc dyskryminacyjna. Niewątpliwą zaletą metod genotypowych jest to, iż nie są ograniczone do ściśle określonej liczby organizmów i nadają się do badania wszystkich organizmów, także tych których hodowla laboratoryjna jest niezmiernie trudna lub wręcz niemożliwa.

Kompleksowa identyfikacja i klasyfikacja wielu rodzajów bakterii w chwili obecnej jest możliwa dzięki technikom, których podstawę stanowi hybrydyzacja DNA-DNA. Oparte na hybrydyzacji metody genotypowe pozwalają co prawda na w miarę jednoznaczne przyporządkowanie badanego szczepu do genotypu lecz są to metody, które trudno wykonać w większości laboratoriów diagnostycznych. Naukowcy dążą więc do uproszczenia metod diagnostycznych przy jednoczesnym zwiększaniu ich czułości i wiarygodności. W literaturze opisano wiele metod genotypowania bakterii. Najważniejsze z nich przedstawia Tabela 1.

Tabela 1. Metody genotypowania bakterii.

Metoda genotypowania	Udział w typowaniu szczepów	Powtarzalność wyników	Potencjał różnicujący
Typowanie plazmidowe	większość	wystarczająca	wystarczający
Analiza restrykcyjna chromosomalnego DNA połączona z elektroforezą pulsową	wszystkie	dobra	bardzo dobry
Rybotypowanie	wszystkie	bardzo dobra	dobry
Metody oparte na technice PCR			
- Amplifikacja znanych regionów genomu połączona z analizą restrykcyjną (PCR/RFLP)	wszystkie	bardzo dobra	dobry
- PCR fingerprinting	wszystkie	dobra	bardzo dobry
- AFLP	wszystkie	bardzo dobra	bardzo dobry
- Sekwencjonowanie genów	wszystkie	bardzo dobra	bardzo dobry
Hybrydyzacja DNA-DNA	wszystkie	bardzo dobra	bardzo dobry

Analiza profili plazmidowych

Typowanie plazmidowe jest metodą genotypowania polegającą na izolacji DNA plazmidowego z komórek bakteryjnych i jego rozdziale elektroforetycznym na żelu agarozowym. W zależności od wielkości i ilości plazmidów w komórce bakteryjnej otrzymuje się charakterystyczne wzory plazmidowe. Trawienie DNA plazmidowego przy użyciu komercyjnie dostępnych restryktaz pozwala na dalsze różnicowanie szczepów na podstawie uzyskanej różnorodności plazmidowych wzorów restrykcyjnych.

Analiza plazmidowego DNA jest jedną z technik, które zastosowano przez nasz zespół do różnicowania bakterii rodzaju *Acinetobacter*. Przeprowadzone badania wykazały, że Wzory plazmidowe diagnozowanych szczepów można połączyć w pewne charakterystyczne grupy. Wzory plazmidowe dla poszczególnych gatunków różnią się od siebie dość zasadniczo, co pozwala na przyporządkowanie charakterystycznych wzorów do określonych gatunków *Acinetobacter sp* (1).

Analiza restrykcyjna chromosomalnego DNA połączona z elektroforezą pulsową (RFLP-PFGE)

W doświadczeniach mających na celu typowanie mikroorganizmów bardzo cenne okazje się zastosowanie analizy restrykcyjnej (*ang.* REA - Restriction Enzyme Analysis). Technika ta polega na poddaniu nienaruszonego totalnego DNA genomowego trawieniu enzy

Diagnostyka

matycznym z zastosowaniem restryktaz. Liczba i wielkość otrzymanych fragmentów DNA determinowana jest przez długość sekwencji rozpoznawanej przez określony enzym restrykcyjny oraz charakter trawionego DNA (% zawartości par zasad GC w stosunku do AT). W wyniku trawienia otrzymujemy fragmenty DNA o wielkościach od ok. 0.5 kbp do 1000 kbp. Rozdziału otrzymanych fragmentów restrykcyjnych dokonuje się w agarozowej elektroforezie pulsowej (*ang.* PFGE - Pulsed Field Gel Electrophoresis). Elektroforezę pulsową bardzo często wykorzystuje się w celu porównania wyników otrzymanych tą metodą z wynikami otrzymanymi na podstawie różnych metod różnicowania drobnoustrojów.

Metoda genotypowania bakterii polegająca na analizie restrykcyjnej chromosomalnego DNA połączonej z elektroforezą pulsową okazuje się trudna w wykonaniu, kosztowna, wymaga skomplikowanej aparatury i zachowania stałych warunków analizy. Dodatkową wadą metody jest częste zachodzenie i pokrywanie się fragmentów DNA o zbliżonej wielkości, co powoduje, iż otrzymany obraz elektroforetyczny staje się trudny do interpretacji. Otrzymane wzory restrykcyjne mogą również zostać zafalszowane przez fragmenty pochodzące z plazmidowego DNA, izolującego się łącznie z DNA chromosomalnym. Pomimo wszystkich wymienionych wad niewątpliwą zaletą opisywanej metody jest to, iż wszystkie szczepy są dzięki niej typowalne.

Rybotypowanie

Rybosom prokariotyczny złożony jest z trzech rodzajów rRNA i 52 różnych białek rybosomalnych. W związku z funkcją rybosomów w każdym organizmie, a także ich kompleksową naturą, geny kodujące rRNA, ułożone w operon *rnm*, obecne są we wszystkich organizmach bakteryjnych i są wysoko zakonserwowane ewolucyjnie. Geny te odpowiedzialne są za syntezę 16S, 23S i 5S rRNA. Geny kodujące poszczególne rodzaje rRNA rozdzielone są regionami polimorficznymi, które charakteryzują się wysokim zróżnicowaniem pod względem sekwencji i wielkości. Te cechy genów rDNA czynią z nich dobry molekularny zegar do studiów nad pokrewieństwem filogenetycznym, nawet odległych od siebie organizmów.

Różnicowanie bakterii z zastosowaniem metod rybotypowania można przeprowadzić przy użyciu różnych technik. Klasyczne metody rybotypowania polegają na izolacji totalnego DNA genomowego z komórek bakteryjnych, które następnie poddaje się trawieniu enzymatycznemu, a powstałe produkty rozdziela metodą elektroforezy agarozowej. Kolejnym etapem jest transfer rozdzielonych fragmentów trawionego DNA na membrany nylonowe i selektywna hybrydyzacja z sondami komplementarnymi do operonu *rnm E. coli*.

Polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych (*ang.* RFLP - Restriction Fragment Length Polymorphisms) pozwala na wykazanie różnic genotypowych badanych szczepów bakteryjnych.

Wprowadzenie łańcuchowej reakcji polimerazy przyczyniło się do usprawnienia i rozpowszechniło zastosowanie rybotypowania w diagnostyce mikrobiologicznej. Nowoczesne metody rybotypowania wykorzystujące technikę PCR polegają na amplifikacji wybranych regionów operonu *rnm*. W badaniach stosuje się kilka metod rybotypowania wykorzystujących różne regiony operonu rybosomalnego jako cele molekularne dla reakcji PCR: (1) amplifikacja polimorficznego regionu pomiędzy genami kodującymi 16S i 23S rRNA; (2) amplifikacja zmiennego regionu wewnątrz genu kodującego 16S rRNA; (3) amplifikacja regionu zawierającego geny kodujące 16S i 23S rRNA oraz fragment polimorficzny pomiędzy nimi; (4) amplifikacja regionu kodującego tRNA; (5) analiza sekwencyjna genu kodującego 16S rRNA. Wszystkie wymienione metody genotypowania oparte na technice łańcuchowej reakcji polimerazy łączone są bardzo często z analizą restrykcyjną (*ang.* ARDRA - Amplified Ribosomal DNA Restriction Analysis), co dodatkowo zwiększa możliwości różnicujące metody. Identyfikacja drobnoustrojów dzięki zastosowaniu ARDRA staje się relatywnie prosta i nie wymaga kosztownej aparatury.

Techniki inżynierii genetycznej w badaniach epidemiologicznych

Metodę rybotypowania zastosował także nasz zespół badawczy do różnicowania genotypów należących do rodzaju *Acinetobacter* [2].

Metody genotypowania oparte na technice PCR

Technika PCR jest potężnym narzędziem biologii molekularnej, które może być użyteczne w identyfikacji różnych organizmów na poziomie gatunku i szczepu. Dzięki ukierunkowanej amplifikacji charakterystycznych fragmentów genomu i późniejszym analizom genetycznym otrzymanych produktów w szybki i wydajny sposób uzyskuje się informacje dotyczące systematyki i filogenetyki badanych mikroorganizmów. W naukach medycznych stosowane są dwie podstawowe strategie wykrywania polimorfizmu pomiędzy badanymi drobnoustrojami wykorzystujące technikę PCR - analizę zmienności genowej oraz analizę zmienności genomowej. Obydwie strategie okazują się niezwykle cenne w szczególności w badaniach dotyczących rozpowszechniania się szczepów wieloopornych na stosowane w leczeniu antybiotyki.

Czułość, specyficzność i łatwość wykonania sprawiają, iż technika PCR powoli staje się standardowym narzędziem laboratoriów diagnostyki medycznej.

Amplifikacja znanych regionów genomu połączona z analizą restrykcyjną (PCR/RFLP)

Zastosowanie techniki PCR w epidemiologii zakażeń pozwala zidentyfikować drobnoustroje do gatunku, a następnie różnicować szczepy w jego obrębie. Jako cel molekularny w łańcuchowej reakcji polimerazy stosuje się fragment DNA specyficzny dla danego gatunku lub kilku gatunków spokrewnionych o podobnym znaczeniu klinicznym. Uzyskane produkty amplifikacji można następnie poddać trawieniu enzymami restrykcyjnymi. W wyniku restrykcyjnego cięcia produktów PCR otrzymuje się specyficzny polimorfizm długości fragmentów restrykcyjnych dla danego DNA (RFLP). Połączenie obu technik (PCR i RFLP) pozwala na różnicowanie blisko spokrewnionych organizmów lub szczepów. Wybór odpowiedniej restryktazy jest podyktowany przez charakter produktu amplifikacji. W przypadku gdy sekwencja nukleotydowa nie jest znana, częstotliwość cięcia enzymatycznego dla danego DNA jest trudna do przewidzenia. Produkty PCR zwykle mają długość do około 2 kbp, stąd wybór restryktaz z 4-nukleotydową sekwencją rozpoznania jest najbardziej uzasadniony. Jednakże o diagnostycznej przydatności danego enzymu restrykcyjnego decydują ostatecznie wyniki otrzymane na podstawie przeprowadzonych eksperymentów.

Nasz zespół badawczy zastosował omawianą technikę do różnicowania znanych genotypów rodzaju *Acinetobacter* [3-5]. Jako cel molekularny dla reakcji PCR wybrano fragment genu kodującego białko RecA - wielofunkcyjnego enzymu szeroko rozpowszechnionego u *Prokaryota*. Otrzymane produkty amplifikacji poddano następnie analizie restrykcyjnej (system recA-PCR/RFLP). Najlepsze wyniki różnicowania genotypów *Acinetobacter* otrzymano stosując enzymy *Hinf*I i *Mbo*I. W wyniku jednoczesnego trawienia produktów PCR obiema restryktazami otrzymano 17 *recA*-DNA grup, co pozwoliło na zróżnicowanie wszystkich ówczesnie znanych genotypów. Kolejnym krokiem w genotypowaniu rodzaju *Acinetobacter* było zastosowanie złożonej reakcji PCR (*ang.* Multiplex-PCR). Ta odmiana techniki PCR polega na równoczesnej amplifikacji różnych sekwencji docelowych z zastosowaniem kombinacji odpowiednich starterów. Dla rodzaju *Acinetobacter* jako cele molekularne w reakcji PCR wybrano fragment genu *reck* oraz gen 16S rDNA. Analiza restrykcyjna otrzymanych produktów z zastosowaniem enzymów *Hinf*I i *Mbo*I pozwoliła na całkowite zróżnicowanie genotypów należących do rodzaju [4].

PCR fingerprinting

Istnieje wiele różnorodnych metod PCR fingerprinting, ale zasadniczo ich wspólnym celem jest powielenie polimorficznego regionu DNA w reakcji PCR z zastosowaniem odpowiednio zaprojektowanych starterów. Jedną z metod PCR fingerprinting wykorzystuje się

Diagnostyka

nienie repetytywnych sekwencji w genomach mikroorganizmów (bakterii, grzybów i pasożytów). Sekwencje te charakteryzują się określoną długością i są szeroko rozpowszechnione w genomie. U bakterii zostały one najwcześniej wykryte i dobrze scharakteryzowane dla *Escherichia coli* i *Salmonella typhimurium*. Przykładem tego typu sekwencji są REP (*ang.* Repetitive Chromosomal Elements) o długości 38 pz i ERIC (*ang.* Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus) o długości 124-127 pz, występujące u bakterii Gram ujemnych. Startery o sekwencjach homologicznych do powtórzonych rejonów genomu pozwalają na otrzymanie w reakcji PCR dużej ilości produktów o różnej długości, co pozwala na obserwację zmian w genomach analizowanych drobnoustrojów.

W typowaniu dużej liczby drobnoustrojów zastosowanie znalazły takie odmiany techniki PCR fingerprinting jak RAPD (*ang.* Random Amplified Polymorphic DNA), AP-PCR (*ang.* Arbitrary Primed PCR) oraz DAF (*ang.* DNA Amplification Fingerprinting). Wymienione metody różnią się od siebie tylko długością stosowanych starterów, która dla RAPD wynosi 9-10 nt, dla AP-PCR 18-32 nt, a dla DAF 5-15 nt. Krótkie startery o dowolnie dobranej sekwencji przylączają się w sposób mało specyficzny w różnych miejscach chromosomalnego DNA. Najbardziej efektywnie związane z matrycą pary starterów konkurują ze sobą w procesie amplifikacji, dzięki czemu otrzymuje się tzw. odcisk palca (*ang.* fingerprint), złożony z różnej ilości produktów PCR (od kilku do ponad 100). Elektroforetyczny rozdział produktów pozwala na uwidocznienie różnic pomiędzy badanymi szczepami drobnoustrojów.

Metody PCR fingerprinting okazują się być uniwersalne w wykrywaniu polimorfizmu DNA i z tego względu znajdują zastosowanie w mapowaniu genetycznym, filogenetyce, biologii populacyjnej oraz epidemiologii molekularnej.

Techniki PCR fingerprinting są coraz częściej praktykowane w laboratoriach zajmujących się typowaniem epidemiologicznym szerokiej skali drobnoustrojów. Chociaż metody PCR fingerprinting charakteryzuje szybkość i prostota wykonania to jednak ich powtarzalność zależy od wielu podatnych na subtelne zmiany czynników: stężenia starterów, stężenia i jakości matrycowego DNA, warunków elektroforezy oraz rodzaju używanej polimerazy termostabilnej.

AFLP

Jedną z najbardziej obiecujących technik genotypowania opartą na reakcji PCR jest AFLP (*ang.* Amplified Fragment Length Polymorphism). AFLP jest nową techniką DNA fingerprinting, która może być stosowana do badań różnego typu DNA niezależnie od jego pochodzenia i stopnia skomplikowania. AFLP łączy w sobie dwie metody: RFLP oraz selektywną amplifikację PCR. Strategia metody złożona jest z czterech podstawowych etapów:

(1) trawienia totalnego DNA komórkowego z zastosowaniem dwóch racjonalnie dobranych enzymów restrykcyjnych; (2) reakcji ligacji otrzymanych fragmentów z odpowiednio zaprojektowanymi adaptorami; (3) selektywnej amplifikacji produktów ligacji z zastosowaniem dwóch starterów homologicznych do sekwencji adaptor-miejsce restrykcyjne; (4) elektroforezy produktów amplifikacji i autoradiografii otrzymanych rozdziałów elektroforetycznych.

AFLP jest znakomitym narzędziem taksonomicznym. W odróżnieniu od metody rybotypowania i analizy RFLP produktów PCR, AFLP opiera się na analizie całego genomu bakteryjnego. Jest to korzystne ze względu na fakt, iż interpretacja i użyteczność danych opartych na analizie występujących w genomie pojedynczo genów lub operonów w wielu przypadkach są niewystarczające i dyskusyjne. Niewątpliwymi zaletami metody są także powtarzalność i wysoki stopień dyskryminacji badanych organizmów. Wyniki otrzymane dzięki AFLP są zgodne z istniejącymi danymi taksonomicznymi i pozwalają na różnicowanie blisko spokrewnionych szczepów bakteryjnych. AFLP okazała się niezmiernie przydatnym narzędziem taksonomicznym ze względu na możliwość komputerowej analizy otrzymanych wyników oraz stworzenia na ich podstawie komputerowej bazy danych. Można

liwe, iż pozwoli to w przyszłości na wyeliminowanie potrzeby eksperymentów hybrydyzacyjnych, a co za tym idzie na bardziej wiarygodną i prostszą analizę wyników badań taksonomicznych.

Selcencjonowanie genów

Określenie sekwencji nukleotydowej genów wielokrotnie powtórzonych w genomie bakteryjnym dla różnych szczepów jest niezawodną i łatwą w interpretacji metodą, ale wymaga odpowiedniego warsztatu laboratoryjnego. Przypuszcza się, że znaczenie analizy sekwencyjnej jako metody typowania będzie wzrastać ze względu na szybki rozwój metod selcencjonowania i stanie się ona techniką stosowaną rutynowo w laboratoriach zajmujących się badaniami dotyczącymi genotypowania i znaczenia epidemiologicznego drobnoustrojów.

Najnowsza metoda sekwencyjna - MLST (*ang.* Multilocus Sequence Typing), polega na selcencjonowaniu fragmentów sześciu genów niezbędnych do utrzymania metabolizmu komórkowego (*ang.* housekeeping genes). Dużą zaletą tej metody jest możliwość stworzenia bazy danych sekwencyjnych, która pozwoli laboratoriom na całym świecie weryfikować otrzymane wyniki. W chwili obecnej jest jeszcze za mało danych pozwalających na wnioskowanie o przydatności tej metody genotypowania w niedalekiej przyszłości.

Hybrydyzacja DNA-DNA

Podstawową metodą określania przynależności badanego drobnoustroju do genotypu, opartą na ilościowych podobieństwach w chromosomalnym DNA, jest technika hybrydyzacji DNA-DNA. Gdy zdenaturowane DNA pochodzące z dwóch organizmów podda się wspólnej inkubacji w odpowiednich warunkach obserwuje się tworzenie dupleksu hybrydowego. Dla takiego dupleksu możliwe jest określenie podobieństwa sekwencji nukleotydowej na podstawie jego stopnia reasocjacji lub stabilności termicznej. Hybrydyzacja DNA-DNA jest standardem rekomendowanym do badań filogenetycznych. Jako genotyp w badaniach hybrydyzacyjnych definiuje się grupę szczepów bakteryjnych, dla których poziom reasocjacji dupleksu DNA-DNA wynosi przynajmniej 70% lub różnica stabilności termicznej jest mniejsza niż 5°C. Technika hybrydyzacji DNA-DNA jest metodą bardzo czułą i dlatego może być stosowana w badaniach dotyczących różnicowania szczepów bakteryjnych na poziomie genomogametu. Chociaż jest to metoda rekomendowana w identyfikacji genotypów, jest ona stosowana głównie przez placówki naukowe i nie znalazła jak dotąd powszechnego zastosowania w laboratoriach diagnostycznych, ze względu na ogromne trudności techniczne.

Uwagi końcowe

Ostatnio pojawił się nowy, bardzo poważny problem bakteremii i zakażeń szpitalnych wywoływanych przez drobnoustroje odporne na wszystkie dostępne antybiotyki. W Polsce do tej pory izolowano wielooporne szczepy *Pseudomonas aeruginosa* i *Enterococcus faecium* (VRE) [6]. Są to na razie jeszcze sporadyczne wypadki, ale istnieje istotne niebezpieczeństwo rozprzestrzenienia się tych zakażeń, jeśli nie wdroży się nowoczesnych metod kontroli zakażeń szpitalnych. Pogłębia się także problem zakażeń szpitalnych wywołanych szczepami *Staphylococcus aureus* MRSA. Stąd zadaniami na najbliższą przyszłość dla bakteriologii klinicznej wydają się być: (1) wprowadzanie nowych technik mikrobiologicznych i nowych podłoży wybiórczych dla szybkiej identyfikacji bakterii endemicznych (wywołujących zakażenia szpitalne), a także szybkich testów różnicujących z ustaleniem wzorca oporności; (2) stworzenie ośrodków referencyjnych zajmujących się drobnoustrojami mającymi zasadnicze znaczenie w zakażeniach szpitalnych (ustalanie genotypów szczepów endemicznych); (3) wprowadzanie nowych technik mikrobiologicznych służących do bezpośredniego wykrywania drobnoustrojów z materiałów diagnostycznych w rutynowej Praktyce (np., PCR); (4) badania technikami inżynierii genetycznej izolatów w celu identyfikacji szczepów endemicznych występujących w szpitalu (regionie).

Diagnostyka

Piśmiennictwo

1. Nowak, A., Gospodarek, E., Kur, J. 1993. Próba wykorzystania analizy plazmidowego DNA do identyfikacji gatunków rodzaju *Acinetobacter*. *Med. Dośw. Mikrobiol.* 45: 469-476.
2. Nowak A., Burkiewicz A., Kur J. 1995. PCR differentiation of seventeen genospecies of *Acinetobacter*. *FEMS Microbiol. Lett.* 126: 181-188.
3. Nowak A., Kur J. 1995. Genomic species typing of acinetobacters by polymerase chain reaction amplification of the *recA* gene. *FEMS Microbiol. Lett.* 130: 327-332.
4. Nowak A., Kur J. 1996. Differentiation of seventeen species of *Acinetobacter* by multiplex polymerase chain reaction and restriction fragment length polymorphism analysis. *Mol. Cell. Probes* 10: 405-411.
5. Nowak A., Kur J. 1997. Systemy genotypowania pałeczek rodzaju *Acinetobacter* z zastosowaniem metody łańcuchowej reakcji polimerazy. *Klin. Chorób Zakaż., i Zakaż. SzpitA*, 2: 91-100.
6. Samet, A., Bronk, M., Hellmann, A., Kur, J. 1999. Isolation and epidemiological study of vancomycin -resistant *Enterococcus faecium* from patients of a Haematological Unit in Poland. *J. Hosp. Infec.* 41: 137-143.

Perspektywy rozwoju diagnostyki, epidemiologii i terapii gruźlicy w świetle znajomości pełnej sekwencji nukleotydowej *Mycobacterium tuberculosis* H37Rv

Adam Jaworski

Centrum Mikrobiologii i Wirusologii PAN w Łodzi Zakład Genetyki Drobnoustrojów
Uniwersytetu Łódzkiego

Zsekwencjonowanie w 1998 roku genomu *M. tuberculosis* H37Rv, poznanie i analiza zawartej w nim informacji genetycznej, ogromnie przyspieszyło i ukierunkowało badania poznawcze oraz aplikacyjne prątków i ich biologicznych właściwości.

Znajomość sekwencji nukleotydowej całego genomu *M. tuberculosis*, o wielkości 4411 529pz, dostępność tych informacji w postaci komputerowych baz danych, pozwalają dzisiaj analizować na poziomie genów i ich produktów nowe wyniki i dane, uzyskiwane w różnych laboratoriach świata.

Intensywne, wielokierunkowe badania biologii prątków stwarzają obecnie realną szansę dla unowocześnienia diagnostyki, epidemiologii gruźlicy w oparciu o nowe techniki i metody biologii molekularnej i genetyki.

Rozszyfrowanie informacji genetycznej 3924 *M. tuberculosis*, w tym wielu nowych gatunkowo lub rodzajowo specyficznych białek kodowanych przez te geny, ukierunkowuje badania naukowe na poszukiwaniu tych czynników i mechanizmów prątków gruźlicy, które mogą być tarczą dla skutecznego działania nowych leków w terapii gruźlicy.

W niniejszym wykładzie uwaga zostanie skoncentrowana szczególnie na tych elementach genetycznych prątków gruźlicy oraz na tych genach i ich produktach białkowych, które stwarzają największe nadzieje w osiągnięciu zamierzonych celów, tj. lepszego zrozumienia biologii tych groźnych, wewnątrzkomórkowych patogenów człowieka i zwierząt.

Analiza sekwencji nukleotydowej genomu prątków w pełni potwierdziła wcześniejsze dane, iż genom *M. tuberculosis* jest niezwykle bogaty w pary G + C (65,6%), rozmieszczone w chromosomie w sposób regularny, na całej jego długości. Chromosom prątków nie

Perspektywy rozwoju diagnostyki, epidemiologii i terapii gruźlicy

zawiera sekwencji atypowych (obcych), w tym wysp patogenności, które mogłyby być wynikiem horyzontalnej transmisji informacji genetycznej.

Genom *M. tuberculosis* jest także bogaty w liczne i różnorodne sekwencje insercyjne i repetytywne, których liczba i lokalizacja jest charakterystyczna dla określonych gatunków i szczepów. Dla przykładu, w analizowanym genomie szczepu *M. tuberculosis* H37R_v znajduje się 16 kopii IS6110, 6 kopii IS 1081 oraz 32 inne sekwencje insercyjne, należące głównie do rodziny IS3 i IS256. Opisywane sekwencje są zlokalizowane pomiędzy genami, w regionach niekodujących, a ponadto są bardzo stabilne, z wyjątkiem sekwencji IS1523. Stabilność lokalizacji w genomie prątków omawianych sekwencji dowodzi, iż ich horyzontalny transfer oraz transpozycja w różne regiony chromosomu nastąpiła u przodka *M. tuberculosis*, to jest przed adaptacją tych bakterii do nowej niszy ekologicznej, typowej dla wewnątrzkomórkowego patogenu.

Omawiane cechy sekwencji insercyjnych, a zwłaszcza ich zróżnicowana liczba w poszczególnych gatunkach i szczepach *M. tuberculosis* oraz stabilność ich lokalizacji, stały się podstawą dla opracowania metod i technik molekularnej epidemiologii („fingerprinting”), powszechnie dzisiaj stosowanych w dochodzeniach epidemiologicznych źródeł i dróg zakażeń (IS6110).

W genomie *M. tuberculosis* H37R_v wykryto 50 genów kodujących syntezę różnych rodzajów RNA, w tym 3 RNA kodowane przez dotychczas nieznaną dla innych bakterii operon 10S RNA (RNA wchodzący w skład RNA-zy P), a także 45 rodzajów transferowego RNA. Ten nowy, niezwykle operon zlokalizowany 1500pz od miejsca inicjacji replikacji (oriC) jest obecnie obiektem intensywnych badań, bowiem sądzi się, iż jego funkcja może być związana z powolnym wzrostem prątków gruźlicy. Poznanie funkcji biologicznej tego, gatunkowo-specyficznego operonu w regulacji wzrostu i podziałów komórkowych prątków gruźlicy, może w przyszłości doprowadzić w przyszłości do zidentyfikowania ściśle określonego czynnika lub mechanizmu jako tarczy dla leków hamujących wzrost prątków *in vivo*.

Analiza 3924 otwartych ramek odczytu *M. tuberculosis* H37R_v oraz kierunku ich transkrypcji, w stosunku do kierunku replikacji DNA, ujawniła niezwykle i unikalne dla tych bakterii właściwości. U bakterii kierunek replikacji chromosomalnego DNA jest zgodny z kierunkiem transkrypcji zawartych w nim genów. Nie ma wątpliwości, że te dwa podstawowe mechanizmy molekularne warunkujące powielenie informacji genetycznej i ekspresję genów, przebiegające w tym samym kierunku (bez kolizji) pozwalają na szybkie podziały komórkowe i wzrost bakterii.

Okazało się, że transkrypcja i replikacja aż 59% genów *M. tuberculosis* przebiega w kierunku odwrotnym, a stąd kolizja ogromnych kompleksów polimerazy RNA oraz polimerazy DNA może być czynnikiem ograniczającym szybkość podziałów komórkowych i wzrostu wolnorosnących *Mycobacterium*.

Podstawową cechą wszystkich organizmów żywych, w tym również bakterii, jest zdolność do powielania materiału genetycznego, a następnie do podziału komórki. W przypadku *Prokaryota* replikacja DNA bezpośrednio poprzedza proces właściwego podziału komórki, a oba te procesy przebiegają w tej samej przestrzeni i w tym samym czasie.

Czas niezbędny do podwojenia liczby komórek bakteryjnych jest zróżnicowany dla różnych gatunków bakterii i może wynosić od 40 minut w przypadku *E. coli* do kilkudziesięciu godzin w *M. leprae*. Bardzo długim czasem, niezbędnym do podziału komórki, charakteryzują się również inne prątki kwasooporne: 2-3 godz. u prątków szybko-rośnących (*M. smegmatis*), 10-16 godz. w grupie *M. avium* complex i 22-24 godz. u *M. tuberculosis* complex.

Tak długi czas potrzebny do podwojenia liczby bakterii, ponadto różny dla prątków saprofitycznych i groźnych patogenów człowieka i zwierząt, skierował badania naukowe na poznanie mechanizmów i czynników odpowiedzialnych za replikację chromosomalnego DNA oraz regulację podziałów komórkowych.

W ciągu ostatnich lat opisano geny i ich produkty związane z procesem replikacji u *tuberculosis*, *M. leprae*, *M. smegmatis* i *M. avium*. Udało się zidentyfikować obszar DNA

Diagnostyka

odpowiedzialny za inicjację procesu replikacji chromosomalnego DNA (oriC) w komórkach tych gatunków mykobakterii. Opisano i oczyszczono białko DnaA odpowiedzialne za inicjację procesu replikacji, opisano także specyficzną budowę białka DnaB, które zawiera in-teinę ulegającą samowycięciu podczas „dojrzwiania” białka w komórkach prątków.

Za niezwykłą właściwość prątków *M. tuberculosis* i *M. leprae*, nieznaną u innych bakterii, należy uznać obecność intein (białkowych intronów), a w tym w białku RecA, które odznacza się filogenetyczną konserwatywnością w komórkach wszystkich organizmów żywych, co jest związane z pełnieniem przez to białko podstawowych funkcji w różnych procesach rekombinacji i naprawy DNA.

Badania wyżej wspomnianych, podstawowych, molekularnych procesów i mechanizmów komórki prątków, jakimi są replikacja, transkrypcja, naprawa DNA przyniosą z pewnością w najbliższych latach dane, które pozwolą zaproponować ściśle określone, gatunkowo-specyficzne, molekularne tarcze dla leków hamujących replikację DNA prątków i ich podziały komórkowe.

Rozpoczęto także prace zmierzające do wyjaśnienia mechanizmu podziału komórki na etapie posttranskrypcyjnym. Sklonowano operon *ftsZ* *M. tuberculosis* i oczyszczono jego produkt, wykazując jego zdolność do prowadzenia reakcji poli- i depolimeryzacji. Na podstawie sekwencji nukleotydowej zidentyfikowano w genomie *M. tuberculosis* również inne (choć jeszcze nie wszystkie znane u innych bakterii) geny, które uczestniczą prawdopodobnie w procesie formowania przegrody komórkowej. Podstawowym celem tego projektu, realizowanego w ośrodkach amerykańskich, jest nie tylko poznanie organizacji tego operonu, ale także zrozumienie mechanizmów regulacji syntezy przegrody komórkowej w czasie podziału prątków. Zablockowanie funkcji określonego genu tego operonu lub funkcji biologicznej jego produktu jest jeszcze innym przykładem w poszukiwaniu nowych sposobów i nowych leków dla terapii gruźlicy.

Analiza 3924 ramek odczytu *M. tuberculosis* H37Rv na poziomie kodonów i ich odpowiednich aminokwasów dowiodła, że 40 % syntetyzowanych białek jest dobrze znanych dla innych gatunków bakterii, zaś 44 % innych białek odznacza się znaczącą homologią z innymi białkami bakterii. Jednakże aż 16 % syntetyzowanych przez prątki białek komórkowych należy zaliczyć do specyficznych dla tego gatunku bakterii. Wśród tych ostatnich białek wyróżnia się dwie grupy białek, które wyróżniają się dużą zawartością reszt Asn i Gly.

Zwraca uwagę także bardzo duża liczba genów kodujących oksygenazy i dehydrogenazy, a także oksydoreduktaz zawierających cyt. P450. Te ostatnie enzymy prątków są podobne do oksydoreduktaz grzybów, zaangażowanych w degradację steroli, co wskazuje że prątki gruźlicy in vivo mogą wykorzystywać i metabolizować związki sterolowe obecne w komórkach gospodarza.

Odkryto w genomie prątków dwa geny kodujące syntezę „hemoglobine-like proteins”, których funkcja jest, jak się sądzi, związana z ochroną prątków przed oksydacyjnym stresem w komórkach makrofagów oraz z pobieraniem tlenu wówczas, gdy prątki bytują w innych niż płuca organach, miejscach i komórkach gospodarza.

Jeszcze innym, obiecującym kierunkiem intensywnych badań są geny odpowiedzialne za syntezę peptydów sygnałowych oraz geny kodujące produkcję lipoprotein (T-cell antigen) oraz polimorficznych białek PE i PPE. Zadziwiającym i na pewno ważnym, w aspekcie lepszego zrozumienia biologii prątków, jest fakt, że aż 10% informacji genetycznej prątków gruźlicy jest wykorzystywana do syntezy dwóch klas białek PE i PPE. Geny odpowiedzialne za syntezę tych białek zawierają liczne kopie sekwencji powtórzonych (PGRSs i MPTRs), a zjawisko „slippage” jest prawdopodobnie przyczyną zmiany ich wielkości i polimorfizmu. Sądzi się, że białka te i ich polimorfizm są przyczyną zmienności antygenowej prątków, a postulowana ich rola biologiczna polegałaby na hamowaniu procesu prezentacji antygenów. Sądzi się także, że bliższe poznanie wymienionych białek *M. tuberculosis* i mechanizmu ich syntezy może przyczynić się do zrozumienia zmienności antygenowej prątków, oraz do konstrukcji lepszej, bogatej antygenowo szczepionki BCG.

Perspektywy rozwoju diagnostyki, epidemiologii i terapii gruźlicy

Obecnie wiadomo, że istnieje wiele podobieństw między białkami PE i PPE a białkiem „Epstein virus nuclear antigen” (znanym inhibitorem szlaku procesowania antygenów), który podobnie jak białka PE i PPE zawiera liczne powtórzenia PGRSs oraz obfitą liczbę reszt glicyny.

Analiza genów *M. tuberculosis* zaangażowanych w niezwykle bogaty i złożony metabolizm lipidów pozwoliła zidentyfikować aż 250 różnych białek i enzymów. Należy stwierdzić, że prątki mogą metabolizować, syntetyzować praktycznie wszystkie związki lipidowe, które są znane w świecie bakterii, roślin i zwierząt.

Miarą tych możliwości metabolicznych, głównie lipolitycznych, jest chociażby obecność aż 36 różnych genów odpowiedzialnych za syntezę odmiennych syntetaz acyl-CoA oraz 36 spokrewnionych syntetaz katalizujących pierwszy etap degradacji łańcuchów kwasów tłuszczowych.

Liczne wykryte geny i enzymy są odpowiedzialne za syntezę kwasów mikolinowych, unikalnych składników ściany komórkowej prątków.

Trwają intensywne prace poznawcze dotyczące regulacji genetycznej syntezy kwasów mikolinowych i innych składników ściany komórkowej prątków w poszukiwaniu takich kluczowych etapów i reakcji, które mogłyby być tarczą dla nowych leków w skutecznej i ukierunkowanej terapii gruźlicy i innych mykobakterioz.

Niestety, wciąż mało wiemy o genetycznych uwarunkowaniach patogenności prątków, pomimo odczytania pełnej sekwencji nukleotydowej genomu i zawartej w niej informacji genetycznej.

Wcześniejsze dane oraz zidentyfikowane w genomie *M. tuberculosis* geny i ich produkty pozwalają zaliczyć do czynników patogenności prątków:

- system katalazy i peroksydazy, zabezpieczający prątki bytujące w makrofagach przed działaniem rodników tlenowych
- geny mce i ich produkty, jako czynniki kolonizacji makrofagów. Geny te kodują syntezę białek makrofagowych i peptydów sygnałowych. Syntetyzowane białka, prawdopodobnie wydzielane na powierzchni komórki są odpowiedzialne za inwazję komórek gospodarza.
- Gen i białko fosfolipazy prątków, określane w literaturze jako „contact-dependent hemolysin”, uznawany jest obecnie jako jeden z istotnych czynników patogenności.
- Podkreśla się także i opisuje istotną rolę polimerów ściany komórkowej w patogenezie. Można mieć nadzieję, że lepsze zrozumienie czynników i mechanizmów, odpowiedzialnych za długotrwałe przeżywanie i bytowanie prątków jako wewnątrzkomórkowych patogenów oraz ich aktywacji, będzie warunkiem dla wyjaśnienia złożoności interakcji pomiędzy wewnątrzkomórkowym patogenem i komórką gospodarza.

Szczepienia i szczepionki są nadal podstawowym, realnym narzędziem zapobiegania nowym zakażeniom prątkami gruźlicy.

Na świecie realizuje się wiele projektów, pomysłów, których celem jest konstrukcja nowych, lepszych i bardziej skutecznych szczepionek:

- ~ szczepionki w postaci gołego DNA, w tym fragmentów DNA kodujących ważne geny patogenności i wirulencji prątków gruźlicy,
- ~ wzbogacenie szczepionki BCG (na drodze inżynierii genetycznej silnymi poznanymi antygenami *M. tuberculosis*), które byłyby wydzielane na zewnątrz komórki,
- ~ otrzymanie nowych, lepszych niż BCG, atenuowanych szczepów *M. tuberculosis* w oparciu o dotychczasową wiedzę na temat genomu prątków i jego informacji genetycznej. Przedstawione w wykładzie dane i przykłady współczesnych osiągnięć w biologii molekularnej i genetyce prątków gruźlicy wskazują, że poznanie pełnej sekwencji nukleotydowej genu, a nawet całego genomu określonego gatunku jest dopiero początkiem na trudnej drodze do zrozumienia funkcji genu i jego znaczenia dla funkcjonowania komórki. Ogromny rozwój oraz osiągnięcia genomiki (odwrotnej genetyki) przyspieszyły i ukierunkowały badania, ale wciąż są nie wystarczające dla zrozumienia złożoności molekularnych Procesów i mechanizmów w żywej komórce i organizmie.

Polimorfizm genów pertraktyny i toksyny krztuścowej

Bordetella pertussis

Anna Gzyl, Ewa Augustynowicz, Janusz Ślusarczyk

Zakład Badania Surowic i Szczepionek, Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

Polska należy do krajów, które wcześniej wprowadziły do kalendarza szczepień obowiązkowe szczepienie przeciw krztuścowi. Szczepienie przeprowadza się u dzieci w wieku 2, 3-4, 5 i 16-18 miesięcy produkowaną przez Wytwórnę Surowic i Szczepionek BIOMED w Krakowie pełnokomórkową szczepionką krztuścową skojarzoną z czynnikiem błoniczym i tężcowym (DTP). Do produkcji szczepionki od 1970 roku stosowane są wyselekcjonowane trzy szczepy *B. pertussis*: 629, 606 i 186.

Pokrycie szczepienne trzema pierwotnymi dawkami DTP od roku 1984 osiąga poziom bliski 98% u dzieci w wieku jednego roku życia. Po wprowadzeniu szczepień przeciw krztuścowi w 1960 roku nastąpił gwałtowny spadek liczby zachorowań oraz śmiertelności. W latach 1982-1992 osiągnięto prawie 100% spadek średniej liczby notowań zachorowalności/1 000 000 mieszkańców w stosunku do okresu 1950-1960. Jednak w latach 1997 i 1998 nastąpił wzrost zgłoszeń zachorowań na krztusiec, a odnotowana zachorowalność (5,41/100000 i 7,43/100000) osiągnęła poziom notowany w latach 70-tych. Program szczepień dzieci przedszkolnych spowodował spadek liczby chorych w wieku pomiędzy 6 miesięcy - 5 lat i wzrost zachorowalności wśród bardzo małych niemowląt, dorosłych oraz osób starszych. Ryzyko zachorowania na krztusiec pozostaje na bardzo wysokim poziomie u niemowląt, z których większość jest za mała, aby otrzymać dawkę pierwotną DTP. Nie odnotowano wzrostu zachorowalności wśród dzieci w wieku 1-4 lat i sugeruje się, że aktualny wzrost zachorowań nie jest związany z obniżeniem się pokrycia szczepiennego, czy znacznym obniżeniem się skuteczności szczepionki DTP. Od 1990 roku utrzymuje się tendencja wzrostu zachorowań na krztusiec u osób zaszczepionych i wydaje się, że wzrost ten i jego zmienność ma raczej charakter bieżący (szczególnie widoczny dla okresu 1997/98).

Przyczyny wzrostu zachorowań na krztusiec mogą wynikać ze zmian w systemie nadzoru szczepiennego lub zmian w diagnostyce, obniżeniu się pokrycia szczepiennego, spadku jakości szczepionki (np. w wyniku zmian w procesie produkcyjnym), spadku wzbudzonej odporności poszczepiennej lub pojawienia się szczepów zmienionych, zawierających antygeny niedostępne dla przeciwciał neutralizujących (escape mutants).

Pojawianie się niepożądanych odczynów poszczepiennych po zastosowaniu pełnokomórkowych szczepionek przeciw krztuścowi, możliwość nieidentycznego składu szczepionki oraz wzrost zachorowań spowodował podjęcie na świecie dyskusji nad szerszym wprowadzaniem szczepionki bezkomórkowej. Podstawową różnicą pomiędzy dwoma typami szczepionek jest typ wzbudzonej odpowiedzi immunologicznej. W szczepionkach bezkomórkowych pobudzana odpowiedź jest bardziej swoista. W przypadku szczepionek pełnokomórkowych powstaje odpowiedź głównie typu Th1, a odpowiedź przeciwciał dotyczy głównie klasy IgG2a. Szczepionki bezkomórkowe wiążą się z odpowiedzią Th2 oraz odpowiedzią przeciwciał klasy IgG1.

Celem podjętej pracy była próba wykazania, że wzrost zachorowań na krztusiec w Polsce może dotyczyć zmian w populacji izolowanych szczepów. W tym celu scharakteryzowano szczepy *B. pertussis* izolowane na przełomie lat od momentu wprowadzenia szczepień oraz obecnie stosowane do produkcji polskiej szczepionki na poziomie genów kodujących podjednostkę PtxS1 toksyny krztuścowej oraz pertraktyny. Ponadto otrzymane wyniki porównano z dotychczas dostępnymi danymi sekwencjonowania obu tych genów w populacji szczepów *B. pertussis* izolowanymi w Holandii (nasilon wzrost zachorowań na krztusiec) oraz w Finlandii (brak nasilenia).

Wybrane do analizy czynniki zjadliwości *B. pertussis* są antygenami o udowodnionej roli we wzbudzaniu swoistej ochronnej odpowiedzi immunologicznej u ludzi oraz zwie

rząt i z tych względów są oprócz innych antygenów włączane do składu szczepionek bezkomórkowych. Z tych względów badania nad stopniem zmienności obu białek na poziomie genu mogą pozwolić na ocenę trendów w częstości pojawiających się wariantów w czasie, a także na wykrycie nowych wariantów, które mogły powstać jako wynik stosowanych długofalowo szczepień. Ponadto badania te mogą pozwolić na prześledzenie częstości pojawiających się wariantów w stosunku do wprowadzanych na rynek szczepionek bezkomórkowych oraz zastanowić się nad zmianą składu szczepów polskiej szczepionki pełnokomórkowej w celu lepszego dostosowania jej składu do obecnej sytuacji.

Badania sekwencjonowania produktów PCR genu *ptxS1* oraz *prn* przeprowadzone dla 30 szczepów klinicznych izolowanych w latach 1960–1999 oraz 3 szczepionkowych wykazały, że szczepionkowy wariant podjednostki toksyny krztuścowej *ptxS1B* na przełomie dekad został zastąpiony allelem *ptxS1A*, który występuje obecnie u 100 % szczepów izolowanych w okresie 1995–1999. Podobną sytuację odnotowały Holandia i Finlandia, których szczepionki pełnokomórkowe zawierają allel *ptxS1B* i *ptxS1D*. Szczepy o takich sekwencjach genu kodującego toksynę krztuścową dominowały w Holandii w latach 1953–1964, a w Finlandii w latach 1949–1954. Następnie allel *ptxS1D* zaniknął, a częstość allelu *ptxS1B* obniżyła się do 12% w Holandii i 0% w Finlandii, przy czym zaczęły dominować inne warianty genu niż obecne w szczepach szczepionkowych.

Inaczej przedstawiał się trend dotyczący pertraktyny. Podstawienia aminokwasowe wykryto na całej długości cząsteczki przy czym ich największa częstość została odnotowana w regionie 1 genu *prn* (GGxxP), który znajduje się blisko motywu RGD. Sekwencja RGD jest położona w pętli cząsteczki, a przeciwciała skierowane w stosunku do tej części mogą skutecznie blokować funkcję P.69, co zatem idzie zmienność tego regionu może dawać więcej korzyści bakterii niż zmienność pojawiająca się w regionie 2 *prn* (PQP). Region 1 genu *prn* wykazywał polimorficzność dotyczącą insercji lub delecji sekwencji powtarzających się oraz ich liczby. Dwa warianty *prn1* i *prn2* zostały określone dla szczepów krztuścowych izolowanych w polskiej populacji. Wariant *prn1* charakterystyczny dla szczepów szczepionkowych był dominujący (występował także aż u 75% szczepów z okresu 1995–1999) i jedynie dwa szczepy izolowane w 1999 roku posiadały nowy wariant *prn2*. Można przypuszczać, że nowy allel *prn2*, który niedawno co pojawił się w populacji polskich szczepów będzie prawdopodobnie w przyszłości wypierał wariant szczepionkowy tego genu – *prn1*. Taka sytuację zaobserwowano w Holandii, gdzie allel szczepionkowy *prn1* był izolowany do 1980 roku, po czym dwa inne allele *prn2* i *prn3* wyparły go prawie całkowicie (w 90%) i stały się dominujące na jednakowym poziomie. Podobnie przed 1964 rokiem w Finlandii szczepy nosiły szczepionkowy allel *prn1*, a po 1982 roku wyparł go allel *prn2*; przy czym dodatkowo pojawiły się allele *prn3* i *prn4*.

Częstość i rozkład wariantów obu genów może zatem bezpośrednio rzutować na skuteczność szczepionek krztuścowych pełnokomórkowych oraz bezkomórkowych, zawierających w swoim składzie toksynę krztuścową oraz pertraktynę, np. szczepionki produkcji firm: SmithKline Beecham Biologicals (Ptx, FHA, P.69) oraz Pasteur-Merieux Connaught (Ptx, FHA, P.69, Fim). Szczepionki bezkomórkowe obecnie dostępne z reguły zawierają allel *prn1* i *ptxS1B/S1D*, co może nie stanowić optymalnego składu szczepionki. Istnieje przypuszczenie, że tego rodzaju skład mógłby w przyszłości doprowadzić do ekspansji szczepów przejawiających nie-szczepionkowe warianty białek. Taka sytuacja mogłaby wystąpić szybciej niż w przypadku obecnie obserwowanej dla szczepionki pełnokomórkowej, gdyż szczepionki bezkomórkowe indukują bardziej swoiste spektrum przeciwciał. Ponadto różnice w stosowaniu szczepionek bezkomórkowych w zależności od danego kraju mogą w przyszłości spowodować dalsze geograficzne różnice w strukturze populacji *B. pertussis*.

Zarówno P.69 oraz S1 stanowią zatem białka polimorficzne, a częstości poszczególnych ich wariantów wykazują zmienność w czasie. Zmienność ta jest wynikiem selekcji odpowiedzi immunologicznej wzbudzonej za pomocą szczepień. Notowana zmienność nie ma charakteru mutacji cichych i zawsze była odpowiedzialna za zmianę aminokwasu. W genie *prn* dotyczyła ona oprócz pojedynczych mutacji liczby sekwencji powtarzających się, które były pierwotnie

Diagnostyka

wiązane z unikaniem przez drobnoustroj odpowiedzi immunologicznej gospodarza. Wykryte mutacje zostały ponadto powiązane z regionami cząsteczek wcześniej zdefiniowanymi jako epi-topy dla limfocytów B i T odpowiednio dla P.69 i PtxSl. Zmienność częstości wariantów w czasie wyraźnie wskazuje, że nastąpiło zróżnicowanie pomiędzy izolatami szczepionkowymi i klinicznymi. Szczepy, które zastąpiły typy szczepionkowe są częściej izolowane od osób nie szczepionych lub od osób z zanikającą opornością w stosunku do osób optymalnie lub nie w pełni zaszczepionych. Zmienność może zostać w przyszłości powiązana z innymi antygenami bakterii, wpływającymi na żywotność/zjadliwość szczepu, a dalej z poszczególnymi typami P.69 i PtxSl. Skoro szczepienie może selekcjonować szczepy o danym składzie antygenowym, sytuacja pojawiających się wariantów powinna być monitorowana szczególnie ze względu na jej wpływ na skuteczność szczepień przeciw krztuścowi. Dalsze badania dotyczące zdolności ochronnej przez różne typy *prn* i *ptxSl* ewentualnie potwierdzą przypuszczenia co do bezwzględnej potrzeby zmiany składu polskiej szczepionki pełnokomórkowej.

Różne częstości pojawiających się wariantów mogą być odpowiedzialne za różną epidemiologię krztuśca. W Polsce i w Holandii obserwowane było nasilenie notowań krztuśca, choć takiej tendencji nie zauważono w Finlandii. Przypuszczać można, że w przypadku Finlandii szczepionka tam produkowana posiada na tyle silną moc, aby oprzeć się zmienności antygenowej, albo chroni w mniejszym stopniu przed zakażeniem *B. pertussis* zawierającymi poszczególne allele, takie jak np. *prn3*, który jest dominujący w Holandii, ale mniej częsty w Finlandii.

Piśmiennictwo

1. De Magistris M. T. A., DiTomasso A., Domenighini M. i wsp. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 89, 2990-2994, 1992.
2. Edwards K. J. Infect. Dis. 168, 15-20, 1993.
3. Leininger E., Ewanowitch C. A., Bhargava A. i wsp. Infect. Immun. 60, 2380-2385, 1992.
4. Mastrantonio P., Spigaglia P., van Oirschot H. i wsp. Microbiology 145, 2069-2075, 1999.
5. Melker H. E., Conyn-van Spaendonck M. A. E., Rumke H. C. i wsp. Emer. Inf. Dis. 3, 175-178, 1997.
6. Mooi F. R., He Q., van Oirschot H. i wsp. Infect. Immun. 67, 3133-3134, 1999.
7. Mooi F. R., van Oirschot H., Heuvelman K. i wsp. Infect. Immun. 66, 67-675, 1998.
8. Nelson J.D. Am. J. Dis. Child. 132, 371-373, 1978.
9. Shahin R. D., Brennan M. J., Li Z. M. i wsp. J. Exp. Med. 171, 63-73, 1990.

Zmienność genetyczna i profil wytwarzanych toksyn w odniesieniu do patogenności szczepów *Clostridium perfringens*

Ewa Augustynowicz¹, Anna Gzył¹, Alfred Sameł², Janusz Ślusarczyk¹

1. Zakład Badania Surowic i Szczepionek, Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

2. Zakład Bakteriologii Klinicznej, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Akademii Medycznej, Gdańsk

Beztlenowe laseczki *Clostridium perfringens* stanowią grupę drobnoustrojów rozpowszechnioną głównie w formie endospor w ziemi oraz przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt. Szczepy *Clostridium perfringens* zdolne są do wytwarzania toksyn, których aktywność warunkuje odpowiedni obraz zmian chorobowych: od objawów uogólnionej zgo-

Zmienność genetyczna i profil wytwarzanych toksyn w odniesieniu do patogenności

rżeli gazowej poprzez bakterie i posocznice, martwicze zapalenie jelit do zatrucia pokarmowego z objawami żołądkowo-jelitowymi, a dodatkowo jest podstawą podziału szczepów na typy toksynogenne (9, 16).

Określenie typu toksynogennego *C. perfringens* jest ważnym elementem badań epidemiologicznych, szczególnie w kontekście podejmowania efektywnych działań zapobiegawczych zakażeniom oraz planów konstrukcji nowoczesnej szczepionki.

Podstawą podziału szczepów *C. perfringens* na 5 biotypów/typów toksynogennych A-E jest zdolność syntezy 4 rozpuszczalnych antygenów alfa, beta, epsilon oraz iota stanowiących tzw. grupę głównych toksyn. Odrębną grupę stanowi enterotoksyna oraz enzymy uboczne o zróżnicowanym udziale w patogenności, tj. toksyny teta, lambda, nu, mu, delta, kappa, eta i gamma (9, 13). Badania epidemiologiczne *C. perfringens* dotyczą z jednej strony określenia biotypu szczepu - co wydaje się ważne w kontekście przedsięwzięcia odpowiednich środków zapobiegawczych, a z drugiej strony dotyczą badań zmienności w obrębie danego biotypu (17).

Wraz z poznaniem sekwencji genomu *C. perfringens* oraz dokładnym usytuowaniem genów kodujących główne toksyny na mapie genetycznej możliwe było podjęcie badań dotyczących organizacji genomu, genetycznych aspektów patogenności oraz badań wewnątrz - gatunkowej zmienności genetycznej (3). Dotychczasowe badania zmienności *C. perfringens* dotyczyły przede wszystkim określenia biotypu na bazie profilu wytwarzanych toksyn wśród szczepów amerykańskich. Wstępne badania szczepów pochodzących z różnych obszarów geograficznych/środków, różnych materiałów klinicznych wskazują na stosunkowo podobną organizację genomu *C. perfringens* (6, 18). Z drugiej strony znane są również dane wskazujące, że znaleziono różnice w obrębie 10 obszarów polimorficznych i to obszarów kodujących geny wirulencji, np. odpowiedzialnego za syntezę toksyny alfa (4). W pracy zastosowano jedną z powszechnie stosowanych metod genotypowania opartą na reakcji amplifikacji, tj. reakcję przypadkowej amplifikacji RAPD (Random Amplification of Polymorphic DNA) (1, 19).

W pracy podjęto określenie profilu wytwarzanych toksyn oraz badania zmienności genetycznej na poziomie genomu oraz genów kodujących główne determinanty zjadliwości wśród szczepów *C. perfringens*.

MATERIAŁ I METODY

Analizie poddano łącznie 71 szczepów *C. perfringens* zgromadzonych w okresie 1973-1999, wśród nich 26 izolowanych z materiału klinicznego, 20 izolowanych od zwierząt oraz 15 izolowanych z próbek ziemi. Szczepy przechowywano w postaci zliofilizowanej wanej

Jako kontrole stosowano pięć referencyjnych szczepów *C. perfringens* uzyskanych z Instytutu Pasteura w Paryżu, Francja oraz Wellcome Research Laboratory w Londynie, Wielka Brytania: typ A szczep CN3418, typ B szczep ATCC3626, typ C szczep CN5386, typ D szczep CNI 183 oraz typ E szczep NCTC8084. W badaniach swoistości reakcji PCR stosowano szczepy rodzaju *Clostridium*: *C. bifementas*, *C. novyi*, *C. histolyticum*, *C. septicum*, *C. sordelli*, *C. fallax*, *C. capitalle*, *C. oedematicum* oraz przedstawicieli innych rodzajów: *Bacillus cereus*, *Listeria monocytogenes*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Biotypowanie. Biotyp badanych szczepów *C. perfringens* oceniano stosując test seroneutralizacji czynnika letalnego na myszach (2).

Badanie aktywności lecytynazy. Aktywność lecytynazy określano prowadząc hodowle 12 szczepów na podłożu agarowym z emulsją żółtka jaja kurzego.

Izolacja DNA *C. perfringens*. DNA badanych szczepów izolowano metodami opisanymi poprzednio (2).

Wykrywanie genu *pic* metodą PCR. Fragment genu *pic* amplifikowano w układzie gniazdowego PCR wykorzystując startery PL1, PL4 (I etap) oraz PL3, PL7 (II etap) (tabela 1). Reakcję prowadzono w następujących warunkach: 94C/1 min, 55C/1 min, 72C/1 min, 30 cykli.

Diagnostyka

Multiplex PCR. Fragmenty genów *pic*, *cpb1*, *etx*, *iap* amplifikowano w układzie multiplex PCR wykorzystując startery *cpa1*, *cpa2*; *cpb3*, *cpb4*; *cpe1*, *cpe2*; *cpil*, *cpil2*. Reakcję prowadzono w następujących warunkach: 94C/1 min, 55C/1 min, 72C/1 min, 30 cykli.

Reakcja RAPD. Amplifikację prowadzono wykorzystując krótkie startery 1247- 5'AAGAGCCCGT3', 1254- 5'CCGAGCCAA3', 1281- 5AACGCGCAAC3', 1290- 5'GTGGATGC- GA3' oraz 1283- 5' GCGATCCCCA 3' w następujących warunkach 94C/1 min, 36C/1 min, 72C/1 min, 42 cykle. Każdą reakcję RAPD powtarzano dwukrotnie. Szczepy kwalifikowano do jednej grupy klonalnej w sytuacji gdy wzór amplifikacji różnił się trzema prążkami.

Wykrywanie produktów reakcji amplifikacji. Prowadzono rozdziały w żelach aga- rozowych w sposób przedstawiony poprzednio (2).

Tabela 1. Charakterystyka starterów wykorzystywanych w pracy

Gen	Startery	Amplikon p.z	Sekwencje startera 5'-3'	Piśmiennictwo
<i>pic</i> (<i>cpa</i>)	<i>cpa1</i>	402	GTGATAGCGCAGGACATGTTAAG	20
	<i>cpa2</i>		CATGTAGTTCATCTGTTCAGCATC	
<i>cpb1</i>	<i>cpb3</i>	236	ACTATACAGACAGATCATTCAACC	20
	<i>cpb4</i>		TTAGGAGCAGTTAGAACTACAGAC	
<i>etx</i>	<i>cpe1</i>	541	ACTGCAACTACTACTCATACTGTG	20
	<i>cpe2</i>		CTGGTGCCTTAATAGAAAGACTCC	
<i>iap</i>	<i>cpil</i>	317	GCGATGAAAAGCCTACACCACTAC	20
	<i>cpil2</i>		GGTATATCCTCCAGCATATAGTC	
<i>pic</i>	PL1	425	TTCTATCTTGGAGAGGCTATGCAC	7
	PL4		GCTACTAGTTCTTTTACATTCTTTCC	
	PL3	AAGTTACCTTTGCTGCATAATCCC		
	PL7	ATAGATACTCCATATCATCTCTGCT		

WYNIKI

Klasyczną identyfikację badanych 71 szczepów *C. perfringens* rozszerzono o wykrywanie obecności genu *pic* w układzie gniazdowego PCR. Amplifikacji poddawano oczyszczone próbki DNA badanych szczepów z wykorzystaniem starterów PL1, PL4 (I etap) i PL3, PL7 (II etap), co prowadziło do amplifikacji produktów o wielkości 425 p.z. i 283 p.z. Wykazano, że gen *pic* występował w materiale genetycznym wszystkich badanych szczepów *C. perfringens*.

Grupę badanych szczepów poddano również genotypowaniu metodą multiplex PCR. W pierwszym etapie pracy analizowano próbki DNA standardowych 5-ciu szczepów *C. perfringens* typów A, B, C, D i E. Zastosowano startery dla fragmentów genów kodujących informacje o syntezie głównych toksyn. Amplifikacja ze starterami *cpa1*, *cpa2* (produkt 402 p.z.) prowadziła do uzyskania wyniku dodatniego dla każdego z pięciu szczepów standardowych. Wówczas gdy w reakcji amplifikacji zastosowano startery *cpb3*, *cpb4* oraz *cpe1*, *cpe2* uzyskiwano produkt 236 p.z. dla szczepów typu B i C oraz 541 p.z. dla typów B oraz

D. Z kolei startery *cpil*, *cpil2* prowadziły do amplifikacji z finalnym produktem 317 p.z. uzyskiwanym wyłącznie dla szczepów należących do biotypu E. W sytuacji, gdy materiał genetyczny szczepów referencyjnych poddawano amplifikacji w układzie multiplex, w którym zastosowano w reakcji jednocześnie 4 pary starterów (*cpa1*, *cpa2*; *cpb3*, *cpb4*; *cpe1*, *cpe2*; *cpil*, *cpil2*), każdy szczep standardowy opisywano charakterystycznym profilem produktów amplifikacji: szczep typu A charakteryzował 1 produkt o wielkości 402 p.z., szczep typu B- 3 produkty o wielkości 402, 236, 541, szczepy typu C, D oraz E po 2 produkty o wielkościach odpowiednio 402 i 236 p.z.; 402, 541 p.z. oraz 402, 317 p.z. Prze

Zmienność genetyczna i profil wytwarzanych toksyn w odniesieniu do patogenności

prorowadzone reakcje amplifikacji pozwoliły uzyskać czułość 250 fg DNA *C. perfringens* typu A dla układu starterów cpa1, cpa2, oraz 200 fg DNA gdy prowadzono amplifikację w układzie multiplex.

Przeprowadzenie genotypowania metodą multiplex PCR przyporządkowywało większość tj. 97% szczepów *C. perfringens* do typu A oraz typów C (2%) oraz E (1%). Ocena bio- typu szczepów badanych testem seroneutralizacji czynnika letalnego dla myszy przyporządkowywała 94% szczepów do grupy A. Zgodność biotypowania i genotypowania obserwowano w 94% przypadków. Trzy szczepy (nr. 270, 368, 234) izolowane z próbek ziemi klasyfikowano metodami biotypowania i genotypowania odpowiednio jako biotypy B-D- C oraz C-A-A (tabela 2).

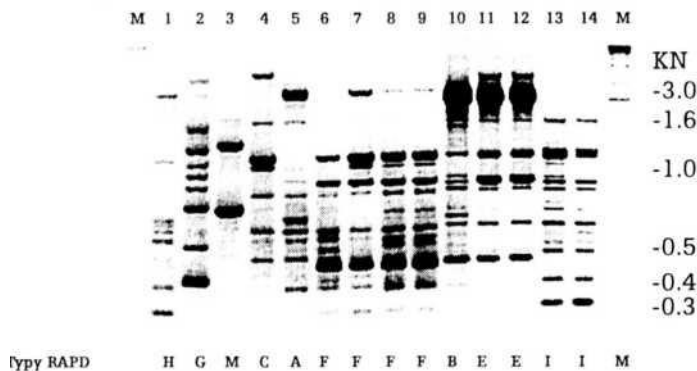
Tabela 2. Porównanie biotypu oraz genotypu wśród 71 badanych szczepów *C. perfringens*

Źródło szczepów		Liczba Izolatów	Liczba biotypów					Liczba genotypów				
			A	B	C	D	E	A	B	C	D	E
Zatrucie pokarmowe		50	49	-	-	-	-	49	-	-	-	-
Zgorzel Gazowa		10	10	-	-	-	-	10	-	-	-	-
Ziemia		15	10	1	3	1	-	13	-	2	-	-
Zwierzeta:	Psy	8	8	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Owce	5	4	-	-	-	1	4	-	-	-	1
	Cielęta	5	5	-	-	-	-	-	-	-	-	-
	Świnie	2	2	-	-	-	-	-	-	-	-	-

Wśród 68 szczepów typu A, 15 nie wykazywała aktywności lecytynazy, co mogło być związane z niezdolnością syntezy toksyny alfa.

W drugim etapie pracy prowadzono badania polimorfizmu badanej grupy szczepów *C. perfringens* na poziomie całego genomu wykorzystując metodę RAPD. Testowano 5 różnych starterów 1247, 1254, 1281, 1290, 1283. Najbardziej informatywne profile amplifikacji uzyskano z wykorzystaniem startera 1254. Starter ten pozwalał na uzyskiwanie obrazu z 11-15 produktami o wielkości 0.1-2.0 kb, co pozwoliło przypisać poszczególne wzo-

Fot. 1. Reprezentatywne genotypy 14 izolatów *C. perfringens* uzyskane metodą RAPD z wykorzystaniem startera 1254, M- 1Kb DNA Ladder (Gibco).



Diagnostyka

ry amplifikacji grupom klonalnym. Wśród szczepów klinicznych wyróżniono 14 grup klonalnych. Wzory 9-ciu z tych grup przedstawiono na fot. 1. Wśród nich 4 obejmowały więcej niż dwa izolaty, pozostałych 10 tworzyło unikalne grupy, po 1 izolacie. W 4 grupach wzory o wysokim stopniu homologii były reprezentowane przez 5, 2, 6 i 4 izolaty. Wśród szczepów izolowanych od zwierząt wyróżniono 15 grup klonalnych, wśród szczepów izolowanych z ziemi 14 unikalnych grup klonalnych.

DYSKUSJA

Poznanie sekwencji genetycznych determinant zjadliwości *C. perfringens* dało nowe możliwości pracy w nowoczesnej diagnostyce oraz epidemiologii molekularnej (3).

Coraz częściej podejmowane są próby wykrywania genetycznych determinant zjadliwości *C. perfringens* poprzez wykrywanie genów kodujących informacje o syntezie głównych toksyn metodami PCR lub hybrydyzacji ze swoistymi sondami. Amplifikacja może być prowadzona oddzielnie dla każdego z genów kodujących informacje o syntezie głównych toksyn alfa, beta, epsilon, iota co wg. Yoo i wsp. pozwala uzyskać czułość 10 pg (20). W naszych badaniach stosując wyjściowo oczyszczone próbki DNA, dla starterów cpa1, cpa2 uzyskiwaliśmy czułość 250 fg. Z kolei Daube i wsp. (6) opracowali system typowania toksynotwórczych szczepów *C. perfringens* poprzez zastosowanie PCR w układzie multiplex z zastosowaniem w jednej reakcji starterów wyznaczających do amplifikacji fragmenty genów pic, cpb2, etx, iap, czułością 200 fg (6). Zasada ta jest z powodzeniem stosowana w wielu laboratoriach. W naszych badaniach reakcja amplifikacji prowadzona w układzie multiplex dawała podobną czułość. Należy podkreślić, że czułość reakcji spada drastycznie gdy materiałem wyjściowym jest bezpośrednia próbka materiału klinicznego bez jej wstępnego oczyszczania np. kał, próbki żywności czy próbki ziemi (14), stąd autorzy zgodnie sugerują, aby analizę markerów zjadliwości prowadzić na bazie oczyszczonej hodowli *in vitro* (11, 20).

Wzór występowania poszczególnych typów toksyn jest związany z obszarem geograficznym a w przypadku szczepów wytwarzających toksyny wywołujące zakażenia u zwierząt również gatunkiem zwierząt występującym na danym terenie. Przykładem jest ente-rotoksemia cieląt i świń wywoływana przez szczepy *C. perfringens* wytwarzające toksyny typu A i C w Korei (9, 12). Na tym terenie nigdy nie obserwowano występowania zakażenia wywołanego szczepami typu D i E. *C. perfringens* typu C u świń jest przyczyną martwiczego zapalenia jelit na całym świecie (16).

W naszych badaniach najczęściej występującym (97% szczepów), przypisano toksynotypowi A, co było zgodne z wcześniejszymi doniesieniami Meer i Songer (14). Uzyskaliśmy zgodność wyników genotypu i biotypu w 94% przypadków w porównaniu ze 100% zgodnością w pracy Meer i Songer (14).

Przyczyna zróżnicowanych wyników biotypowania i genotypowania szczepów *C. perfringens* może wynikać z faktu, że geny *cpb1/cpb2*, *etx*, *iap* kodujące informacje o syntezie kolejno toksyn beta, epsilon oraz iota zlokalizowane są na pozachromosomalnych, ruchliwych elementach (4, 16). Wśród szczepów *C. perfringens*, których geny toksyn iota czy CPE były zlokalizowane na plazmidach obserwowano nabywanie i utratę plazmidów. Wykazano, że w przypadku szczepów *C. perfringens* typów B, C a rzadziej D i E dochodzić może do utraty części genów przy kolejnych pasażach (10, 15).

Opisano zjawisko transferu genetycznego czynników wirulencji *C. perfringens* poprzez transpozony, plazmidy koniugacyjne czy fagi. Szczepy *C. perfringens* zdolne są do nabywania czynników wirulencji od innych bakterii i odwrotnie, same mogą być rezerwuarem genów toksyn dla innych mikroorganizmów (15).

Toksyna alfa jest lecytynazą, której aktywność można łatwo określić na podłożu z emulsją żółtka jaja kurzego. W warunkach *in vitro* zdolność wytwarzania toksyny jest silnie związana z rodzajem podłoża, na którym hodowane są szczepy *C. perfringens* (8). Stąd też ilość toksyny wytwarzanej przez szczep *C. perfringens* hodowany w warunkach laboratoryjnych nie musi odpowiadać sytuacji *in vivo* w organizmie gospodarza. Może to tłuma-

Wygraj przy pierwszym podejściu



Zeffix pierwszy doustny preparat skuteczny w leczeniu WZW B

- znacząca poprawa obrazu histologicznego wątroby i zahamowanie postępu choroby^{1,2}
- serokonwersja w układzie HBeAg do 70%²
- supresja HBV DNA u 90% pacjentów³
- możliwość zastosowania u każdego pacjenta (w przeciwieństwie do interferonu)
- podawany doustnie 1x na dobę
- dobra tolerancja⁴

1) Davies M.G., Wilson J.E., Vandraanen N.A., wsp. Antiviral Research 1996, 30:133
2) Dienstag J., Schiff E., Wright T., wsp. N. Eng. J. Med. 1999, 341, 1256
3) Lai C.L., Chen R.N., Leung N.W.Y., wsp. N. Eng. J. Med. 1998, 339:61
4) Leung N.W.Y., Dienstag J., Schiff E. et al. Hepatology 1998, 28:587A (Abstract 1698)



SKRÓCONY OPIS LEKU: POSTAĆ FARMACEUTYCZNA: tabletki powlekane 100mg, syrop 5mg/1ml. **OPIS DZIAŁANIA:** lek przeciwwirusowy, analog nukleozydu, działający przeciwko wirusowi typu B zapalenia wątroby.
WSKAZANIA: leczenie przewlekłego WZW B z dowodami replikacji wirusa z niewy równaną chorobą wątroby lub aktywnym zapaleniem wątroby i/lub włóknieniem. **PRZECIWWSKAZANIA:** nadwrażliwość. **ŚRODKI OSTROŻNOŚCI:** pacjent powinien być monitorowany (co 3 miesiące ALAT, co 6 miesięcy HBV DNA i HBeAg). **CIĄŻA I KARMIENIE PIERSIĄ:** jedynie w przypadkach, gdy oczekiwano korzyści dla matki przewyższą zagrożenie dla płodu (kategoria C). Nie zaleca się karmienia piersią podczas przyjmowania lamiwudyny. **INTERAKCJE:** prawdopodobieństwo interakcji jest niskie. Podawanie kotrimoksazolu powoduje wzrost poziomu lamiwudyny w surowicy o około 40%. **Brak interakcji z interferonem.** **DAWKOWANIE:** 100mg raz na dobę niezależnie od posiłków. U pacjentów z HBeAg + leczenie powinno być stosowane do czasu serokonwersji w w dwóch kolejnych próbkach lub serokonwersji w układzie HBeAg. W przypadku przerwania podawania Zeffixu pacjent powinien być okresowo badany w kierunku nawrotu zapalenia wątroby. U pacjentów z kliresem kreatyniny <50 ml/min dawkowanie powinno być zmodyfikowane.
DZIAŁANIA NIEPOŻĄDANE: Zeffix jest dobrze tolerowany. Obserwowano: złe samopoczucie i zmęczenie, zakażenia dróg oddechowych, dyskomfort w obrębie gardła, bóle głowy i brzucha, nudności, wymioty i biegunka. U pacjentów z HIV zapalenie trzustki, obrzęki, neuropatii (lub parestezji), jakkolwiek nie stwierdzono wyraźnego związku pomiędzy tymi przypadkami, a leczeniem lamiwudyną. **Przypadki kwasicy mleczanowej, zozwyczej związanej z poważną hepatomegalią i stłuszczeniem wątroby okazjonalnie stwierdzone w przewlekłym WZW B u pacjentów z niewy równaną chorobą wątroby, jednakże nie wykazano ich związku z leczeniem preparatem Zeffix.**
Szczegółowe informacje o leku znajdują się w ulotce informacyjnej firmy GlaxoWellcome.

Zmienność genetyczna i profil wytwarzanych toksyn w odniesieniu do patogenności

czyć uzyskiwanie wyników fałszywie dodatnich, gdzie wykrywany jest gen *cpa*, a nie stwierdza się aktywności białka lecytynazy, tj. szczepy *cpa+*, PLC-, w naszych badaniach wśród 68 szczepów *cpa+*, 15 nie wykazywało aktywności lecytynazy (szczepy PLC-).

W badaniach epidemiologicznych z wykorzystaniem mapowania genów oraz metody PFGE uzyskano wyniki wskazujące, że szczepy *C. perfringens* izolowane na przestrzeni pół wieku, z różnych obszarów geograficznych wykazują podobną organizację genomu (6). Podobnie Canard i wsp. (4) w swoich badaniach potwierdzają istnienie stosunkowo wysokiej homologii szczepów gatunku *C. perfringens*. Obecność wykrytych trzech regionów polimorficznych w obrębie chromosomalnego DNA pokrywała się z regionami kodującymi informacje o ważnych czynnikach wirulencji, m.in. z genem *cpe* kodującym informację o syntezie enterotoksyny, gdzie umiejscowiona jest większość zmian oraz z genem *pic* kodującym informację o syntezie toksyny alfa (4). Zaskakujący jest fakt, że regiony polimorficzne występują blisko miejsca *ori* replikacji, które z reguły charakteryzuje się wysokim stopniem konserwowania. Wykryte zmiany mają charakter insercji, delecji oraz w najmniejszym stopniu inwersji (15).

W badaniach polimorfizmu na poziomie całego genomu *C. perfringens* wykorzystano w pracy często stosowaną do typowania metodę przypadkowej amplifikacji. W badaniach Dijck i wsp. (5, 7), prowadzonych na modelu *C. difficile* wykazano, że reakcja RAPD pozwala na określenie klonalnych relacji w obrębie toksynotypów w większym stopniu wśród szczepów izolowanych z materiału klinicznego. W naszych badaniach wśród szczepów klinicznych wyróżniono 14 grup klonalnych, wśród szczepów izolowanych od zwierząt 15 grup a wśród szczepów izolowanych z ziemi 14 unikalnych grup klonalnych. Podkreślić należy, że utrzymywanie się grup klonalnych może mieć pewien związek z występowaniem szczepów *C. perfringens* w środowisku w postaci endospor.

Podsumowując, zastosowanie metod opartych na amplifikacji pozwoliło na wykrywanie rzadkich na terenie Polski typów szczepów *C. perfringens* oraz ocenę stopnia zmienności genetycznej na poziomie genomu oraz genu wśród szczepów izolowanych z materiału klinicznego oraz ze środowiska. Stwierdzono występowanie w obrębie populacji szczepów *C. perfringens* genetycznie stabilnych izolatów.

PIŚMIENNICTWO

- 1- Akopyanz N., Bukanov N.O., Westblom T.U. i wsp. Nucleic Acids Res. 1992, 20, 5137-5142.
2. Augustynowicz E, Gzyl A, Ślusarczyk J. J. Scand. Inf. Dis. 2000 (in press).
3. Canard B., Cole S.T. Proc. Natl. Acad. Sci. USA 1989, 86, 6676-6680.
4. Canard B., Saint-Joanis B., Cole S.T. Mol. Microbiol. 1992, 6, 1421-1429.
- 5- Collier M.C., Stock F., Degirolami P.C. i wsp. J. Clin. Microbiol. 1996, 34, 1153-1157.
- 6- Daube G., Simon P., Limbourg B. i wsp. Am. J. Vet. Res. 1996, 57, 496-504.
Dijck P., Avesani V., Delmee M. J. Clin. Microbiol. 1996, 34, 3049-3055.
- 8- Fach P., Guillou J.P. J. Appl. Bacteriol. 1993, 74, 61-66.
- 9- Hatheway C.H. Clin. Microbiol. Rev. 1990, 3, 66-98.
10. Hunter S.E.C., Brown E., Oyston P.C.F. i wsp. Infect. Immun. 1993, 61, 3958-3965.
H-Katayama S-I., Matsushita O., Minami J. I wsp. Infect. Immun. 1993, 61, 457-463.
12. Kokai-Kun J.F., Songer J.G., Czeczulin J.R. i wsp. J. Clin. Microbiol. 1994, 32, 2533-2539.
13. Leary S.E.C., Titball R.W. w: The Clostridia. Academic Press, 1997, 243-250.
14. Meer R.R., Songer J.G. Am. J. Vet. Res. 1997, 58, 702-705.
- 15- Petit L., Gibert M., Popoff M.R. Trends Microbiol. 1999, 7, 104-110.
- 16- Hood J.I., Cole S.T. Microbiol. Rev. 1991, 55, 621-648.
- 17- Shimizu T., Okabe A., Rood J.I. w: The Clostridia. Academic Press, 1997, 243-250.
J-Titball R.W., Hunter S, E, C, Martin K.L. i wsp. Infect. Immun. 1989, 57: 367-376.
- 19- Welsh J., McClelland M. Nucleic Acids Res. 1990, 18, 7213-7218.
- ° Yoo H.S., Lee S.U., Park K.Y. i wsp. J. Clin. Microbiol. 1997, 35, 228-232.

PROFILAKTYKA I LECZENIE

Chemioprofilaktyka zakażeń wirusowych

Andrzej Denys

Zakład Mikrobiologii Lekarskiej Wojskowa Akademia Medyczna w Łodzi

Prawidłowa ocena aktywności leków przeciwwirusowych wymaga posiadania możliwości dokładnego epidemiologicznego monitorowania chorób wirusowych, tj. posiadania szybkich i dokładnych testów przeznaczonych do identyfikacji ostrych infekcji.

Odpowiedź powinna być dana w ciągu nawet kilku godzin, a w przypadku oceny efektywności swoistych leków w ciągu nocy, szczególnie jeżeli mamy do czynienia z chorobami zagrażającymi życiu.

Wiele chorób wirusowych rozpoczyna się w sposób niecharakterystyczny. Zwłaszcza w początkowym okresie mogą występować objawy „rzekomo-grypowe”. Monitorowanie skuteczności szczepionek przeciwwirusowych, swoistych, wymaga jedynie diagnostyki ściśle związanej ze swoistością szczepionki, wirus epidemiczny jest stale w danej epidemii taki sam, dający powtarzalne i podobne objawy (10).

Rutynowa diagnostyka wirusologiczna ograniczona jest zazwyczaj do mniej kosztownej diagnostyki serologicznej, prowadzonej w jednym, dwu centralnych laboratoriach w kraju.

Wprowadzenie monoklonalnych przeciwciał zmieniło kompletnie podstawy zastosowania szybkich testów diagnostycznych. Nowe podejście do diagnostyki wirusologicznej umożliwia techniki genetyczne (PCR, LCR i inne). Nadzwyczajna czułość tych testów wymaga obecności kilku kopii genomu zamiast żywego wirusa, nie ma konieczności posiadania technik hodowli komórkowej w ujęciu tradycyjnym, zaletą jest możliwość standaryzacji.

Zagadnienie aktywności „starych” wirusów wymaga nowego spojrzenia, uwzględnienia w rozumowaniu stałego wzrostu liczby pacjentów z osłabioną odpornością przeciw-wirusową w następstwie agresywnej chemioterapii przeciwnowotworowej, po przeszczepach. Przykładem jest wirus cytomegalii, który ulega reaktywacji po przeszczepach, ponadto u pacjentów z AIDS. Dodatkową trudnością jest konieczność monitorowania pojawiania się szczepów opornych na działanie swoistych leków podawanych czy to leczniczo, czy też profilaktycznie.

Nowego spojrzenia wymaga także zagadnienie znaczenia nowych wariantów „starych” wirusów, dobrym przykładem jest tutaj wirus grypy. Ostatnie izolacje szczepów H5N1 oraz szczepów H9N2 w Hong-Kongu wykazały, że są one niebezpieczne nie tylko z teoretycznego, ale także praktycznego punktu widzenia. Innym przykładem jest izolacja nowych typów adenowirusów od pacjentów z AIDS. Nie został rozwiązany problem corocznych epidemii wywołanych wirusami pneumotropowymi.

Zagadnienie zapobiegania grypie jest ciągle sprawą otwartą, wiązać to należy z przebiegiem zjawisk immunologicznych zachodzących po użyciu szczepień ochronnych, jak również w przebiegu infekcji grypowej (chodzi o niekorzystny przebieg zjawisk odporności komórkowej). Coraz większego znaczenia nabiera opracowanie zagadnień chemiopro-

filaktyki w grypie. Niewiele preparatów można uznać za swoiste inhibitory, hamowanie uwalniania wirusów w izolowanych układach komórkowych wiąże się z toksycznością, ocenę tego zjawiska prowadzimy na podstawie badania indeksu terapeutycznego. Kryteria oceny badanych substancji to przede wszystkim redukcja miana wirusów po profilaktycznym podaniu leków. Obecne podejście do tego zagadnienia polega na badaniu związków chemicznych stanowiących modyfikację budowy chemicznej związku podstawowego. Ich aktywność przeciwwirusową ocenia się w badaniach laboratoryjnych na drodze redukcji miana wirusów uzyskiwanego po podaniu preparatów w doświadczalnych zakażeniach hodowli tkanek, zarodków kurzych, myszy. Powszechnym zjawiskiem jest spadek różnicy między dawką toksyczną, a przeciwwirusową (niekorzystny indeks terapeutyczny) w miarę użycia coraz to bardziej złożonych obiektów doświadczalnych. Badania te pozwalają na wstępną ocenę preparatów – wyników tych nie można przenieść bezpośrednio do kliniki.

Przegląd piśmiennictwa, jak również wyniki badań własnych, potwierdzają korzystny wpływ Amantadyny i Remantadyny na przebieg infekcji wirusami grypy u myszy. Spostrzegano znacznie mniejsze natężenie procesu zapalnego w płucach, mniejsza była komponenta wysięku, mniejsze zniszczenie nabłonka błony śluzowej dróg oddechowych w porównaniu z grupą kontrolną zwierząt.

Opinie na temat użyteczności Amantadyny w zapobieganiu grypie u ludzi są na ogół dość zgodne i zachęcające (4,6).

Amantadyna (6) hamuje replikację wirusa grypy prawdopodobnie poprzez zaburzenia penetracji i uwalniania RNA wirusa z osłonki. Podaje się ją podczas epidemii w profilaktyce grypy typu A. Występują szczepy wirusa grypy typu A odporne na Amantadynę. Amantadyna wchłania się dobrze po podaniu doustnym, uzyskuje stężenia w wydzielinach dróg oddechowych równe stężeniu w surowicy. Do objawów niepożądanych należy bezsenność i bóle głowy. Posiada działanie teratogenne, jest przeciwwskazana w ciąży.

Wyniki badań własnych dowodzą, że pochodna Amantadyny – Remantadyna wpływa korzystnie na przebieg grypy, zmniejsza stopień i czas trwania intoksykacji ustroju, szczególnie wyraźnie występowało to w grupie pracowników służby zdrowia i ich rodzin – profilaktyka w trakcie trwania epidemii grypy w roku 1972 wskazała, że objawy były niewielkie i krótkotrwałe, nie wpływały na sprawność ustroju (6).

Długotrwałe przyjmowanie preparatu nie dawało objawów niepożądanych.

Próby kliniczne nowych preparatów przeciwgrypowych interesujących z punktu widzenia badań laboratoryjnych oceniane być powinny wg schematu:

- a. oceny objawów niepożądanych – uszkodzenia narządów mięszkowych (tolerancja leku)
- b. reakcji immunologicznych po zachorowaniu, bądź wprowadzeniu szczepionki przeciwgrypowej
- c. zmniejszenie lub ustąpienie objawów klinicznych infekcji u osób otrzymujących profilaktycznie lek w porównaniu z grupą kontrolną otrzymującą placebo.

Ocena preparatów przeciwwirusowych (przeciwgrypowych) wymaga prowadzenia wszechstronnych badań laboratoryjnych, klinicznych, epidemiologicznych. Tylko tak pomyślany program badań może przynieść istotny postęp w zwalczaniu grypy.

Nową klasą leków – inhibitorów neuraminidazy typu A i B wirusów grypy jest Zanamivir. Podawany donosowo jest efektywny w porównaniu z placebo.

Redukuje czas trwania i intensywność objawów, jest pozbawiony objawów niepożądanych. Preparat jest aktywny na modelu gryzoni zakażonych wirusami grypy. Zdaniem autorów (4), może być rozpatrywany jedynie jako czynnik komplementarny w użyciu razem ze szczepionką przeciwgrypową w profilaktyce grypy.

Acyklowir (acykloguanozyna), syntetycznie otrzymany acykliczny nukleozyd purynowy, działa przeciwwirusowo na wirusy opryszczki typu I i II, oraz wirusy ospy wietrznej i półpaśca. Acyklowir jest uczynniany przez wirusowe kinazy tymidynowe, które fosfo-

Profilaktyka i leczenie

rylują lek. Do uczynniania leku dochodzi wyłącznie w komórkach zakażonych wirusem. Aktywny lek hamuje wirusową polimerazę DNA. Acyklowir wchłania się po podaniu doustnym, jest podawany także pozajelitowo.

Ostatnio pojawiły się inne analogi nukleozydów o lepszych właściwościach farmakodynamicznych. Famcyklowir działa przeciwwirusowo, jest skuteczny w profilaktyce uszkodzeń skóry wywołanej wirusami opryszczki, po półpaścu, w terapii laserowej (3).

Gancyklowir działa silniej od Acyklowiru na wirusy cytomegalii. Lek ten jest stosowany do zapobiegania zakażeniom CMV u osób ze zmniejszoną odpornością (np. po przeszczepach).

Walacyklowir, podobnie jak Acyklowir skracał czas występowania objawów bólowych w przebiegu ospy wietrznej i półpaśca (14). Weryfikowano także w badaniach porównawczych siłę działania soli Acyklowiru w porównaniu do substancji macierzystej w ujęciu działania profilaktycznego w infekcjach herpetycznych spostrzegając podobną aktywność biologiczną (15).

Szczególnym zagadnieniem jest infekcja wirusami opryszczki oraz ospy wietrznej i półpaśca u pacjentów z zaburzeniami odporności (szczególnie u pacjentów z AIDS), pacjentów po przeszczepach i otrzymujących agresywną terapię przeciwnowotworową (13). Rozpatruje się możliwość nie tylko terapii, ale także zapobiegania wystąpienia objawów reinfekcji, czy reaktywacji wirusami z rodziny Herpesviridae innymi klasami leków, pochodnych analogów nukleozydowych: Lobucavir, Netyvudina, a w zakażeniach wirusami opornymi na Acyklowir rozpatruje się możliwość użycia preparatu Foscarnet. Postępowanie takie rekomenduje się u dzieci chorych na białaczkę, aktualnie bez objawów infekcji (13).

U pacjentów z objawami przewlekłego procesu zapalnego związanego z zakażeniami wirusami ospy wietrznej i półpaśca korzystne działanie profilaktyczne opisano dla niesterydowych leków przeciwzapalnych (11), co potwierdza uzyskane wcześniej efekty działania przeciwwirusowego tych leków w stosunku do wirusów grypy, cytomegalii.

Poszukiwania aktywności przeciwwirusowej obejmują także leki stosowane w leczeniu innych schorzeń - dotyczy to np. suraminy. Rozpatrywana jest jako lek profilaktyczny w zakażeniach wirusami z grupy wirusów opryszczki (2).

Inne preparaty np. Rybawiryna może być rozpatrywana jako lek przeciwwirusowy, także profilaktyczny po kontakcie z wirusami Hanta, w gorączce Lassa.

Infekcje HIV, profilaktyka pełnoobjawowego zespołu AIDS, obejmuje stosowanie przede wszystkim Zydowodyny (azydodezoksytymidyny). Lek ten łączy się z odwrotną transkrypcją retrowirusa, hamując jej działanie. Aktualnie wprowadza się nowe pochodne didezoksynukleozydowe: didezoksyctozynę, didezoksyinozynę.

Regulą jest stosowanie aktywnej terapii przeciwretrowirusowej (HAART). Obejmuje ona stosowanie dwóch analogów nukleozydowych AZT i ddI łącznie z Newirapiną (7). Stosowanie GM-CSF ma znaczenie w zapobieganiu powikłaniom (12).

W zapobieganiu zakażeniom wirusowym istotna jest troska o sprawny układ immunologiczny, jego stymulacja np. wyciągami z bakterii (5) ma działanie ochronne poprzez stymulację wytwarzania interferonu gamma przez limfocyty CD4 zależnie od IL-12.

Trudno nie zauważyć dużej liczby prac publikowanych w różnych krajach na temat przeciwwirusowej aktywności wyciągów z roślin, czy też innych preparatów pochodzenia naturalnego (1,8,9).

Mniej lub bardziej zdefiniowane frakcje otrzymane różnymi technikami z różnych części roślin wykazują mniejszą lub większą aktywność przeciwwirusową w różnych modelach badawczych np. in vitro w hodowlach tkanek, na modelu zwierząt zakażonych różnymi wirusami.

Publikuje się szereg prac klinicznych wykazujących aktywność tych preparatów w większości profilaktyczną, nieswoiście „wzmacniającą” odporność. Ich stosowanie oparte o wielowiekową tradycję „medycyny naturalnej” znajduje racjonalne uzasadnienie w zapobieganiu raczej niż w leczeniu zakażeń wirusowych (8, 9).

Antybiotykoprofilaktyka w aspekcie zjawiska oporności drobnoustrojów

Doniesienia o możliwości uznania zespołu AIDS za odwracalny w wyniku stosowania tradycyjnej medycyny chińskiej (9) poprzez wywołanie aktywności immunostymulacyjnej są na pewno ciekawe, wymagają jednak potwierdzenia.

Stosowanie immunostymulatorów pochodzenia naturalnego wymaga odpowiedzi na szereg pytań: o możliwość aktywacji protoonkogenów, czy też zawsze stymulacja odpowiedzi jest korzystna, jak stymulacja ta wpływa u konkretnego chorego. Panuje zgodność co do uznania za zasadne rozpatrywanie stosowania leków naturalnych raczej jako profilaktyki np. w zapobieganiu sezonowym zaostrzeniom infekcji w drogach oddechowych, czy też u osób z kontaktu.

Stosowanie leczenia przeciwwirusowego jest wciąż ograniczone, wiele substancji ma działanie raczej profilaktyczne, chociaż wiele z nich może mieć zastosowanie także lecznicze, tym skuteczniejsze im wcześniej zostało zastosowane.

PIŚMIENNICTWO

1. Abad M.J., Bermejo P., Sanchez-Palomino S. i wsp.: (...) *Phytother.Res.*, 1999, 13(2): 142-6.
2. Aguilar J.S., Rice M., Wagner E.K.: (...) *Virology*, 1999, 258(1): 141-51.
3. Alster T.S., Nanni C.A.: (...) *Dermatol.Surg.*, 1999, 25(3): 242-6.
4. Bricaire E.: (...) *Presse Med.*, 1998, 27 Suppl. 5: 24-6.
5. Byl B., Libin M., Gerard M. i wsp.: (...) *J.Interferon Cytokine Res.*, 1998, 18(10): 817-21.
6. Denys A., Szram S., Tkaczewski Wł. i wsp.: (...) *Acta Microbiol.Pol.Ser.A*, 1973, 5(3/4): 217-20.
7. Floridia M., Bucciardini R., Ricciardulli D. i wsp.: (...) *J.Acquir.Immune Defic. Syndr.Hum.Retrovirol.*, 1999, 20(1): 11-9.
8. Garcia G., Cavallaro L., Broussalis A. i wsp.: (...) *Planta Med.*, 1999, 65(4): 343-6.
9. Lu W.B., Wen R.X., Guan C.F.: (...) *Chung Kuo Chung Hsi I Chieh Ho Tsa Chih*, 1997, 17(5): 271-3.
10. Madeley C.R.: (...) *Clin.Microbiol.Infect.*, 1999, 5, 657-661.
11. Primache V., Binda S., De Benedittis G. i wsp.: (...) *New Microbiol.*, 1998, 21(4): 397-401.
12. Ross S.D., DiGeorge A., Connelly J.E. i wsp.: (...) *Pharmacotherapy*, 1998, 18(6): 1290-7.
13. Snoeck R., Andrei G., De Clercq E.: (...) *Drugs*, 1999, 57(2): 187-206.
14. Wood M.J., Shukla S., Fiddian A.P. i wsp.: (...) *J.Infect.Dis.*, 1998, 178 Suppl. 1: S81-4.
15. Zaharia C.N., Crisan I., Rojanschi D. i wsp.: (...) *Rom.J.Virol.*, 1997, 48(1/4): 61-9.

Antybiotykoprofilaktyka w aspekcie zjawiska oporności drobnoustrojów

Eugeniusz Małafiej

Zakład Mikrobiologii Klinicznej, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki, Łódź

Pomysł zastosowania substancji wybiórczo niszczących bakterie zrodził się w drugiej połowie XIX wieku – w momencie, kiedy udowodniono patogenną rolę drobnoustrojów. Wykrycie antybiotyków było „kamieniem milowym” na drodze rozwoju medycyny. Stano-

Profilaktyka i leczenie

wią one specyficzną, niezwykle skuteczną terapeutycznie grupę leków, jednak ich skuteczność podlega określonym prawom. Negowanie tych praw prowadzi do szeregu ujemnych konsekwencji dotyczących wielu obszarów życia człowieka, nawet tych, które nie są bezpośrednio związane z dziedziną opieki medycznej: ochrona roślin, przemysł spożywczy, rybołówstwo, nadzór weterynaryjny.

Główne znaczenie antybiotyków wynika z zastosowania w terapii. W przypadku ujawnienia sprawy infekcyjnej, wprowadzenie leku do organizmu ma na celu zniszczenie patogennych bakterii lub grzybów. Z racji niszczącego oddziaływania na drobnoustroje, celowe może również okazać się podanie antybiotyku przed pojawieniem się objawów infekcji. Jest to uzasadnione w tych przypadkach, kiedy obserwacje kliniczne wskazują na zwiększoną częstość występowania powikłań infekcyjnych po zastosowaniu określonych procedur leczniczych lub diagnostycznych. Należy mieć na uwadze, iż współcześnie stosowane procedury bywają niekiedy bardzo agresywne, traumatyzujące, stąd konieczność osłony antybiotykowej.

Jak już wspomniano, skuteczność antybiotyków jest rezultatem określonych prawidłowości, które wynikają z faktu, iż przedmiotem ich działania są żywe drobnoustroje, a więc organizmy niezwykle plastyczne, z doskonale rozwiniętymi mechanizmami pozwalającymi łatwo przystosować się do zmiennych, wielokrotnie niekorzystnych warunków środowiska. Takim środowiskiem może być zakażony organizm. Jeżeli w jego płynach i tkankach znajduje się antybiotyk, a występujące tam drobnoustroje nie uległy zniszczeniu, mówimy o zjawisku lekooporności - w kategoriach pojęć biologicznych jest to naturalny efekt przystosowania. Poza skutkami klinicznymi, wynika z tego szereg negatywnych konsekwencji. W istotny sposób dotyczą one również problemu stosowania antybiotyków w profilaktyce. Z racji na kluczowy charakter zjawiska oporności, niezbędne wydaje się dokładniejsze wyjaśnienie zagadnień z nim związanych.

Antybiotyki - mechanizm działania

Wykrywając pierwszy z antybiotyków - penicylinę, Aleksander Fleming urzeczywistnił niejako wcześniejsze marzenia Paula Ehrlicha o "złotej kuli" pozwalającej trafić patogenny drobnoustrój bez uszkodzenia makroorganizmu. Antybiotyki można określić jako substancje naturalne bądź syntetyczne, charakteryzujące się wysoko wybiórczą toksycznością w stosunku do mikroorganizmów. Jeżeli oznaczymy najmniejsze stężenie antybiotyku, które zabija drobnoustrój lub hamuje jego namnażanie, okaże się że jest ono tysiąc, a niekiedy nawet ponad dziesięć tysięcy razy mniejsze, niż toksyczne stężenie konieczne do wywołania efektu letalnego makroorganizmu. Wynika to z faktu, iż cząsteczka antybiotyku jest w stanie wybiórczo zablokować aktywność określonego enzymu, blokując tym samym ważny życiowo szlak metaboliczny w komórce bakteryjnej. Jeżeli uświadomić fakt, że antybiotyk odznacza się jednocześnie znacznym stopniem powinowactwa do wrażliwego enzymu, mechanizm działania w tak niskich stężeniach wydaje się całkowicie zrozumiały, bowiem cząsteczki antybiotyku „nie rozpraszają się” i nie „tracą aktywności” na inne „nieważne” enzymy występujące w komórce. Powinowactwo antybiotyków do określonych enzymów bakteryjnych wyjaśnia przyczynę ich niskiej toksyczności w stosunku do makroorganizmu - brak tam wrażliwych enzymów.

Poszczególne rodzaje antybiotyków charakteryzują się zdolnością hamowania określonego rodzaju przemian zachodzących w komórce bakteryjnej. Penicyliny, cefalosporyny, karbapenemy, monobaktamy czyli antybiotyki b-laktamowe, wykazują zdolność do blokowania procesów syntezy bakteryjnej ściany komórkowej. Podobne działanie wykazuje wan- komycyna, teikoplanina oraz inne glikopeptydy, jednak punkt uchwytu dla obu tych grup antybiotyków jest odmienny. Jest to przyczyna dla której obserwujemy brak krzyżowej oporności między antybiotykami b-laktamowymi i glikopeptydowymi.

Obecność makrolidów w komórce bakteryjnej, poprzez powinowactwo do rybosomów, prowadzi do zablokowania procesów syntezy białka. Podobnym, aczkolwiek nie identycznym

Antybiotykoopprofilaktyka w aspekcie zjawiska oporności drobnoustrojów

nym działaniem, odznaczają się antybiotyki aminoglikozydowe. Fluorochinolony natomiast, w przeciwieństwie do wymienionych grup, wpływają na przemiany kwasów nukleinowych. W końcowym efekcie działania każdego antybiotyku, oczekiwane jest zahamowanie wzrostu lub śmierć komórki bakteryjnej.

Świadomość, iż przeciwbakteryjna aktywność poszczególnych grup antybiotyków wynika z różnych mechanizmów działania, z klinicznego punktu widzenia jest bardzo istotna, pozwala bowiem na właściwy wybór leku w przypadku pojawienia się szczepów antybiotkoopornych.

Antybiotyki - zjawisko oporności

Cechy komórki bakteryjnej, w tym również potencjalne zdolności przystosowania, uwarunkowane są genetycznie. W trakcie licznych podziałów komórkowych kopiowanie materiału genetycznego nie zawsze przebiega bezbłędnie. Zdarza się, iż w komórce potomnej następuje zmiana w materiale genetycznym - mówimy wówczas, że komórka uległa mutacji. Częstość mutacji zawiera się w szerokim przedziale od 10^{-1} do 10^{-12} . Jest to jedna z przyczyn, że w potencjalnie, jednorodnie wrażliwej populacji bakteryjnej, można napotkać jedną z dziesięciu tysięcy lub jedną z biliona komórek charakteryzującą się brakiem wrażliwości na określony antybiotyk.

Znacznie częściej niż w chromosomie, geny oporności antybiotykowej zlokalizowane są w plazmidach. Plazmidy stanowią pozachromosomalny materiał genetyczny, którego wymiana między komórkami bakteryjnymi następuje bardzo łatwo i z dużą częstością. Procesy wymiany zachodzą nie tylko wśród komórek tego samego gatunku, ale dotyczą również gatunków znacznie nawet oddalonych w systematyce bakterii.

Zarówno w przypadku chromosomalnej jak i plazmidowej lokalizacji, efektem zmian genetycznych jest wzbogacenie populacji otaczających nas bakterii patogennych w szczepy charakteryzujące się brakiem wrażliwości na antybiotyki. Sytuacja taka nie byłaby szczególnie niepokojąca, gdyby nie wykorzystanie na tak szeroką skalę antybiotyków. Antybiotyki eliminują wrażliwą florę bakteryjną, w tym również drobnoustroje patogenne i jest to skutek przez nas oczekiwany. Natomiast skutkiem nieoczekiwanym czy wręcz niepożądanym jest sytuacja, kiedy w następstwie zastosowania antybiotyku, pozostają w środowisku (organizmie) nawet tylko pojedyncze, ale zdolne do namnażania się patogenne komórki bakteryjne. W miejsce wyeliminowanych komórek wrażliwych, właśnie takie komórki zasiedlają wolną niszę biologiczną, stając się równocześnie źródłem rozprzestrzeniania genów lekooporności.

Jak już wspomniano, zjawiska oporności na antybiotyki uniknąć się nie uda, natomiast nadzwyczaj ważne jest maksymalne zredukowanie jego rozmiarów. Nie ograniczymy zjawiska lekooporności:

- jeżeli materiał do badań mikrobiologicznych będzie niewłaściwie i niestarannie pobierany,
 - jeżeli warunki i czas transportu próbek będą nieprawidłowe,
 - jeżeli stosowane w laboratorium procedury postępowania diagnostycznego będą nienależyte,
 - jeżeli wynik badania mikrobiologicznego zostanie w klinice niewłaściwie zinterpretowany,
 - jeżeli nastąpi nieprawidłowy wybór antybiotyku,
 - jeżeli terapia przeciwbakteryjna będzie prowadzona nieprawidłowo.
- * Konsekwencje kliniczne tych nieprawidłowości, to negatywny efekt leczenia, konieczność zmian w dalszej terapii, wydłużony pobyt pacjenta w szpitalu, narażenie na zakażenie szpitalne.
- * Konsekwencje biologiczne niepowodzeń terapii, to wprowadzenie do środowiska kolejnej dawki antybiotyku, a tym samym możliwość dalszej selekcji szczepów lekoopornych ze wszystkimi tego następstwami.

Profilaktyka i leczenie

- * Konsekwencje ekonomiczne, to nie tylko podwyższony koszt stosowanych leków, wydłużonego pobytu w szpitalu, ale również koszt stosowania dodatkowo powtarzanych procedur diagnostycznych.

Antybiotyki - profilaktyka

Z prawie sześćdziesięcioletniej perspektywy czasu wynika bezdyskusyjnie, jednoznacznie pozytywna ocena klinicznych skutków wprowadzenia terapii antybiotykowej. Jednak w rezultacie postępowania leczniczego, biologiczne środowisko człowieka nieustannie zostaje wzbogacane ogromną ilością, niespotykanego w naturalnych warunkach w tak dużej masie, czynnika selekcyjnego. Szczególnie drastyczne tego efekty obserwujemy na oddziałach intensywnej terapii, gdzie wybór antybiotyku jest sprawą naprawdę niezwykle trudną. Przedstawione wyżej wywody wskazują na niebezpieczeństwo, iż profilaktyka antybiotykowa na skutek wprowadzenia dodatkowej ilości antybiotyku postawi nas przed ryzykiem zintensyfikowania procesów selekcji, a tym samym nasilenia zjawisk narastania oporności.

Niebezpieczeństwa wynikające z nadmiernego stosowania antybiotyków są przedmiotem zaniepokojenia licznych środowisk medycznych. Między innymi dało to impuls do opracowania wskazań profilaktycznego stosowania antybiotyków przez Amerykańskie Towarzystwo Kardiologiczne, Amerykańskie Towarzystwo Stomatologów oraz Amerykańską Akademię Ortopedów. Konieczne bowiem okazało się wypracowanie wspólnego stanowiska odnośnie rutynowego stosowania profilaktyki antybiotykowej u pacjentów z wszczepieniami stawów. Jest to jednocześnie odzwierciedleniem sytuacji wskazującej na niepokojąco szerokie stosowanie antybiotyków w profilaktyce oraz wzrastającej liczby dowodów naukowych i obserwacji klinicznych sygnalizujących związane z tym niebezpieczeństwo. W ramach wspólnego stanowiska, ustalono również, iż są tylko niewielkie podstawy lub ich całkowity brak do profilaktycznego stosowania antybiotyków stomatologii. Ryzyko nieodpowiedzialnego użycia antybiotyków i tym samym szerokiego rozprzestrzenienia oporności na antybiotyki jest daleko ważniejsze, niż jakiegokolwiek potencjalnie dostrzegalne korzyści [18].

W tym też duchu należy traktować szereg zgłoszonych zastrzeżeń dotyczących profilaktyki antybiotykowej w zaawansowanej marskości, w przypadku endoskopowych zabiegów podwiązania żyłaków przelyku. Uznaje się zasadność profilaktyki tylko w takim przypadku, kiedy wywiad wskazuje na przebyte zapalenie otrzewnej [11].

Liczne przykłady wskazują na bardzo korzystne efekty zastosowania profilaktyki antybiotykowej, jednak mając na uwadze wyżej przedstawione niebezpieczeństwa należy z naciskiem podkreślić, że ten rodzaj profilaktyki powinien odzwierciedlać faktyczną elegancję lekarskiego postępowania i wskazywać na finezyjność klinicznego sposobu myślenia. Nie może to być bezmyślny, rutyniarski sposób tylko mechanicznego postępowania, obliczony na krótkotrwałe, doraźne skutki.

Przykładem rozsądnego stosowania profilaktyki antybiotykowej mogą być niektóre rodzaje „czystych” zabiegów ortopedycznych. U pacjentów przed zabiegiem wymiany stawu kolanowego ograniczono się do lokalnego podawania teikoplaniny celem miejscowej profilaktyki antybiotykowej. 115 pacjentom do żyły udowej podawano w jednorazowej dawce 400 mg antybiotyku w 100 ml fizjologicznego roztworu soli z natychmiastowym założeniem mankieta uciskowego, wywołując ucisk do 400 mm Hg. W ten sposób zabezpieczano w miejscu zabiegu dostateczne stężenie antybiotyku. Niepożądanych efektów takiego działania nie stwierdzono. W 205 przypadkach wszczęcia protez, zarówno tuż po zabiegu jak i odległych - trwających 2 lata obserwacjach, tylko w jednym przypadku stwierdzono zakażenie w miejscu zabiegu, które uznano jako niepowodzenie profilaktyki [5].

Rozsądny sposób zastosowania profilaktyki antybiotykowej mogą ilustrować kolejne poniższe przykłady, wskazują one również przydatność profilaktyki w różnych dziedzinach medycyny.

Powikłania po wszczepieniu rozrusznika nie występują zbyt często, jednak przebieg ich jest bardzo ciężki. Zakażenia ran jak również zakażenia zlokalizowane w miejscu implantu nie przekraczają przy zastosowaniu najnowszych technik zabiegowych 0.5%, średnio natomiast stanowią 2%. Częstość przypadków posocznicy oraz zapalenia wsierdza jest niewielka – około 0.5%. Na czynniki ryzyka składają się: doświadczenie operujących, czas trwania zabiegu, konieczność wykonania powtórnego zabiegu. Ostatnio największym problemem są zakażenia w miejscu wszczepu. Najczęściej spotykany drobnoustrój to *Staphylococcus sp.* (75 do 92%). Obserwacje kliniczne wskazują, że *S. aureus* jest czynnikiem odpowiedzialnym za ostre infekcje (występują w okresie krótszym niż 6 tygodni), podczas gdy *S. epidermidis* kojarzony jest z infekcjami wtórnymi (czas powyżej 2 miesięcy). W miejscu lokalizacji rozrusznika powstają ropnie, może występować zapalenie wsierdza, reakcja odrzucenia wszczepionego materiału, jak również septyczne zatory, zapalenie żył. Stosowane leczenie to przeciwbakteryjna terapia dwoma antybiotykami i chirurgiczne usunięcie zakażonego materiału. Uwzględniając powagę problemu przeprowadzono badania z wykorzystaniem meta-analizy. Wniosek z tych badań jest następujący: najnowsze dane potwierdzają konieczność stosowania przedoperacyjnej profilaktyki antybiotykowej dla zapobiegania tym powikłaniom [4].

Zewnętrzny drenaż komór mózgowych, bardzo często spotykany u chorych na oddziałach neurochirurgicznych, wiąże się z powikłaniami o charakterze infekcyjnym. Dotyczą one 13% pacjentów. Śmiertelność w następstwie zakażeń wynosi 26%. W hodowli płynu mózgowo-rdzeniowego stwierdza się obecność normalnej lub przejściowej flory bakteryjnej znajdującej się na skórze pacjenta. Staranna i wnikliwa analiza zgonów oraz przypadków zakażeń wskazuje na konieczność: profilaktyki antybiotykowej przed zabiegiem, przygotowania sterylnego pola, delikatnej techniki operacyjnej, starannej opieki pielęgniarstwa, jak również profilaktyki antybiotykowej po zabiegu z uwzględnieniem badania lekowrażliwości [19].

Wrodzone choroby hematologiczne wymagają leczenia przeszczepem szpiku lub terapii genowej. Pomyślne efekty postępowania leczniczego odnotowano w przypadku uwzględniania w procedurach zarówno profilaktyki antybiotykowej jak również podawania g-interferonu [15].

Zabiegi endoskopowe często stanowią wskazanie do zastosowania profilaktyki antybiotykowej. Skuteczność takiego postępowania ilustruje następujący przykład. Poddano analizie dokumentację 168 pacjentów z przetoką żołądkową wykonaną przy wykorzystaniu metody endoskopii. Większość pacjentów przed i po zabiegu otrzymała profilaktycznie tetracyklinę z kwasem klawulanowym lub cefazolinę. Sześciu pacjentów (3.6%) wymagało dożylnego podania antybiotyku z racji zakażenia przetoki; u czterech z nich nie zastosowano przed zabiegiem profilaktyki antybiotykowej. Efektem natomiast zastosowania profilaktyki antybiotykowej było jedynie tylko kilka mało znaczących zakażeń miejscowych w okolicy przetoki [14].

Szczególne przydatność profilaktycznego stosowania antybiotyków może być obserwowana w przypadku zabiegów chirurgicznych wykonywanych w polu operacyjnym o bardzo dużym stopniu zanieczyszczenia drobnoustrojami. Celowe wydaje się przytoczyć wyniki kompleksowych obserwacji klinicznych dotyczących zabiegów chirurgicznych wykonanych na jelicie grubym.

Porównano efekty terapeutyczne w dwóch grupach pacjentów u których stosowano nieco różniący się sposób postępowania: pierwsza grupa pacjentów otrzymywała kanamycynę i metronidazol trzykrotnie w dniu poprzedzającym zabieg, cefmetazol podawano przez okres trzech kolejnych dni w obu grupach. Badania śródoperacyjne wymazów śluzówki jelita wykazały znamienne niższą częstość izolowania beztlenowców i bakterii Gram-ujemnych w grupie pierwszej. Różnica ta nie dotyczyła grzybów i bakterii Gram-dodatnich; częstość dodatnich posiewów była w obu grupach jednakowa. Również dodatnie posiewy płynu otrzewnowego były w pierwszej grupie rzadziej wykrywane w porównaniu

Profilaktyka i leczenie

z grupą drugą- odpowiednio 16% i 40% ($P < 0.05$). Zakażenia rany obserwowano w grupie pierwszej w 13%, natomiast w grupie drugiej w 18%. Należy zwrócić uwagę, iż drobnoustroje izolowane z rany różniły się profilem od tych, które izolowano z płynu otrzewnowego. Autorzy podkreślają, że dość krótki okres podawania antybiotyku zmniejsza ryzyko pojawienia się szczepów opornych. Zaobserwowano również, że częstość zakażeń po zabiegu jest porównywalna w obu grupach w przypadku, kiedy w grupie drugiej, doustnie podawano antybiotyk przez okres trzech dni po zabiegu [17].

Chorobą wymagającą profilaktyki antybiotykowej jest ostre zapalenie trzustki. Rozwój choroby następuje bardzo gwałtownie. Profilaktycznie podając antybiotyk unika się lub opóźnia, albo przynajmniej zmniejsza ryzyko wtórnej posocznicy. Wśród zakażających drobnoustrojów spotyka się najczęściej *E. coli*, *Klebsiella spp.*, *Staphylococcus spp.*, *Enterococcus spp.*, *Bacteroides spp.*, a również grzyby. Preferowane w przypadku profilaktyki antybiotyki, to imipenem, chinolony wraz z metronidazolem, możliwe jest również stosowanie penicylin o szerokim spektrum aktywności. W przypadku grzybów powinno się zagwarantować podawanie flukonazolu [8].

Z wynikiem pozytywnym profilaktykę antybiotykami stosuje się jako osłonę przeciw-infekcyjną zabiegów biopsji. Cyprofloksacynę i tynidazol podawano przed zabiegiem w ambulatoryjnych warunkach wykonywania biopsji prostaty. Na 330 badań, w jednym tylko przypadku wystąpiła u pacjenta przejściowa bakteriemia. Był to pacjent bez osłony profilaktycznej [16].

Z podobnych przyczyn u 53.8% pacjentek zastosowano profilaktykę antybiotykową przed biopsją w przypadku podejrzenia dysplazji szyjki macicy. Takie postępowanie zmniejszało ryzyko powikłań infekcyjnych po zabiegu [9].

W randomizowanych badaniach stwierdzono, że dopochwowe profilaktyczne zastosowanie kremu zawierającego 2% klindamycyny zmniejsza częstość przedwczesnych, samoistnych porodów w grupie kobiet w ciąży ze zwiększonym ryzykiem poronienia [13].

Bardzo często spotyka się u kobiet w ciąży bezobjawową bakterię. Najczęściej występującym czynnikiem jest *E. coli*. Niebezpieczeństwo powikłań to *cystitis* i *pyelonephritis*. Konieczne są w tym wypadku badania przeglądowe i zależnie od ich wyniku odpowiednia profilaktyka antybiotykowa. Kobiety u których stwierdzono obecność drobnoustrojów *Streptococcus* grupy B powinny otrzymywać profilaktycznie antybiotyki podczas porodu [6].

Szczególnie ważną dziedziną zastosowania profilaktyki antybiotykowej jest chirurgia plastyczna. O negatywnym znaczeniu zakażenia rany pooperacyjnej w tym wypadku wydaje się nie celowe wspominać. Niezwykle ważnym problemem jest wybór właściwego zestawu antybiotyków pozwalających wyeliminować potencjalnie patogenną florę bakteryjną. W przytoczonych obserwacjach pacjenci otrzymywali cefaleksynę lub cyprofloksacynę 7 dni po zabiegu. Druga grupa pacjentów poza cyprofloksacyną dodatkowo otrzymywała 300 mg flukonazolu w 3 - 8 dniu po zabiegu. W obu leczonych grupach podawano przed i po zabiegu acyklowir. Zaobserwowano, iż 95% pacjentów z grupy drugiej wyzdrowiało całkowicie po dziewięciu dniach w porównaniu z 53% grupy pierwszej. Autorzy uważają, że zastosowanie flukonazolu sprzyja procesom reepitelizacji podczas laserowego leczenia zmarszczek [3].

Podany profilaktycznie antybiotyk powinien penetrować do tkanek, gdzie w następstwie zabiegu potencjalnie może lokalizować się ognisko zakażenia. Konieczne jest w tym wypadku przestrzeganie pewnego reżimu czasowego. Pacjentki po mastektomii z powodu raka piersi, przed zabiegiem rekonstrukcji piersi, otrzymywały dożylnie wankomycynę w pojedynczej dawce 1.0 g na 1 - 8 godzin przed zabiegiem. Pomiar obecności antybiotyku w tkance w miejscu zabiegu, przy zastosowaniu metody HPLC pozwolił wykazać, że w pierwszych trzech godzinach poziom antybiotyku był niewykrywalny. Dopiero w 4 - 8 godzinie, średnie stężenie antybiotyku w miejscu zabiegu, było równe lub wyższe od stężenia granicznego dla drobnoustrojów i wynosiło 4 - 11.1 mg/kg. Stężenie graniczne jest równe 4 mg/L [12].

Antybiotyko profilaktyka w aspekcie zjawiska oporności drobnoustrojów

W nawiązaniu do z powyższego, przekornie warto przytoczyć obserwacje pochodzące z Montfermeil Hospital Center z Francji. Poddano analizie przypadki 93 pacjentów chirurgicznych. Zastosowanie profilaktyki antybiotykowej odnotowano w 59.1%. W 68.2% zostały w pełni uwzględnione wcześniej opracowane wskazania zawierające takie elementy jak: konieczność profilaktyki, rodzaj użytego leku, dawkowanie, czas podawania antybiotyku przed zabiegiem, czas stosowania leku. Okazało się, że najmniej przestrzegany element przyjętych ustaleń był zalecany czas pierwszego podania antybiotyku [10].

Problemy profilaktyki antybiotykowej należy rozpatrywać nie tylko w aspekcie korzyści klinicznych, niemniej ważnym momentem są również koszty leczenia. Z racji sprzecznych zaleceń dotyczących podawania antybiotyków jako osłony profilaktycznej pacjentów poddawanych zabiegowi gastrostomii endoskopowej, dokonano odpowiedniej analizy ekonomicznej i klinicznej. Średni koszt zastosowanej w każdym przypadku profilaktyki antybiotykowej wyliczono na 13.10\$. Natomiast wynikająca z tego tytułu oszczędność, to 76.72\$ z racji obniżenia częstości powikłań wymagających interwencji chirurgicznej do nieprawdopodobnie niskiej wartości 0.09% [7].

Pacjentom przed zabiegami urologicznymi podawano profilaktycznie cefazolinę lub cyprofloksacynę. Infekcje dróg moczowych po zabiegach odnotowano u 9.1% wśród pacjentów otrzymujących cyprofloksacynę oraz 10.0% otrzymujących cefazolinę ($P = 0.77$). W żadnym przypadku nie odnotowano posocznicy ani konieczności leczenia szpitalnego z powodu powikłań infekcyjnych. Całkowity koszt profilaktyki cyprofloksacyną był dla 50 pacjentów o 3657\$ niższy, niż dla 50 pacjentów otrzymujących cefazolinę. Uzasadnia to nie tylko celowość stosowania profilaktyki, ale również wskazuje na konieczność wyboru leku nie tylko w aspekcie skuteczności klinicznej, ale również trafności ekonomicznej [2].

Rozmiar zjawiska antybiotykooporności oraz skala problemów z tym związanych ujawniają naszą ogromną niewiedzę w tej dziedzinie. Dotyczy to również niektórych procesów warunkujących prawidłowe funkcjonowanie naszego organizmu, a będących w części rezultatem subtelnych zależności wynikających z obecności odpowiedniego profilu drobnoustrojów, określanych mianem fizjologicznej flory bakteryjnej. Pod wpływem antybiotyków skład jej ulega poważnej destrukcji. Biorąc powyższe pod uwagę i oceniając rzecz historycznie, wydaje się iż erę antybiotyków, w tym również profilaktykę antybiotykami, należy traktować jako okres przejściowy. Wraz z coraz lepszym poznawaniem znaczenia fizjologicznej flory zasiedlającej nasz organizm, należy oczekiwać iż w miejsce profilaktycznego stosowania antybiotyków, możliwe będzie postępowanie biologicznie rozsądniejsze. Zdają się na to wskazywać obserwacje z zastosowaniem drobnoustrojów *Lactobacillus spp.* w profilaktyce i leczeniu *bacterial vaginosis*, *vaginitis* oraz zakażeń układu moczowego. Celem takiego postępowania jest wstawienie „fizjologicznej protezy” zapobiegającej namnażaniu się flory patogenicznej, aż do momentu unormowania się stanu fizjologicznego. Takie postępowanie wydaje się mieć szczególne znaczenie u kobiet w ciąży oraz u pacjentów z częstymi nawrotami infekcji układu moczowo-płciowego, zwłaszcza wywołanego szczepami lekoopornymi [1]. Nie można wykluczyć, że podobny rodzaj postępowania mógłby również znaleźć zastosowanie w innych dziedzinach medycyny.

Piśmiennictwo

- 1- Barbes C., Boris S.: AIDS Patient Care STDS, 1999, 13, 747-51
- 2- Christiano A. P., Hollowell C. M., Kim H. i wsp.: Urology 2000, 55, 182-5
- 3- Conn H., Nanda V. S.: Lasers Surg. Med. 2000, 26, 201-7
- Da Costa A., Kirkorian G., Isaaq K. i wsp.: Rev. Med. Interne. 2000, 21, 256-65
- 5' de Lalla F. i Viola R., Pellizzer G. i wsp.: Antimicrob. Agents Chemother. 2000, 44, 316-9
- 6- Delzell J., E. Jr., Lefevre M. L.: Am. Fam. Physician. 2000, 61, 713-21
- Kulling D., Sonnenberg A., Fried M. i wsp.: Gastrointest. Endosc. 2000, 51, 152-6

Profilaktyka i leczenie

8. Laws H. L., Kent R. B.: Am. Surg. 2000, 66, 145-52
9. Lee K. E., Koh C. F., Watt W. E: Singapore Med. J. 1999, 40, 694-6
10. Lefflot S., Lesquelen A., Blot P. i wsp.: Pathol. Biol. Paris. 1999, 47, 1071-4
11. Lin O. S., Wu S. S., Chen Y.Y.: Am. J. Gastroenterol. 2000, 95, 214-7
12. Luzzati R., Sanna A., Allegranzi B. i wsp.: J. Antimicrob. Chemother. 2000, 45, 243-5
13. Mason M. R., Adrinkra P.E., Lamont R.F.: Br. J. Obstet. Gynaecol. 2000, 107, 295-6
14. Nicholson F. B., Korman M. G., Richardson M. A.: J. Gastroenterol. Hepatol. 2000, 15, 21-5
15. Nunoi H., Ishibashi F.: Hum. Cell. 1999, 12, 103-8
16. Smart R.: N. Z. Med. J. 1999, 112, 465-9
17. Takesue Y., Yokoyama T., Akagi S. i wsp.: Surg. Today. 2000, 30, 112-6
18. Tong D. C., Rothwell B. R.: J. Am. Dent. Assoc. 2000, 131, 366-74
19. Zingale A., Ippolito S., Pappalardo P. i wsp: J. Neurosurg. Sci. 1999, 43, 125-32

Chemioprofilaktyka zakażeń grzybami drożdżopodobnymi

Franciszek Seneczko

Klinika Dermatologiczna IMW WAM

Spośród 196 opisanych gatunków grzybów drożdżopodobnych z rodzaju *Candida* (C.) właściwości patogenne wykazuje kilkanaście. Należą do nich: *C. albicans* (włączając *C. stellatoidea*), *C. catenulata* (*C. brumptii*), *C. guilliermondii*, *C. kefyr* (*C. pseudotropicalis*), *C. kru-sei*, *C. lusitanae*, *C. parapsilosis*, *C. pulcherrima*, *C. tropicalis*, *C. zeylanoides*, *C. dattilla* (*Torulopsis dattilla*), *C. formata* (*Torulopsis Candida*), *C. glabrata* (*Torulopsis glabrata*), *C. inconspicua* (*Torulopsis inconspicua*), *C. utilis* i *C. intermedia*. Najczęstszym izolatem z różnych materiałów biologicznych (50-70%) jest *C. albicans* (14, 18, 21) z wyjątkiem zdrowej skóry, gdzie, w odróżnieniu od *C. parapsilosis* i *C. guilliermondii*, występuje rzadko. Również rzadko, w odróżnieniu od *C. tropicalis* i *C. parapsilosis*, występuje w środowisku zewnętrznym człowieka - w glebie i na roślinach. Zakażenie *C. albicans* ma zatem najczęściej charakter endogenny - wywodzi się z jamy ustnej i przewodu pokarmowego (21).

Grzyby drożdżopodobne jako czynniki kolonizujące (zasiedlające) są częstymi składnikami różnych ontocenoz zdrowego makroorganizmu; u około 10-50% ludzi występują w jamie ustnej, u 30% w przewodzie pokarmowym, do 5% na skórze, a także u 10-42% zdrowych kobiet w pochwie.

Oportunistyczne grzyby drożdżopodobne nie wywołują zakażenia (kandydiazy) w warunkach fizjologicznych. Do zakażeń endogennych, czyli wywołanych przez grzyby z rodzaju *Candida* stale bytujące w organizmie człowieka w postaci blastosporów, dochodzi w warunkach zaburzeń mechanizmów obronnych makroorganizmu lub też zaburzeń lokalnych warunków środowiskowych umożliwiających proliferację grzybów (14). Do rozwoju zakażeń mogą usposabiać (19):

1. Czynniki immunologiczne:
 - zaburzona funkcja (liczba) limfocytów T i jednojądrzastych fagocytów (AIDS, choroba Hodgkina, chemioterapia),
 - zaburzona funkcja (liczba) wielojądrzastych granulocytów obojętnochłonnych (PMNL) oraz niedobór peroksydazy (ostra białaczka, napromienienie, chemioterapia),
 - zaburzona funkcja układu siateczkowo-śródbłonkowego (wrodzony brak lub defekt śledziony, splenektomia).

Chemioprofilaktyka zakażeń grzybami drożdżopodobnymi

2. Chemioterapia i radioterapia - zabiegi zmieniają skład flory endogennej i obniżają przeciwniebezpieczną obronę gospodarza (cytostatyki, leki immunosupresyjne, kortykosteroidy, antybiotyki).
3. Uszkodzenie pierwszej linii obrony poprzez przerwanie ciągłości tkanek - urazy skóry i błon śluzowych (punkcje, wkłucia dożylna, nakłucia, cewnikowanie pęcherza, zgłębnikowanie przełyku, wrzód żołądka i dwunastnicy, protezy stomatologiczne).
4. Zabiegi chirurgiczne i związane z nimi wprowadzenie do tkanek i naczyń narządów i protez (operacje - sztuczne zastawki - serca, przewodu pokarmowego, ginekologiczne, transfuzje, intubacja, tracheostomia, endoskopia).
5. Sposób odżywiania (nadmiar lub niedobór składników odżywczych, nadmiar węglowodanów, niedobory witaminowe).
6. Inne:
 - choroby idiopatyczne i infekcyjne (zaburzenia endokrynologiczne, zakażenia bakteryjne),
 - czynniki fizjologiczne (podeszły wiek, ciąża, okres noworodkowy).

Naturalny rozwój infekcji grzybami drożdżopodobnymi w przebiegu zakażenia HIV (od osób HIV dodatnich do pełnoobjawowego AIDS) wyraża się możliwością wystąpienia kandydiazy powierzchniowej i jej rozszerzenia w kierunku kandydiazy głębokiej (układowej).

I. Kandydiaza powierzchniowa:

1. Zapalenie drożdżakowe jamy ustno-gardłowej
Jest jednym z najczęstszych i najwcześniejszych zakażeń oportunistycznych (pełnoobjawowy AIDS rozwija się zwykle po 3 latach od wystąpienia drożdżycy jamy ustnej). W zależności od fazy rozwoju procesu podstawowego (osoby HIV dodatnie - AIDS) obejmuje 45-95 % chorych. Może przybierać postaci: 1) rzekomobłoniastą (pleśniawki); 2) przerostową; 3) zanikowo-rumieniową; 4) zapalenia kąćców ust. Zakażeniu często towarzyszy kandydiaza pochwy, a samo zakażenie może szerzyć się na przełyk. Głównym czynnikiem etiologicznym jest *C. albicans*, w zaawansowanych stadiach choroby podstawowej - również *C. krusei*, *C. glabrata* i inne (6, 18, 21).
2. Zapalenie drożdżakowe sromu i pochwy
Choroba jest poprzedzana pleśniawkami. Wraz z rozwojem AIDS przybiera postać przewlekłą i trudną do leczenia (11). W 70-95 % wywołuje ją *C. albicans*, w pozostałych przypadkach - *C. glabrata*, *C. krusei*, *C. kefyr*, *C. parapsilosis* i *C. tropicalis* (18, 21).
3. Drożdżycza skóry
Występuje pod różnymi postaciami klinicznymi: 1) drożdżycza wyprzeniowa fałdów skórnych; 2) wyprzenie drożdżakowe nadżerkowe międzypalcowe; 3) drożdżycza mieszków włosowych. Na skórze gładkiej występuje rzadko. Towarzyszy około 10 % chorym z neutropenią i kandydiazą rozsianą głęboką. Najczęstszym czynnikiem etiologicznym jest *C. albicans* (2, 12, 21).
Drożdżycza paznokci i wałów paznokciowych
Występuje rzadko, głównie w obrębie paznokci rąk. wywołana jest najczęściej przez *C. albicans* i *C. parapsilosis* (12, 21).

II. Kandydiaza głęboka:

Stanowią ją oportunistyczne infekcje przebiegające ostro lub przewlekłe, ograniczające się do jednego narządu lub uogólnione (kandydiaza rozsiana). Do zakażenia dochodzi naj-

częściej na drodze endogennej - z jamy ustnej i krtani

Drożdżakowe zapalenie jamy ustnej stanowi fazę przejściową pomiędzy kandydiazą powierzchniową a głęboką. Współistnieje lub jest poprzedzona pleśniawkami jamy ustnej (6).

Profilaktyka i leczenie

2. Kandydiaza przelyku

Czynnikami etiologicznymi są: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. parapsilosis*, *C. glabrata*, *C. lusitaniae* i *C. krusei* (21). Dotyczy około 10 % chorych z AIDS (15). Czynniki sprzyjającymi rozwojowi są nadżerki i owrzodzenia występujące w przebiegu infekcji wywołanych przez wirusy opryszczki, cytomegalowirusy i mycobakterie (5) lub powstające w trakcie leczenia (zidovudine) mięsaka Kaposiego (8). Występuje rzadko bez wcześniejszego zajęcia jamy ustnej (21).

3. Kandydiaza przewodu pokarmowego: 1) żołądka i dwunastnicy; 2) jelit Towarzyszy lub jest następstwem ekstensywnej kandydiazy przelyku (6). Jest często bezobjawowa i rzadko rozpoznawana przyżyciowo. Cechuje się owrzodzeniami błony śluzowej, których perforacja prowadzi do rozsiania się zakażenia (21).

4. Kandydiaza tchawicy, oskrzeli i płuc

Występuje u około 3% chorych z AIDS. Najczęściej rozwija się w wyniku rozsiewu zakażenia drogą krwionośną, sama również może być przyczyną groźnych dla życia grzybic uogólnionych. Jest rzadko rozpoznawana przyżyciowo (6, 21).

5. Kandydiaza ośrodkowego układu nerwowego: 1) opon; 2) mózgu i opon; 3) ropnie mózgu

Wśród zakażeń mózgowych u chorych z AIDS wymienione postacie kandydiazy ośrodkowego układu nerwowego zajmują czwarte miejsce (po toksoplazmozie, gruźlicy i kryptokokozie) (22). Najczęstszym czynnikiem etiologicznym jest *C. albicans*, poza tym - *C. krusei*, *C. pseudotropicalis* i *C. tropicalis*. Kandydiaza mózgu i opon oraz ropnie mózgu są następstwem zakażenia krwiopochodnego. Ropnie mózgu są rzadko rozpoznawane przyżyciowo (1).

6. Kandydiaza wsierdza i mięśnia sercowego

Czynnikami etiologicznymi kandydaizy wsierdza są *C. albicans* oraz *C. tropicalis* i *C. parapsilosis*. Zapalenie mięśnia sercowego, z możliwością powstania ropni, stanowi zwykle powikłanie zapalenia wsierdza (13, 21).

7. Kandydiaza wątroby i śledziony

Zakażenie wywołane przez *C. albicans*, rzadziej *C. tropicalis*, występuje u chorych z neutropenią (21).

8. Kandydiaza stawów

Wywołwana jest przez *C. albicans*, rzadziej przez *C. krusei*. Rozwija się w przebiegu kandydemii (17).

9. Kandydiaza naczyń i siatkówki oraz rogówki

Jest częstym powikłaniem infekcji grzybiczej w OUN (10).

10. Kandydiaza rozsiana

Stanowi postać wielonarządową infekcji grzybiczej o piorunującym i niepomysłnym przebiegu (21).

Chorzy z nowotworami stanowią drugą grupę podwyższonego ryzyka. Inwazyjne infekcje grzybicze występują u 5% chorych z guzami litymi, 10-15% chorych z chłoniakami i około 20% chorych z białaczką lub po przeszczepie szpiku (4). Za występowanie infekcji grzybami drożdżopodobnymi w tej grupie chorych odpowiadają: 1) różnokierunkowe defekty immunologiczne wywołane chorobą zasadniczą i stosowaną terapią; 2) długotrwała neutropenia (neutrofile $< 500 \times 10^9 / \text{ml}$ dłużej niż 20 dni); 3) zmiana endogennej flory bakteryjnej (antybiotykoterapia); 4) stosowanie kateterów; 5) dożylnie podawanie leków i odżywianie. Czynnikiem etiologicznym jest głównie *C. albicans* (4, 18).

Występowanie zakażeń grzybiczych w chirurgii związane jest głównie z używanymi narzędziami oraz wprowadzanymi do ustroju protezami. Do zakażeń predysponują szczególnie zabiegi na otwartym sercu (wymiana zastawek), transplantacja narządów, operacje przewodu pokarmowego oraz związane z zabiegami chirurgicznymi postępowanie ogólne - antybiotykoterapia, transfuzje krwi, odżywianie dożylnie, tracheotomia i oddech wspomagany. Do czynników sprzyjających powstawaniu posocznicy drożdżakowej zaliczono:

1) szerokowidmową antybiotykoterapię – 100%; 2) inwazyjne monitorowanie – 100%; 3) stany po zabiegach operacyjnych – do 64%; 4) stany po endoskopii – do 45%; 5) sterydoterapia – do 36%. Najczęstszymi patogenami u chorych chirurgicznych są: *C. albicans*, *C. tropicalis*, *C. glabrata*, *C. parapsilosis* i *C. krusei* (18).

Dotycząca wyżej wymienionych stanów klinicznych chemiopprofilaktyka zakażeń grzybami drożdżopodobnymi jest zagadnieniem trudnym, nie do końca zdefiniowanym i w wielu przypadkach kontrowersyjnym. Wchodzi ona w skład ogólnego pojęcia „profilaktyka zakażeń grzybiczych” i odnosi się do prewencyjnego stosowania leków przeciwgrzybiczych. Zabiegi chemiopprofilaktyczne wymagają szczegółowego rozważenia korzyści i ryzyka, często w warunkach konieczności ich stosowania.

Konieczność chemiopprofilaktyki wynika ze znaczącego w ostatnich latach wzrostu przedstawionych wyżej zakażeń jatrogennych, prowadzących na ogół do ciężkich stanów klinicznych z ryzykiem zejścia śmiertelnego włącznie. Rozpatrując naturalny rozwój zakażeń jatrogennych, chemiopprofilaktykę można podzielić na: 1) selektywne i/lub całkowite odkażanie (dekontaminację); 2) chemiopprofilaktykę miejscową; 3) chemiopprofilaktykę uogólnionego procesu grzybiczego; 4) chemiopprofilaktykę wtórną (25).

Selektywne i/lub całkowite odkażanie jest formą chemiopprofilaktyki doustnej mającej na celu eradykację grzybów z rodzaju *Candida* kolonizujących błony śluzowe jamy ustno-gardłowej i przewodu pokarmowego. Podstawą tej fazy chemiopprofilaktyki stanowi podawanie leków przeciwgrzybiczych w stadium kolonizacji, a jej efekt jest wypadkową interakcji pomiędzy oddziaływaniem śliny, kwasu żołądkowego, bakterii, grzybów drożdżopodobnych, antybiotyków i preparatów przeciwgrzybiczych. Z rekomendowanych leków przeciwgrzybiczych wymienia się amfoterycynę B, nystatynę, klotrimazol, a także pędzlowanie jamy ustnej roztworem jodiny (20, 25).

Amfoterycyna B podawana doustnie w postaci zawiesiny (1200 mg/d) lub tabletek (1600 mg/d) może wywierać oczekiwane działanie przeciwgrzybicze, jednakże przy dłuższym stosowaniu wywołuje niepożądane objawy gastryczne (nudności, wymioty, biegunka). Objawy uboczne są mniej nasilone przy podawaniu dożylnym, jednak w tym przypadku efekt eliminacji grzybów z przewodu pokarmowego jest niezadowalający (20, 25).

Próby stosowania nystatyny w zawieszynie lub drażetkach, w dawkach 2×10^6 – 30×10^6 j., oceniane są różnie. Niższe dawki nie kontrolują rozwoju flory grzybiczej w przewodzie pokarmowym, wyższe – nie są tolerowane; występują burzliwe objawy żołądkowo-jelitowe. Poza tym, nie udowodniono, że nystatyna zapobiega rozsiewowi kandydiazy u chorych z neutropenią (20, 25).

Stosunkowo dobrze jest tolerowany klotrimazol. Aplikowany w niektórych krajach w postaci 10 mg globulek (rozpuszczają się w ciągu 30 minut) wykazuje zadowalające oddziaływanie powierzchniowe, jednakże również nie zapobiega skutecznie krwiopochodnemu rozsiewowi infekcji (20, 25).

Chemiopprofilaktyka miejscowa odnosi się głównie do zakażeń grzybami pleśniowymi i nie wchodzi w zakres pracy.

Z kolei w chemiopprofilaktyce uogólnionego procesu grzybiczego najczęściej stosowanymi lekami są amfoterycyna B oraz pochodne azolowe: ketokonazol, mikonazol i flukonazol.

Amfoterycyna B wykazuje najszersze spektrum przeciwgrzybicze, ale też – w tej fazie profilaktyki podawana dożylnie – jest obciążona najcięższymi działaniami ubocznymi: żołądkowo-jelitowymi i nefrotoksycznymi. W związku z tym prowadzi się szerokie badania dotyczące dawek leku. Proponuje się dawki 0,1–0,2 mg/kg/d lub 1,5 mg/kg/d, albo też $3 \times$ w tygodniu w dawce 0,5 mg/kg. Poza tym testuje się klinicznie nowe formy leku, takie jak AmBisome (frakcja liposomalna), ABLC, ABCD oraz formę intralipidową; mają one pozwalać na zwiększenie dawek u chorych z neutropenią. Prewencyjna wartość amfoterycyny B jest jednak nadal kontrowersyjna (24, 25).

Pośród pochodnych imidazolowych ketokonazol był pierwszym lekiem zastosowanym w celach profilaktycznych. Zmniejsza on kolonizację błon śluzowych przez grzyby drożdżo-

Profilaktyka i leczenie

podobne, co ma szczególne znaczenie w zapobieganiu infekcji jamy ustno-gardłowej. W trakcie dłuższego stosowania może jednak wyselekcjonować odporne i patogenne szczepy *C. glabrata*. Absorpcję leku redukuje jednoczesne stosowanie cymetydyny, rifampicyny i isoniazydu. Obserwowano antagonizm pomiędzy ketokonazolem i amfoterycyną B oraz interakcję z cyklosporyną. Szerokie stosowanie ketokonazolu w profilaktyce jest jednak ograniczone jego toksycznością (16, 25).

Ograniczenie w doustnym stosowaniu mikonazolu stanowiącym jedynie 25-30% absorpcja z przewodu pokarmowego. Podawany dożylnie u chorych z neutropenią, u których są stosowane antybiotyki, zmniejsza nasilenie kandydemii (9, 26).

Kolejną pochodną azolową stosowaną w chemioprophylaktyce zakażeń grzybami drożdżopodobnymi jest itraconazol, w znacznym stopniu wychwytywany przez tkankę tłuszczową. Biodostępność itraconazolu zależy od pH kwasu żołądkowego, stanów zapalnych błony śluzowej przewodu pokarmowego, biegunki, a także od reakcji przeszczep przeciwko gospodarzowi (GUHD). Ponieważ jest dostępny tylko w formie doustnej, warunkiem stosowania jest możliwość połknięcia. W przeciętnej dawce dobowej 200 mg wykazuje szerokie spektrum działania. Ograniczenie mogą stanowić objawy uboczne ze strony przewodu pokarmowego - nudności i wymioty (23, 25).

Najbardziej przydatnym w chemioprophylaktyce zakażeń grzybami drożdżopodobnymi okazał się flukonazol. Jest to pochodna azolowa rozpuszczalna w wodzie, szybko absorbowana z przewodu pokarmowego, a długi czas działania (24-36 godzin) pozwala na jedną dawkę dziennie. Wchłanianie nie zależy od stanu soku żołądkowego. Jedynym ograniczeniem może być niewydolność nerek, bowiem preparat w 80% jest przez nie wydalany, a także interakcja z cyklosporyną. Przeciętna, choć w dalszym ciągu dyskutowana, profilaktyczna dawka dobowo flukonazolu wynosi 50-400 mg dla dorosłych i 1-4 mg/kg dla dzieci (25).

Flukonazol stosowano prewencyjnie w przeszczepach szpiku. Dzienna dawka doustna wynosiła 100-200 mg lub dożylna, w innej grupie chorych, 100-400 mg. Przed przeszczepem szpiku lek podawano przez 18-410 (mediana 21) dni i po przeszczepie kontynuowano przez 9-546 (mediana 52) dni. Mimo tak długiego okresu stosowania eradykacja wywołanych przez *C. albicans* zakażeń jamy ustnej, narządów płciowych oraz błony śluzowej żołądka i jelit wynosiła 70% (20).

Flukonazol może poza tym selekcjonować odporne gatunki *Candida* (*C. glabrata*, *C. krusei*), które z kolei mogą wywoływać infekcje o ciężkim przebiegu, zwłaszcza w warunkach cytotoksycznego uszkodzenia błony śluzowej lub równoczesnego podawania preparatów zobojętniających sok żołądkowy (7).

W chemioprophylaktyce zakażeń grzybami drożdżopodobnymi u chorych z obniżoną odpornością, poza stosowaniem wyżej wymienionych preparatów przeciwgrzybiczych, rozpatruje się możliwości oddziaływania immunomodulującego z udziałem czynników hemo- topoetycznych stymulujących wytwarzanie neutrofilii/makrofagów (czynnik stymulujący granulocyty/makrofagi - GM-CSF, czynnik stymulujący granulocyty - G-CSF, czynnik stymulujący makrofagi - M-CSF) oraz czynników mogących poprawić naturalną obronę przeciwgrzybiczą (interferon gamma - INF- γ). To postępowanie, wymagające dalszych badań, może wyznaczyć nowy kierunek profilaktyczny (3, 25).

Osobne zagadnienie stanowi tzw. profilaktyka wtórna. Odnosi się ona do chorych z wcześniejszymi zakażeniami grzybiczymi, u których po leczeniu preparatami antyneoplastycznymi może dochodzić do reaktywacji procesu grzybiczego. Ocenia się, że reaktywacja dotyczy 50% chorych. W profilaktyce wtórnej stosuje się preparaty i metody wyżej opisane.

Piśmiennictwo

1. Anders K.H., Guerra W.F., Tomiyasu U. i in.: *Am. J. Pathol.*, 1986, 124, 537-558.
2. Baran E.: W: Baran E. (red.): *Zarys mikologii lekarskiej. Volumed*, Wrocław 1998, 329-342.

Osiągnięcia ostatnich lat w zakresie szczepionek

3. Bodey G.P., Anaissie E., Gutterman J. i in.: Clin. Infect. Dis. 1993, 17, 705-707.
4. Bodey G.P., Bueltmann H., Duguid W. i in.: Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1992, 11, 99-109.
5. Conolly C.M., Hawkins D., Harcourt-Webster I.N. i in.: Gut, 1989, 30, 1033-1039.
6. Daar E.S., Meyer R.D.: Med. Clin. N. Am., 1992, 76, 173-203.
7. Denning D.W.: J. Infect., 1994, 28, 25-33.
8. Edwards P., Turner J., Gold J. i in.: Ann. Intern. Med., 1990, 112, 65-66.
9. Hathorn J.W.: Hem. Oncol. Clin. N. Am., 1993, 7, 1051-1099.
10. Heinemann M.H., Bloom A.E., Horowitz J.: Arch. Ophthalmol., 1987, 105, 1172-1173.
11. Iman N., Carpenter C.C.J., Mayer K.H. i in.: Am. J. Med., 1990, 89, 142-146.
12. Kaplan M.H., Sadick N., McNutt N.S. i in.: Am. Acad. Dermatol., 1987, 16, 485-506.
13. Lewis W.: Prog. Cardiovasc. Dis., 1989, 32, 207-215.
14. Macura A.B.: W: Baran E. (red.): Zarys mikologii lekarskiej. Volumed, Wroclaw 1998, 289-296, 297-310.
15. Malebranche R., Arnoux E., Guerin J.M. i in.: Lancet, 1983, 2, 873-877.
16. Meunier F.: Rev. Infect., 1987, 9, 408-416.
17. Meyer R.D., Gaut P.L.: Scand. J. Infect. Dis., 1990, 22, 607-610.
18. Niczyporuk W., Krajewska-Kulak E.: W: Baran E. (red.): Zarys mikologii lekarskiej. Volumed, Wroclaw 1998, 465-496.
19. Odds F.C.: Candida and Candidiasis. Leicester University Press, U.K., 1979.
20. Quabeck K., Muller K.D., Beelen D.W. i in.: Mycoses, 1992, 35, 221-224.
21. Richardson M.D., Warnock D.W.: Grzybnice - rozpoznawanie i leczenie. Springer PWN, Warszawa 1995.
22. Struillon L., Raffi F.: Rev. Prat., 1994, 44, 2187-2194.
23. Todeschini G., Murari C., Bonese R. i in.: Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1993, 12, 614-618.

Osiągnięcia ostatnich lat w zakresie szczepionek

Janusz Ślusarczyk

Zakład Badania Surowic i Szczepionek, Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

Wstęp

Osiągnięcia ostatnich lat w zakresie szczepionek są związane zarówno z wprowadzaniem nowych rodzajów szczepionek dotychczas stosowanych – w tym również nowych kombinacji szczepionek skojarzonych zawierających wcześniej znane monowalentne komponenty, jak i z wprowadzaniem nowych szczepionek i wydłużaniem w ten sposób listy chorób, którym można zapobiegać szczepieniami. Wiele preparatów znajduje się w fazie badań doświadczalnych i należy przypuszczać, że część z nich zostanie w przyszłości wprowadzona do praktyki. Do osiągnięć ostatnich lat w technologii produkcji szczepionek należy zaliczyć nowe sposoby uzyskiwania szczepionek oraz nowe sposoby prezentacji antygenów szczepionkowych. Przedstawiony poniżej przegląd dotyczy wymienionych zagadnień, a jego celem – oprócz przybliżenia Czytelnikowi aktualnego stanu wiedzy – jest usystematyzowanie tych problemów.

Profilaktyka i leczenie

Nowe rodzaje dotychczas stosowanych szczepionek

Przez nowe rodzaje dotychczas stosowanych szczepionek należy rozumieć zastąpienie już istniejącej szczepionki innym, nowym preparatem. Dotyczy to zarówno szczepionek monowalentnych, jak i skojarzonych. W ostatnich latach można było zaobserwować wprowadzenie nowych rodzajów dotychczas stosowanych szczepionek zwłaszcza wśród szczepionek przeciwkrztuścowych i przeciw wirusowemu zapaleniu wątroby typu B (wzw B). Zastąpienie istniejącej szczepionki nowym preparatem nie zawsze prowadzi do wycofania poprzedniej, co ma na przykład miejsce w odniesieniu do współistniejących na rynku szczepionek przeciwkrztuścowych pełnokomórkowych i bezkomórkowych, lecz w tym przypadku - oprócz różnic w immunogenności pomiędzy niektórymi preparatami - istotna jest również kwestia dużej różnicy w cenie obu szczepionek. Bowiem wprowadzenie w przypadku szczepionek przeciw wzw B preparatów nowej generacji, uzyskiwanych drogą rekombinacji genetycznej, spowodowało zaprzestanie produkcji szczepionek plazmatycznych.

Spośród szczepionek monowalentnych chyba największy przełom stanowiło opracowanie nowej koncepcji i technologii produkcji rekombinowanych szczepionek przeciw wzw B, które od końca lat osiemdziesiątych są powszechnie stosowane na całym świecie. Wyjątkiem są kraje wciąż produkujące szczepionkę plazmatyczną, jak np. Chiny, lecz w tym przypadku można przypuszczać, że za utrzymaniem produkcji przeważają argumenty liczebności populacji kraju oraz kosztów zakupu bądź uruchomienia produkcji szczepionki nowszej generacji.

W zakresie szczepionek skojarzonych chyba największy przełom stanowiło opracowanie bezkomórkowej szczepionki przeciwkrztuścowej. Wprawdzie bezkomórkowy komponent krztuścowy można traktować jako szczepionkę monowalentną, lecz szczepionka taka nie jest dostępna na rynku jako osobny produkt, lecz jest włączona do różnych szczepionek skojarzonych. W tej chwili istnieje kilka bezkomórkowych szczepionek przeciwkrztuścowych, zawierających od 1 do 5 różnych antygenów *Bordetella pertussis*. Produkowane są one przez główne światowe firmy wytwarzające szczepionki: North American Vaccine, Pasteur Merieux Connaught, SmithKline Beecham, Wyeth-Lederle, a niektóre z tych firm sprzedają swój produkt innym wytwórcom szczepionek, którzy włączają bezkomórkowy składnik krztuścowy do swoich szczepionek skojarzonych. W Polsce są aktualnie zarejestrowane cztery szczepionki zawierające bezkomórkowy składnik krztuścowy:

- szczepionka błoniczo-tężcowo-krztuścowa produkowana przez Aventis Pasteur (dawniej Pasteur Merieux Connaught) pod nazwą „Tripacel”;
- szczepionka błoniczo-tężcowo-krztuścowa produkowana przez SmithKline Beecham pod nazwą „Infanrix”;
- szczepionka błoniczo-tężcowo-krztuścowa produkowana przez Statens Serum Institut pod nazwą „DTaP SSI”.
- Szczepionki skojarzone zawierające bezkomórkowy składnik krztuścowy są produkowane od roku 1988, a preparaty tego typu są uważane za znacznie mniej reaktogenne niż szczepionki pełnokomórkowe.

Innym trendem ostatnich lat jest rozszerzanie składu antygenowego już istniejących szczepionek skojarzonych w celu ograniczenia liczby iniekcji. Powstały więc nowe szczepionki na bazie DTaP:

- szczepionka błoniczo-tężcowo-krztuścowa skojarzona z inaktywowaną szczepionką przeciw poliomyelitis produkowana przez Statens Serum Institut pod nazwą „DTaP Szczepionka SSI”;
- szczepionka błoniczo-tężcowo-krztuścowa skojarzona z rekombinowaną szczepionką przeciw wzw B produkowana przez SmithKline Beecham pod nazwą „Infanrix Hep B”;
- szczepionka błoniczo-tężcowo-krztuścowa skojarzona ze szczepionką przeciw *Haemophilus influenzae* typu b produkowana przez SmithKline Beecham pod nazwą „Infanrix Hib”.

Z kolei w szczepionce „Pentact HIB” (Aventis Pasteur) składnik krztuścowy jest pełnoko-

mórkowy, połączony ze szczepionką błoniczo-tężcową oraz IPV i Hib. Ta pentawalentna szczepionka jeszcze oczekuje na certyfikat rejestracyjny w Polsce, podobnie jak i szczepionka „Procomvax” (Merck, Sharp and Dohme) skierowana przeciw Hib i wzv B.

Nowe szczepionki

W latach dziewięćdziesiątych wprowadzono kilka całkowicie nowych szczepionek. W Polsce były to szczepionki chroniące przed dwiema chorobami: wirusowym zapaleniem wątroby typu A (wzv A) i ospą wietrzną. Rejestracje w Polsce uzyskały trzy szczepionki przeciw wzv A: Avaxim (Pasteur Merieux), Havrix (SmithKline Beecham) i Vaqta (Merck, Sharp and Dohme) oraz szczepionka Twinrix (SmithKline Beecham) zapobiegająca zarówno wzv A, jak i wzv B. Zarejestrowana została również szczepionka przeciw ospie wietrznej Varilrix (SmithKline Beecham). Natomiast na świecie pojawiła się szczepionka przeciw boreliozie „LYMERix” (SmithKline Beecham) dopuszczona w roku 1998 przez FDA do stosowania, lecz tylko u osób w wieku 15–70 lat. Szczepienie nie gwarantuje jednak ochrony przed chorobą, ponieważ skuteczność szczepionki wynosi 80% i jest ona zalecana jako dodatkowy sposób zabezpieczenia w połączeniu z odpowiednią odzieżą i obuwem, repellentami i ogleździnami skóry w poszukiwaniu kleszczy. Stwierdzono, że przeciwciała wytworzone u osób szczepionych mają zdolność neutralizacji bakterii *Borrelia burgdorferi* znajdujących się w jelicie kleszcza, po zassaniu przez kleszcza krwi osoby zaszczepionej. W ten sposób następuje przecięcie drogi szerzenia się zakażenia.

W 1997 zarejestrowano w USA atenuowaną poliwalentną szczepionkę rotawirusową (RRV-TV; Rhesus Rotavirus – Tetravalent Vaccine) produkowaną przez Wyeth-Lederle. Zawiera cząstki atenuowanego, małego szczepu rotawirusa oraz ludzkiego rotawirusa reprezentujące 4 najczęściej spotykane typy serologiczne. Wstępne obserwacje wskazują, że działanie ochronne pierwotnej dawki szczepień utrzymuje się przez dwa lata. Zachorowania mogą jednak się pojawiać, lecz przebieg choroby jest łagodniejszy niż u nieszczepionych. Szczepionka jest podawana doustnie w trzech dawkach w odstępach sześciotygodniowych, począwszy od 2 miesiąca życia, jednocześnie z OPV, IPV lub DTP.

Nowe sposoby produkcji szczepionek

Nowe sposoby produkcji szczepionek są związane głównie z rozwojem metod biotechnologicznych i z wykorzystaniem osiągnięć biologii molekularnej. Proces ten został zapoczątkowany w drugiej połowie lat osiemdziesiątych, gdy wprowadzono do praktyki rekombinowane szczepionki przeciw wzv B, otrzymywane ze zmodyfikowanych genetycznie komórek świata zwierzęcego. Obecnie „Engerix B”, „Genhevac” i „H-B -Vax” są najczęściej stosowanymi szczepionkami w zapobieganiu wzv B. Udane eksperymenty z uzyskaniem ekspresji mysich immunoglobulin w rekombinowanym tytoniu w roku 1989 otworzyły nową drogę dla produkcji szczepionek. Rośliny produkujące antygeny szczepionkowe stały się niezwykle atrakcyjną wizją, szczególnie przy rozpatrywaniu cen takich szczepionek i ich dostępności dla krajów mało rozwiniętych. Wizja ta została w latach dziewięćdziesiątych wprowadzona w czyn przez Arntzena i współpracowników w USA. Następne grupy badaczy również kontynuowały pracę nad ekspresją potencjalnych antygenów szczepionkowych w komórkach roślinnych. Doustna immunizacja rekombinowaną sałatą produkującą HBsAg spowodowała produkcję przeciwciał anti-HBs w grupie osób, które spożyły tę sałatę (Kapusta i współpracownicy, 1999). Sałata, banany i ziemniaki są najczęściej rozpatrywanymi modelami genetycznych rekombinacji roślin dla celów produkcji szczepionek do stosowania u ludzi, a termin bio-uprawa (biofarming) może stać się wkrótce synonimem wytwórni szczepionek.

Nowe sposoby prezentacji antygenów szczepionkowych

Prezentacja układowi immunologicznemu antygeny zawartego w szczepionce oraz immunomodulacja rozumiana jako wpływ na aktywność niektórych cytokin, głównie IL-1,

Profilaktyka i leczenie

IL-4, IL-6 i CSF oraz na selekcję odpowiedzi Th1/Th2 i poliklonalną aktywację komórek T odbywa się najczęściej przy udziale adiuwantu, choć istnieją również szczepionki nie zawierające adiuwantów. W powszechnym użyciu są od lat szczepionki zawierające jako adiuwant tlenek, wodorotlenek lub fosforan glinu. Należy podkreślić, że dotychczas w USA są dopuszczone przez Food and Drug Administration (FDA) do stosowania w szczepionkach wyłącznie sole glinu. Adiuwancyjny efekt działania soli glinu jest wynikiem kompleksowego mechanizmu, w którym istotnymi elementami są:

- wspomaganie utworzenia depot antygeny w miejscu wstrzyknięcia i wpływanie w ten sposób na powolne uwalnianie antygeny i przedłużenie czasu interakcji z komórkami immunologicznie kompetentnymi;
- wywołanie miejscowego odczynu zapalnego;
- adsorbowany antygen prezentowany jest z zachowaniem natywnej formy epitopów, co ma wpływ na wzrost poziomu przeciwciał neutralizujących.

Bezpieczeństwo soli glinu zostało udowodnione w ciągu wielu lat stosowania, choć reakcje miejscowe po wstrzyknięciu szczepionki je zawierającej mogą się pojawiać.

Wciąż trwają poszukiwania nowych adiuwantów, a niektóre po pomyślnych badaniach klinicznych zostały już wprowadzone do zarejestrowanych szczepionek. Oprócz wcześniej stosowanego fosforanu wapnia rejestrację we Włoszech w roku 1999 uzyskała produkowana przez Chiron Vaccines szczepionka przeciw grypie „Fluad” zawierająca adiuwant MF59 (mikrocząsteczkowa emulsja skwalenu w wodzie stabilizowana przez Tween 80 i Span 85). Wyniki badań nad MF59 wskazują, że zarówno efekt tworzenia depot antygeny, jak również efekt wiązania adiuwantu z antygenem nie jest najważniejszy dla jego działania. Przypuszcza się, że najważniejszą funkcją efektorową MF59 jest pobudzanie makrofagów do wydzielania cytokin, a te z kolei wpływają na wzmożenie odpowiedzi immunologicznej na antygen szczepionkowy. Należy podkreślić, że przedmiotem rejestracji szczepionki jest zawsze kombinacja antygen-adiuwant, natomiast nie ma w rejestrze środków farmaceutycznych i materiałów medycznych samych adiuwantów. W przypadku szczepionki „Fluad” można więc mówić o wprowadzeniu do praktyki szczepionki nowej generacji zawierającej nowy sposób prezentacji antygeny szczepionkowej. Zastosowanie adiuwantu w szczepionce przeciw grypie ma szczególne znaczenie, ponieważ dotychczas stosowane szczepionki przeciw grypie nie zawsze są skuteczne u ludzi starszych, którzy stanowią grupę ryzyka wśród osób zakażonych wirusem grypy. W badaniach Minutello i wsp. (Vaccine 1999, 17, 99-104) szczepionka „Fluad” wywoływała silniejszą humoralną odpowiedź immunologiczną mierzona mianem przeciwciał u osób w wieku powyżej 65 lat, w porównaniu z konwencjonalną szczepionką przeciw grypie „Agrimppal SI” nie zawierającą adiuwantu. Obie szczepionki posiadały oczywiście identyczny skład antygenowy, zgodny z rekomendacjami WHO. Obecnie trwają badania kliniczne nowej, rekombinowanej szczepionki przeciw wzw B zawierającej HBsAg i białko preS2 w połączeniu z adiuwantem MF59.

Uwagi końcowe

Z praktycznego punktu widzenia całość problematyki szczepień i szczepionek należy rozpatrywać w powiązaniu z sytuacją epidemiologiczną tych chorób, którym można zapobiegać szczepionką. Zapobieganie chorobom zakaźnym jest procesem dynamicznym i Δ° nitoring epidemiologiczny jest podstawą do uzyskania informacji pozwalających na odp^o wiednie korekty programów szczepień ochronnych, które z kolei wpływają na sytuację eP¹ demologiczną.

Inne są problemy zapobiegania chorobom zakaźnym w krajach rozwiniętych, a in[®] w krajach rozwijających się. W tych drugich dominują sprawy częstego występowania¹⁸ chorób zakaźnych, wysokich wskaźników śmiertelności noworodków (wg raportu WHO ¹ roku 1999 co godzinę w przebiegu choroby zakaźnej umiera na świecie 750 dzieci w ^e ku poniżej 5 lat) i szerokiej dostępności szczepionek. Zmiany w zapadalności na choroby zakaźne w populacjach krajów rozwiniętych, związane choćby z wydłużaniem się Δ° I

ści życia czy też szybkim wzrostem liczby osób odbywających podróże międzykontynen- talne przynoszą kolejne problemy do rozwiązania. Dlatego coraz bardziej aktualne staje się opracowanie programów szczepień ochronnych obejmujących wybrane grupy populacyjne według wieku lub według aktywności życiowej. Można przypuszczać, że niezbyt odległa jest wizja odrębnych programów szczepień dla dzieci, nastolatków, dorosłych w wieku średnim i dorosłych w wieku starszym oraz osobny program dla osób podróżujących, bądź wykonujących zadania specjalne (np. wyjeżdżający na placówki zagraniczne do krajów słabo rozwiniętych dyplomaci i misjonarze, lub żołnierze pełniący służbę zagranicą).

Współczesne preparaty do uodparniania biernego i ich zastosowanie

Bożenna Bucholc

Zakład Badania Surowic i Szczepionek, PZH

Historia swoistej immunoterapii rozpoczęła się na początku XX wieku, kiedy Behring zastosował po raz pierwszy heterologiczną surowicę do leczenia błonicy i tężca. Preparatami do uodpornienia biernego są; antytoksyny zwierzęce, ludzkie immunoglobuliny, humanizowane przeciwciała monoklonalne.

WIADOMOŚCI OGÓLNE

Antytoksyny końskie przeciw tężcowi lub błonicy są otrzymywane metodą frakcjonowania i oczyszczania białek surowicy krwi zdrowych immunizowanych toksoidem tężcowym lub błonicy zwierząt. Stosowane są sporadycznie w zapobieganiu i w leczeniu tężca i błonicy u osób nieuodpornionych w wyniku aktywnej immunizacji.

Oczyszczony preparat ludzkich gammaglobulin uzyskano po raz pierwszy w roku 1940, metodą frakcjonowania białek osocza w niskiej temperaturze, przy użyciu etanolu wg Cohna. Do produkcji gammaglobulin służy duża pula ludzkiej plazmy otrzymana od co najmniej 1000 dawców krwi przebadanych w kierunku obecności antygenu HBs, przeciwciał anty HIV1/2, przeciwciał anty HCV, aktywności aminotransferaz oraz antygenów kiły.

Oczyszczone immunoglobuliny są stabilizowane glukozą, maltozą, glicyną, sacharozą, mannitolem lub albuminą. Preparaty ludzkiej immunoglobuliny podlegają seryjnej kontroli w Zakładzie Badania Surowic i Szczepionek Państwowego Zakładu Higieny z uwzględnieniem wszystkich wymagań Światowej Organizacji Zdrowia, Farmakopei Europejskiej, które obejmują badania bezpieczeństwa i skuteczności preparatów. Preparaty immunoglobulin zawierają głównie cząsteczkę IgG globuliny, która ma wygląd litery Y i składa się z fragmentu Fab2; którego rola polega na rozpoznawaniu i związaniu odpowiedniego antygenu, następnym czego jest precypitacja, aglutynacja lub neutralizacja oraz z fragmentu Fc, do którego należą funkcje efektorowe odpowiedzi humoralnej a więc zniszczenie i eliminacja z ustroju drobnoustrojów.

BEZPIECZEŃSTWO STOSOWANIA PREPARATÓW IMMUNOGLOBULIN

Jednym z głównych problemów w krwiolecznictwie jest problem przenoszenia zakażeń wirusowych drogą krwi i preparatów osoczo pochodnych (13).

W tabeli I (poniżej) przedstawiono patogeny, które mogą być przenoszone przez krew. Od 1970 r wprowadzono przed transfuzyjne badanie donacji krwi w kierunku obecności antygenu HBs. Obecnie obowiązuje o wiele więcej badań i procedur zapewniających

Profilaktyka i leczenie

bezpieczeństwo wykonywania transfuzji krwi do nich należą:

- Edukacja, ankietowanie i selekcja dawców
- rutynowe serologiczne badanie wszystkich dawców
- w niektórych krajach są wykonywane biochemiczne testy (aminotransferaza, alfa neopteryna)
- automatyzacja testów
- komputeryzacja otrzymanych danych
- szerokie stosowanie standardów roboczych
- monitorowanie wykonania testu
- inaktywacja wirusowa produktów otrzymanych z frakcjonowania plazmy
- wirusowa inaktywacja składników krwi
- usuwanie leukocytów (usuwanie: CMV, EBV, HHV8?, HTLV?, vCJD).
- wykrywanie kwasów nukleinowych w mini pulach lub w pojedynczych donacjach.

Tabela 1

Bakterie	Wiele bakterii egzogennych i endogennych Bakteryjne endotoksyny	
Parazyty	Malaria choroba Chagas'a gorączka Nantucket Toksoplazmoza	Plasmodium sp Trypanosoma cruzi Babesia microti Toxoplasma gondii
Wirusy	Wirusy hepatitis Hepatitis A Hepatitis B Hepatitis C (6 genotypów) Hepatitis D – „wirus delta” Hepatitis E Hepatitis F: „fulminant” Hepatitis G: GBV-C Herpes wirusy (związane z białymi krwinkami) Retrowirusy Wirusy ludzkich białaczek Wirus związany z Multiple sclerosis Wirusy ludzkich niedoborów immunologicznych Ludzki parvovirus TTV Circoviridae DNA	Udokumentowano przeniesienie przez S/D produkty Również HBV z punktową mutacją w domenie „a” Główny czynnik NANB hepatitis Ułomny RNA wirus, Epidemiczny nie związany z transfuzją Niepotwierdzone dane Przenoszony podczas transfuzji, ale prawdopodobnie nie hepatotropowy. CMV- wirus cytomegalii EBV- wirus Epsteina- Barr HHV8 ludzki wirus herpes związany z Kaposi's sarcoma HTLV – I HTLV- II MSRV HIV –1 HIV – 2 Parvovirus B19 Transfusion Transmitted Virus

Wg J.A.J. Barbara Vox. Sanguinis 1998; 74 (Suppl. 2) 11-13.

wg J.P Allain Vox. Sanguinis 1998; 74 (Suppl. 2) 125-129.

Współczesne preparaty do uodparniania biernego i ich zastosowanie

Najczęstszymi patogenami, które mogą być przenoszone drogą krwi, a także poprzez produkty osoczopochodne są:

Tabela II

Wirus	krw	Produkty osoczopochodne
Wzw A	tak	tak
Wzw B	tak	tak
Wzw C	tak	tak
Wzw D	tak	tak
HIV	tak	tak
HTLV-1	tak	nie
CMV	tak	nie
Epstein Barr	tak	nie
TTV	tak	tak
Parvovirus B19	tak	tak

Oprócz metod zmierzających do właściwego doboru dawców opracowano sposoby inaktywacji wirusów, potencjalnie występujących w preparatach osoczopochodnych. Najczęściej stosuje się kilkakrotne frakcjonowania alkoholem, wywodzące się z metody Cohna. Ponadto istnieją specjalnie przeznaczone metody inaktywacji wirusów związane z końcowymi etapami produkcji (7,10, 11).

Metody fizyczne: Ogrzewanie przetworów osocza w roztworze w 60° C przez 10 godzin, ogrzewanie produktów liofilizowanych w 80°C przez 72 godziny, naświetlanie UV, inaktywacja świetlna, nanofiltracja

Metody chemiczne: Metoda solvent/detergent, beta propiolakton, trawienie pepsyną w niskim pH.

Niesłonkowe wirusy takie jak HAV i parvovirus B19 nie są inaktywowane dostępnymi metodami stosowanymi w produkcji preparatów z ludzkiego osocza. Jednak oba wirusy są neutralizowane przez przeciwciała obecne w puli osocza. Neutralizujące przeciwciała są bardzo ważną i naturalną barierą przed rozprzestrzenianiem się wielu znanych i nieznanymi wirusów mogących zanieczyszczać pulę plazmy przeznaczoną do produkcji preparatów (15).

Pomimo dokładnej selekcji dawców oraz różnych procedur inaktywacji wirusów, zdarzają się transmisje wirusów, zarówno poprzez transfuzji krwi jak i preparatów osoczopochodnych (8,14).

Preparaty ludzkich immunoglobulin są produkowane w dwóch formach: 1) Do podawania domięśniowego (IMIG) 2) do podawania dożylnego (IVIG), które dzięki dodatkowej obróbce technologicznej metodami chemicznymi, fizykochemicznymi lub enzymatycznymi pozbawione są właściwości antykomplementarnych, a co za tym idzie właściwości powodowania reakcji anafilaktycznych. Niezależnie od drogi podania preparaty immunoglobulin można podzielić na poliwalentne i swoiste. Za poliwalentne uważa się preparaty normalnych ludzkich immunoglobulin, których skład przeciwciał odpowiada składowi przeciwciał w osoczu dawców z danej populacji. Natomiast swoiste są otrzymane z wyselekcjonowanego osocza od dawców z wysokim poziomem danych przeciwciał.

W licznych publikacjach wykazano skuteczność preparatów immunoglobulin w:

- Pierwotnych i wtórnych niedoborach immunologicznych
- W profilaktyce i leczeniu chorób zakaźnych
- W leczeniu chorób autoimmunizacyjnych

Profilaktyka i leczenie

STOSOWANIE IMMUNOGLOBULIN W PROFILAKTYCE CHORÓB WIRUSOWYCH.

Ewentualna skuteczność preparatów immunoglobulin w zakażeniach wirusowych jest m.in. wynikiem neutralizacji wirusów przez przeciwciała, które są obecne w preparatach immunoglobulin i mogą blokować szereg etapów zakażenia komórki przez wirus, począwszy od blokowania wiązania wirusa do komórkowych receptorów aż do blokowania etapu odplaszczania wirusa. Efektywność przeciwciał neutralizujących zależy od dostępności i stabilności neutralizujących epitopów. Wirusy zapalenia wątroby typu A i B są bardzo skutecznie neutralizowane przez przeciwciała i rzadko „uciekają” przed układem immunologicznym. Przeciwciała przeciw parwovirusowi B 19 nie całkowicie neutralizują wirusa, przynajmniej w niskim stężeniu, ale mogą ochronić przed rozwijającą się chorobą. Skuteczność przeciwciał neutralizujących jest więc częściowa, a ucieczka przed układem immunologicznym zdarza się wyjątkowo często u tych wirusów.

Neutralizacja wirusów przez przeciwciała zachodzi w wyniku wielu mechanizmów. Ważne są przy tym właściwości przeciwciał takie jak powinowactwo, izotyp, stężenie, wartościowość, zdolność wiązania dopełniacza i swoistość epitopu. Mechanizm neutralizacji polega m.in. na blokadzie interakcji między wirusowym ligandem z receptorem komórkowym. Ten typ blokady obejmuje zarówno wiązanie przeciwciała do wirusowego liganda, jak i zmianę konformacyjną wiązania wirusowy ligand-receptor komórkowy. Aktywacja systemu dopełniacza zwiększa aktywność neutralizacyjną poprzez lizę błony wirusa i poprzez zmianę konformacyjną interakcji wirus-komórka. Inną formą neutralizacji przez przeciwciała jest zahamowanie penetracji wirionu. Obejmuje ona interferencję fuzji osłonki wirionu z błoną cytoplazmatyczną komórki, jak to ma miejsce w przypadku neutralizacji wirusa HIV. Przeciwciała związane z wirusami nieosłonkowymi, takimi jak wirus polio mogą ochraniać odplaszczanie wirusa. Przeciwciała neutralizacyjne bardzo różnią się pod względem skuteczności. Wskaźnik neutralizacji może różnić się nie tylko między różnymi wirusami, ale także między przeciwciałami wobec tego samego antygeny na tym samym wirusie. Większość wirusów posiada szereg neutralizacyjnych epitopów. Przeciwciała wiążące się do tych epitopów działać mogą synergistycznie. Zatem neutralizacja wirusów przez przeciwciała następuje w wyniku hamowania lub opóźniania kolejnych faz ataku na komórkę gospodarza, t.j. adsorbcję, penetrację, odplaszczanie.

Światowa Organizacja Zdrowia poleca stosowanie ludzkich immunoglobulin w profilaktyce tylko niektórych zakażeń wirusowych: wzv A, wzv B, odry, wścieklizny, tym niemniej zawartość wielu przeciwciał wirusowych powoduje, że po preparaty te sięga się także w profilaktyce zakażeń wirusem ospy wietrznej, cytomegalii, HIV, Epsteina-Barr, rota- wirusami, herpes, enterowirusami, wirusami RS.

STOSOWANIE IMMUNOGLOBULIN W LECZENIU CHORÓB BAKTERYJNYCH

Preparaty immunoglobulin są stosowane w zakażeniach szpitalnych, które są głównym niebezpieczeństwem dla dzieci urodzonych przedwcześnie z niską wagą urodzeniową. Okresowe podawanie IVIG redukuje przypadki zakażeń *E.coli* i paciorkowców grupy B (GBS) u dzieci z niską wagą urodzeniową; 500-1750 g. Jedną z metod postępowania w profilaktyce zakażeń bakteryjnych (GBS, *E.coli*, *Haemophilus influenzae*, *Meningococcus*, *Streptococcus pneumoniae*) u dzieci z grup wysokiego ryzyka, które nie mogą być szczepione lub mają wrodzony lub nabyty niedobór odporności, jest podawanie poliwalentnych lub swoistych immunoglobulin. Stosowanie IVIG już podczas stwierdzonej infekcji daje gorsze efekty. Należy podkreślić, że IVIG działają skutecznie jeśli są podawane jednocześnie z antybiotykiem

Mechanizm działania immunoglobulin obejmuje szybsze zabijanie bakterii, neutralizację toksycznych produktów bakteryjnych i skuteczne usuwanie z krążenia bakterii ich produktów, supresję prozapalnych cytokin uwalnianych z aktywowanych komórek przez endotoksyny i superantygeny oraz wzrost ilości neutrofilów (17)

ZASTOSOWANIE IMMUNOGLOBULIN W LECZENIU CHOROÓB AUTOIMMUNIZACYJNYCH (IMMUNOMODULACJA)

Preparaty IVIG wyprodukowane są dużej puli ludzkiego osocza, zawierają przeciwciała skierowane przeciw szerokiemu spektrum ludzkich białek i przeciwciała anty idiotypowe które wiążą i neutralizują działanie autoprzeciwciał zapobiegając ich reakcji z autoantygenem.

Dimery IgG są spontanicznie formowane w preparatach IVIG i tworzą kompleksy idiotyp-anty-idiotyp. Większa pula dawców oznacza większą zawartość dimerów i szersze spektrum swoistości idiotyp-anty-idiotyp. Obecne w IVIG przeciwciała przeciw cząsteczkom CD5 mogą zmniejszyć produkcję autoprzeciwciał wytwarzanych przez komórki B1 (CD20⁺). IVIG zawierają przeciwciała przeciw interlukinie 6, interlukinie 1 alfa i TNF w ilościach wystarczających do zahamowania ich działania i syntezy. IVIG zawierają także przeciwciała przeciw epitopom superantygenów (bakteryjne toksyny, enterotoksyny, wirusy), które w wyniku ich neutralizacji hamują aktywację cytotoksycznych komórek T.

Preparaty IVIG zawierają również immuno-modulacyjne peptydy takie jak rozpuszczalne CD4, CD8, antygeny MHC II, które mogą interferować z rozpoznawaniem antygeny przez komórki T. Ponadto funkcja komórek T CD8⁺ może być zmieniona przez przeciwciała skierowane przeciw cząsteczkom MHC I.

Tworzenie kompleksów między produktami aktywacji dopełniacza C3B i C4B a przeciwciałami obecnymi w IVIG ochrania komórkę od litycznego działania kompleksu dopełniacza. Jest to prawdopodobny mechanizm ochraniający mielinę i aksony przed destrukcyjnym działaniem dopełniacza w chorobie Guillain-Barre. IVIG blokuje odkładanie dopełniacza w komórkach endotelium serca w doświadczalnym przeszczepie serca u pawianów, blokuje odkładanie aktywnego C3 w tkankach docelowych u pacjentów z zapaleniami skórno-mięśniowymi, powoduje zmniejszenie wiązania się C3 z erytrocytami pacjentów cierpiących na anemię autohemolityczną.

Immunomodulacyjne działanie IVIG jest związane zatem z zahamowaniem działania dopełniacza, neutralizacją cytokin, modulacją zależnej od Fc receptora fagocytozą i zahamowaniem produkcji autoprzeciwciał. Leczenie przy pomocy IVIG jest skuteczne w wielu chorobach autoimmunizacyjnych. FDA zatwierdziła stosowanie IVIG w małopłytkowości, chorobie Kawasaki, przy przeszczepie szpiku kostnego u pacjentów powyżej 20 roku życia, przewlekłej białaczce limfatycznej komórek B, u dzieci zakażonych wirusem HIV. W praktyce IVIG jest stosowane także w układowym toczniu rumieniowatym, ziarniniaku Wegenera, zapaleniu skórno-mięśniowym, zapaleniu stawów, białaczce limfoblastycznej, niedokrwistości autohemolitycznej, neutropenii autoimmunologicznej, osłabieniu mięśni, zakażeniu wirusem HIV u dorosłych, stwardnieniu rozsianym, w chorobie Guillain-Barre i w przewlekłych polineuropatiach demielinacyjnych (2).

REAKCJE NIEPOŻĄDANE

Infuzja immunoglobulin powoduje reakcje niepożądane u nie więcej niż 10% pacjentów. Istnieje korelacja między wskaźnikiem szybkości podawania a występowaniem odczynów niepożądanych. Reakcje niepożądane można podzielić na 6 grup: 1) Najbardziej pospolite to: ból głowy, zaczerwienienie, dreszcze, ból pleców, nudności, zmiany ciśnienia krwi. Obserwuje się je u 5 % pacjentów zazwyczaj podczas infuzji i zależą od wskaźnika szybkości podawania preparatu. 2) Nadwrażliwość i reakcje typu anafilaktycznego mogą być spowodowane działaniem przeciwciał anty IgA u pacjentów z selektywnym niedoborem immunoglobuliny klasy IgA i u pacjentów z chorobami autoimmunizacyjnymi. 3) Rzadko występująca i nie dająca objawów klinicznych anemia hemolityczna. 4) Objawy ze strony układu neurologicznego: częste bóle głowy, aseptyczne zapalenie opon mózgowych. 5) Objawy ze strony układu moczowego: niewydolność nerek, która występuje w wyniku zespołu nerczycowego, szczególnie u pacjentów z nefropatią obecną przed podaniem IVIG (9, 12). 6) Komplikacje zakrzepowe manifestujące się niedokrwieniem mózgu (bardzo rzadko występujące, a ich związek z podawaniem IVIG jest kontrowersyjny) (4).

Agregaty IgG i ślady zanieczyszczeń w preparatach IVIG mogą być odpowiedzialne za te odczyny. Agregaty mogą indukować aktywację komplementu z jednoczesnym uwalnia-

Profilaktyka i leczenie

niem anafilatoksyn C3a i C5a. IgG dimery oraz kompleksy idiotyp-antyidiotyp, które obecne w preparacie mogą się tworzyć in vivo i indukować reakcje niepożądane, szczególnie jeśli te kompleksy tworzą się gwałtownie. Również obecność wazoaktywnych proteaz, takich jak aktywator prekalikreiny lub kalikreiny mogą powodować reakcje uboczne. Wykazano, że hipotensyjny efekt koreluje z zawartością dimerów w preparatach IVIG, które aktywują makrofagi i neutrofile poprzez reakcje z Fc gamma receptorami do wydzielania PAF (czynnik aktywujący płytki) odpowiedzialnego za obniżenie ciśnienia (5). Manifestowanie reakcji niepożądanych może być również powodowane przez cytokiny lub inne mediatory zapalne. Np.: interferon (IFN), tumor necrosis factor (TNF), oraz interleukiny (IL-1a, IL-2)

o których wiadomo, że powodują gorączkę podczas gdy IFN-a, TNF, IL-2, i IL-6 są odpowiedzialne za reakcje zapalne. O ile jednak wiadomo, że cytokiny i substancje wazoaktywne są mediatorami reakcji zapalnych, to jednak nie ma badań in vivo mówiących, że są one odpowiedzialne za indukcję reakcji niepożądanych po podaniu IVIG.

Znaczne podniesienie poziomu interleukiny 6 u pacjentów z objawami niepożądanymi sugeruje, że mogą one być związane z reakcjami niepożądanymi aczkolwiek nie jest znany mechanizm

PRZECIWCIAŁA MONOKLONALNE STOSOWANE W LECZNICTWIE

Przeciwciała monoklonalne (mAb) są przeciwciałami wyprodukowanymi przez pojedynczy klon komórek B w przeciwieństwie do przeciwciał poliklonalnych, mAb są monoswoiste i homogenne co czyni je skutecznym narzędziem w terapii i diagnostyce. Większość przeciwciał monoklonalnych jest pochodzenia mysiego, podawanie ich ludziom wywołuje odpowiedź immunologiczną przeciw obcogatunkowemu białku, która ogranicza ich efektywność. Z pomocą przyszła inżynieria genetyczna, skonstruowano geny immunoglobulinowe, których część V pochodzi od myszy, część C od człowieka. Otrzymano też geny, których tylko sekwencja kodująca regiony hyperzmiennicze pochodzi od myszy a reszta genu od człowieka. Geny takie można wprowadzić do odpowiednich komórek szpiczaka lub do bakterii np. E.coli, gdzie dochodzi do ich ekspresji. Otrzymane przeciwciała nazwano humanizowanymi lub uczłowieczonymi. Nie wywołując przeciw sobie efektywnej odpowiedzi immunologicznej nie są szybko eliminowane z krążenia i mogą być stosowane w terapii. W tabeli III przedstawiono mające certyfikaty rejestracyjne, monoklonalne, humanizowane przeciwciała stosowane w lecznictwie (6).

Tabela III

Skuteczność poszczególnych przeciwciał monoklonalnych (mAb) zależy od szeregu czynników takich jak: antygeny przeciw którym skierowane są mAb, funkcji tego antygeny,

Nazwa własna	Nazwa handlowa	Producent	Wskazania
Muromonab	Orthoclone OKT3	Janssen-Cilag	Przeszczep nerki
Basiliximab	Siimulect	Novartis	Przeszczep nerki
Daclizumab	Zenapax	Hoffman-la Roche	Przeszczep nerki
Infliximab	Remicade	Centocor	Zapalenie stawów Choroba Crohna
Rituzimab		Genentech-Roche	Chłoniak
Trastuzumab	Herceptin	Genentech	Przerzutowy rak piersi
Abciximab	Reopro	Lilly	Przeciwplatek
Palivizumab	Synagis	Abbot Laboratories	Zakażenie RSV

Uodpornienie bierno-czynne jako metoda zapobiegania wścieklicznie

gęstości na powierzchni komórek i dystrybucji w tkance. Potencjalny mechanizm działania mAb obejmuje; blokowanie funkcji antygeny przeciw któremu są skierowane przeciwciała; działanie cytotoksyczne przeciw komórkom posiadającym ten antygen w wyniku aktywacji dopełniacza; modulację funkcji komórek w wyniku wiązania docelowego antygeny. Preparaty mAb w większości są stosowane w leczeniu chorób autoimmunizacyjnych, nowotworowych, związanych z agregacją płytek i leczeniu przeciwwirusowym. Obecnie tylko jeden preparat palivizumab (Synagis) - humanizowane przeciwciała przeciw wirusom RS został dopuszczony do stosowania u przedwcześnie urodzonych dzieci i dzieci z dysplazją oskrzelowo-płucną (16). Trwają obecnie badania nad skutkami odległymi w czasie, po stosowaniu preparatów otrzymanych drogą inżynierii genetycznej.

PIŚMIENNICTWO

1. Allain JP; Vox. Sang. 1998, 74, (Suppl. 2) 125-129.
2. Arinos C, Dalakas MD; Ann. Intern Med. 1997, 126, 721-730.
3. Barbara JA; Vox. Sang. 1998,74 (Suppl. 2) 11-13.
4. Bednarik J, Kadanka Z; 1999, 138 (21), 647-9.
5. Bleeker WK, Teeling JL, Verhoeven AJ et al.; Blood 2000, 95, (5), 1856-61.
6. Breedveld FC; Lancet, 2000, 355, (9205), 735^0.
7. Chandra S, Cavanaugh JE, Lin CM et al.; Transfusion 1999, 39, (3), 249-57.
8. Cristiano K, Pisani G, Wirz M et al.; Transfusion 1999, 39, 428.
9. Haskin JA, Warner DJ, Blank DU; Ann Pharmacother 1999, 33, (7-8), 800-3.
10. Horowitz A, Rokos K, Reuter T, et al.; Biologicals 1998, 26, 135- 144.
11. Horowitz B, Lazo A, Grossberg H, et al.; Vox Sang. 1998, 74 (suppl 1) 203-206.
12. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1999, 48, (24) 518-21.
13. Mosley JW, Rakela J. Transfusion 1999, 39, 10, 1041-1044.
14. Nubling CM, Groner A, Lower; J Vox Sang.; 1998, 75, 189-92.
15. Rollag H, Solheim B, Svennevig J. Vox Sang; 1998, 74 (Suppl 1), 213-217.
16. Scott LJ, Lamb HM, Drugs 1999, 2, 305-11.
17. Werdan K, Clin Chem Lab Med. 1999, 37,(3) 341-9.

Uodpornienie bierno-czynne jako metoda zapobiegania wścieklicznie

Danuta Seroka
Zakład Epidemiologii PZH

W zapobieganiu chorobom wirusowym bierno-czynne uodpornienie stosowane jest praktycznie tylko w profilaktyce wścieklicziny. Inne przeciwwirusowe gamma globuliny, obecne na rynku, służą przeważnie biernej profilaktyce i mogą być pomocne w szczególnych sytuacjach po kontakcie z zakaźnie chorą osobą (15).

Jednoczesne podanie surowicy i szczepionki przeciw wścieklicznie powinno chronić przed wystąpieniem u pokąsanej osoby klinicznych objawów wścieklicziny i jest określone w międzynarodowym nazewnictwie jako swoiste leczenie po narażeniu (post-exposure treatment) (16).

Surowica odpornościowa została wprowadzona do rutynowej praktyki szczepień przeciw wścieklicznie we wczesnych latach pięćdziesiątych. Uzasadnieniem były pomysły wy-

Profilaktyka i leczenie

niki bierno-czynnego uodpornienia grupy 17 osób, bardzo ciężko poranionych przez wściekłego wilka w Iranie.

W tej grupie szczepienie było nieskuteczne u jednej osoby z obrażeniami głowy, podczas gdy w grupie pozostałych 12 osób, również ciężko narażonych przez tego samego wilka, którym podano tylko szczepionkę - zmarły 3 osoby (1). Ówczesna surowica odpornościowa była produkowana na królikach, owcach i koniach, precypitowana siarczanem sodu lub frakcjonowana etanolem, dawkowana w ml., proporcjonalnie do wagi ciała (1)(7).

Ocenę skutecznego działania surowicy przez wiele lat opierano na analizie każdego przypadku szczepienia, uwzględniającej rozległość zadanych ran, potwierdzenie wścieklizny u zwierzęcia i przestrzeganie wskazań producenta odnośnie dawki oraz czasu i sposobu podania preparatu.

W latach dziewięćdziesiątych potwierdzono doświadczalnie mechanizm ochronnego działania surowicy. Obok zdolności zubożenia wirusa poza komórkę, surowica działa również hamująco na transkrypcję wirusowego RNA w samej komórce (4).

Pomyślnie wyniki epidemiologicznej analizy skuteczności bierno-czynnego uodpornienia przeciw wściekliznie stały się uzasadnieniem dla produkcji surowicy na skalę

przemysłową, doskonalenia procesu jej koncentracji i oczyszczania oraz standaryzacji dawki w jednostkach międzynarodowych - j.m (8) (16).

Obecnie na rynku znajdują się trzy rodzaje immunoglobulin odpornościowych przeciw wściekliznie:

- ERIG - końska, otrzymywana z surowicy koni, hiperimmunizowanych szczepem wirusa fixe (szczep Pasteurowski), namnażanym w komórkach hodowli tkankowych.

Dawkowanie: 40jm/kg

- HRIG - ludzka, otrzymywana z plazmy ludzi szczepionych przeciw wściekliznie, frakcjonowana i oczyszczana wg techniki alkoholowej.

Dawkowanie: 20jm/kg

- HTRIG - ludzka, otrzymywana j.w., dodatkowo ogrzewana przez 10 godzin w temp. 60°C.

Dawkowanie: 20jm/kg (6)(8)

Obecność na rynku wysoko immunogennych szczepionek i surowic nie usprawiedliwia sygnalizowanych przypadków nieskutecznego szczepienia przeciw wściekliznie (9)(10)(18).

Wnikliwa analiza takich przypadków wskazała na niedostateczne wykorzystanie odpornościowych immunoglobulin przeciw wściekliznie dla ochrony życia ludzi ciężko pokąsanych przez wściekłe zwierzęta (2)(3)(5)(11).

Tabela 1. Prawdopodobne przyczyny nieskutecznego szczepienia przeciw wściekliznie*

Liczba zmarłych	46 osób
Nie podano IgG	37/46
Rozległe rany głowy i karku	27/46
Opóźnione szczepienie ≥ 2 dni	18/46
Nie opracowano rany po pokąsaniu	15/46
Pierwsze dawki szczepionki typu Semple'a	2/46
Iniekcje w mięśnie pośladka	1/46
Zaburzenia stanu odporności	1/46
Przeszczep zakażonej rogówki	1/46

wg R. Feszarek'a analiza przypadków z Indii i Tajlandii

Tabela nr 1 zawiera wyniki analizy wykonanej, przez firmę Behringwerke (5).

Uodpornienie bierno-czynne jako metoda zapobiegania wścieklicznie

W roku 1996 Komitet Ekspertów WHO d.s. wściekliczyny w specjalnie wydanej broszurze przypomniał zasady prawidłowego postępowania w przypadku III kategorii narażenia na zakażenie wirusem wściekliczyny! 17):

- III stopień narażenia na zakażenie wirusem wściekliczyny oznacza przebicie zębami powłok skórnych lub oślinienie błon śluzowych przez zwierzę wściekle lub podejrzane o wścieklicznię, co wymaga zastosowania bierno-czynnego uodpornienia (*jednorazowe podanie surowicy i przewidziany schemat cykl iniekcji szczepionki*) Najgroźniejsze, ze względu na krótki okres wylegania, są obrażenia głowy, twarzy, karku i rąk.
- Ranę należy starannie wypłukać wodą, wodą z mydłem lub z detergentem i zdezynfekować 70% alkoholem lub wodnym roztworem jodyny.
- Zależnie od rodzaju rany, połowę dawki immunoglobuliny należy wkropić do rany i nasączyć ranę dookoła; jeżeli przewidziana dawka immunoglobuliny nie wystarczy do opracowania samej rany i do iniekcji domięśniowej - do nasączenia można immunoglobulinę rozcieńczyć 2-3x w jałowym roztworze soli fizjologicznej.
- Nie należy przekraczać przewidzianej dawki immunoglobuliny
- Jeżeli immunoglobulina jest niedostępna w dniu rozpoczęcia szczepienia, można ją podać do 7 dni od rozpoczęcia szczepienia.
- Jednocześnie należy rozpocząć szczepienie przeciw wścieklicznie. Szczepienie można przerwać, jeżeli wyniki przyżyciowej klinicznej obserwacji zwierzęcia (*10 dni*) lub badań laboratoryjnych są ujemne.
- Osobom uprzednio szczepionym przeciw wścieklicznie nie podaje się surowicy odpornościowej.
- Szczepionkę podaje się domięśniowo w mięsień naramienny; u dzieci - w przednio-boczną okolicę uda.

W Polsce, w latach 1986 - 1999 zaszczepiono przeciw wścieklicznie 79804 osoby:

- Wśród 557 osób zranionych głęboko przez zwierzęta wściekle, 56 osobom (10%) podano surowicę odpornościową.
- Wśród 4112 osób zranionych głęboko przez zwierzęta podejrzane o wścieklicznię, 93 osobom (2,2%) podano surowicę odpornościową.

W latach 1986 - 1999 wśród 79804 szczepionych przeciw wścieklicznie surowicę odpornościową zastosowano w 418 przypadkach (0,52%) (12)(13)(14)

Surowica odpornościowa przeciw wścieklicznie stosowana jest więc w kraju rzadko; pomijana jest również w przypadkach cięższych obrażeń, co stanowi odstępstwo od międzynarodowych doświadczeń i zaleceń i może być przyczyną zgonu narażonej osoby.

Pomyślne wyniki szczepień zawdzięczamy najpewniej małej liczbie cięższych narażeń¹ stosowaniu wysoko immunogennej szczepionki.

Piśmiennictwo

- Cabasso V.J: Passive immunization. The Natural History of Rabies, 19975, II, 319. Academic Press.
- 2- Chantapong Wasi i wsp.: Progress and achievement of rabies control in Thailand. Vaccine 15. Suppl. 1997, 57 3' Chartchai Kositprapa i wsp.: Problems with rabies postexposure management: a survey of 499 public hospitals in Thailand. J. Travel Med. 1998, 5, 30 Dietzschold i wsp.: Delineation of putative mechanisms involved in antibody ~ mediated clearance of rabies virus from the central nervous tissue. Proc. Natl. Acad. Sci, 1992, 897252
- Fescharek R.: Aspects of vaccine surveillance in current situation of rabies Prevention in southest and central Europe. Proceedings of a Symposium Held at Bad Waltersdorf, Austria, 7-8 March 1996, ed. B.V. Bugamor, Netherlands

Profilaktyka i leczenie

6. Lang J. I wsp.: Evaluation of the safety and immunogenicity of a new heat treated human rabies immune globulin using a sham post-exposure prophylaxis of rabies. *Biologicals*, 1998, 26, 7
7. *Lab. Techniques in Rabies*, 1954, WHO, Geneva, 135
8. *Lab. Techniques in Rabies*, 1996, WHO, Geneva, 399
9. Madhusudana S.N i wsp.: Failure of rabies post-exposure treatment with purified chick embryo cell (PCEC) vaccine. *Vaccine*, 1989, 7, October, 478
10. Ozyurek S. i wsp.: Fatal rabies encephalitis despite appropriate post-exposure therapy with human diploid cell rabies vaccine and purified horse serum. *Rabies Bulletin of Europe*, 1991, 4, 11
11. Saraljit Sehgal i wsp.: Ten year longitudinal study of efficacy and safety of purified chick embryo cell vaccine for pre and post-exposure prophylaxis of rabies in Indian population. *J. Com. Dis.* 1995, 274, 36
12. Seroka D.: Epidemiologiczna analiza skuteczności szczepień ludzi przeciw wściekliznie wykonanych w Polsce w latach 1986-1997. *Przegl. Epid.* 1998, 52, 4, 379
13. Seroka D. Łabuńska E.: Wścieklizna w 1998 r. *Przegl. Epid.* 2000, 54, 1
14. Seroka D. Łabuńska E.: Wścieklizna w 1999 r. w przyg. do druku
15. *Szczepionki i immunoglobuliny*. Informator I wyd. red. W. Magdzik Vesalius, 1994
16. WHO Expert Committee on Rabies, Eight Report, 1992, WHO, Geneva, 21.
17. WHO Recommendations on Rabies Post- Exposure Treatment and the Correct Technique of Intradermal Immunization against Rabies, 1997, WHO, Geneva.
18. Wilde H. i wsp.: Failure of post-exposure treatment of rabies in children. *Clinical Inf. Dis.* 1996, 22, 228.

Wybrane problemy z zakresu uodpornienia przeciw błonicy

Anna Fordymacka

Zakład Badania Surowic i Szczepionek, PZH

Zastosowanie toksoidu błoniczego do uodparniania niemowląt i dzieci okazało się trafną strategią w walce z błonicy, która od wielu wieków cyklicznie pojawiała się w postaci ostrych epidemii a nawet pandemii na różnych kontynentach. W latach 40-tych i 50-tych wprowadzono w rozwiniętych krajach w Europie, Ameryce Północnej, Australii i Japonii rutynowe uodparnianie dzieci przeciw błonicy, czego efektem był gwałtowny spadek zachorowań. Globalnie w latach 1970–1990 liczba przypadków zachorowań na błonicę zmniejszyła się o ponad 70% (7), a w wielu krajach europejskich praktycznie nastąpiła likwidacja tej choroby. Szczepienia ochronne wpłynęły nie tylko na zmniejszenie liczby zachorowań, ale także zmieniły epidemiologię błonicy. Zmniejszył się znacznie rezerwuuar toksynogennych szczepów *Corynebacterium diphtheriae*, co uwidoczniło się w zmniejszeniu częstości nosicielstwa u zdrowych osób. Błonica przestała być chorobą tylko wieku dziecięcego i coraz częściej obserwowano wzrost proporcji przypadków zachorowań wśród starszych dzieci i dorosłych osób. Trend wzrostu zachorowań na błonicę w starszych grupach wieku notowano w wielu krajach rozwiniętych prowadzących skuteczne programy szczepienne, a liczne przeglądy serologiczne wskazywały na spadek stopnia uodpornienia u osób dorosłych (6, 8, 11). Niespodziewany wybuch rozległej epidemii błonicy w latach 90 w krajach dawnego Związku Radzieckiego w czasie, kiedy zbliżano się do ogłoszenia jej eliminacji w rejonie europejskim przekreślił szansę na bliskie osiągnięcie tego celu. Co

raz szerzej dyskutowano nad potrzebą uodparniania osób dorosłych przeciw błonicy z obawy na możliwość rozprzestrzenienia się epidemii na inne kraje.

Jak wiadomo szczepionki przeciwbłonicze są immunogenne i dobrze tolerowane u niemowląt i młodszych dzieci, jednakże podawanie ich osobom dorosłym może powodować liczne niepożądane odczyny, które tylko w niewielkim stopniu można ograniczyć poprzez coraz lepsze oczyszczanie antygeny. Reakcje nasilają się im wyższa jest zawartość toksoidu i im starsza jest osoba szczepiona (14). Od czasu, kiedy Volk dowiódł, że toksoid błonicy w dawce 2 Lf podany 7–13 lat po szczepieniu pierwotnym wywołuje efekt „booster” nie powodując poważnych powikłań (15), przeprowadzono liczne badania reaktywności i immunogenności szczepionek przeciwbłoniczych zawierających obniżoną w stosunku do dawek pediatrycznych zawartość antygeny (3, 10, 13). Ogólnie uważa się, toksoid błonicy podawany w dawce 1,5–5 Lf osobom dorosłym jest bezpieczny i immunogeny. W wielu krajach dawka 2 Lf jest polecana do szczepień przypominających przeciw błonicy (2). Toksoid błonicy w niskiej dawce jest stosowany w Danii do uodparniania żołnierzy pełniących służbę wojskową skutecznie podnosząc stopień uodpornienia przeciw błonicy w grupie mężczyzn w całym kraju. Dowiedziono również, że szczepionka tężcowo – błonicza, Td w o zmniejszonej zawartości antygeny błoniczego nie powoduje większych reakcji niepożądanych niż toksoid tężcowy (9) powszechnie stosowany w profilaktyce tężca u zranionych osób. Dało to możliwość zastępowania monowalentnej szczepionki przeciw tężcowej szczepionką skojarzoną tężcowo-błoniczą i zastosowania jej do uodparniania osób dorosłych. W USA szczepionka Td jest stosowana od kilkunastu lat do szczepień przypominających przeciw tężcowi i błonicy podawana co 10 lat.

W Polsce problem szczepień przeciw błonicy osób dorosłych pojawił się na początku lat 90 wraz z pojawieniem się epidemii błonicy w Europie. Rozważano wówczas konieczność wprowadzeniu do Programu Szczepień Ochronnych dodatkowych dawek przypominających szczepionki przeciwbłoniczej w formie szczepionki Td. Polska była szczególnie narażona na przenoszenie zakażeń błonicy ze względu na bliskie sąsiedztwo terenów epidemicznych oraz częste i otwarte kontakty ludności, czego dowodem był pierwszy przypadek błonicy już w pierwszym kwartale 1992 roku zawleczony z Białorusi. Zachorował wówczas 22-letni student z Białegostoku, który otrzymał tylko jedną dawkę przypominającą szczepionki przeciwbłoniczej w 6 roku życia.

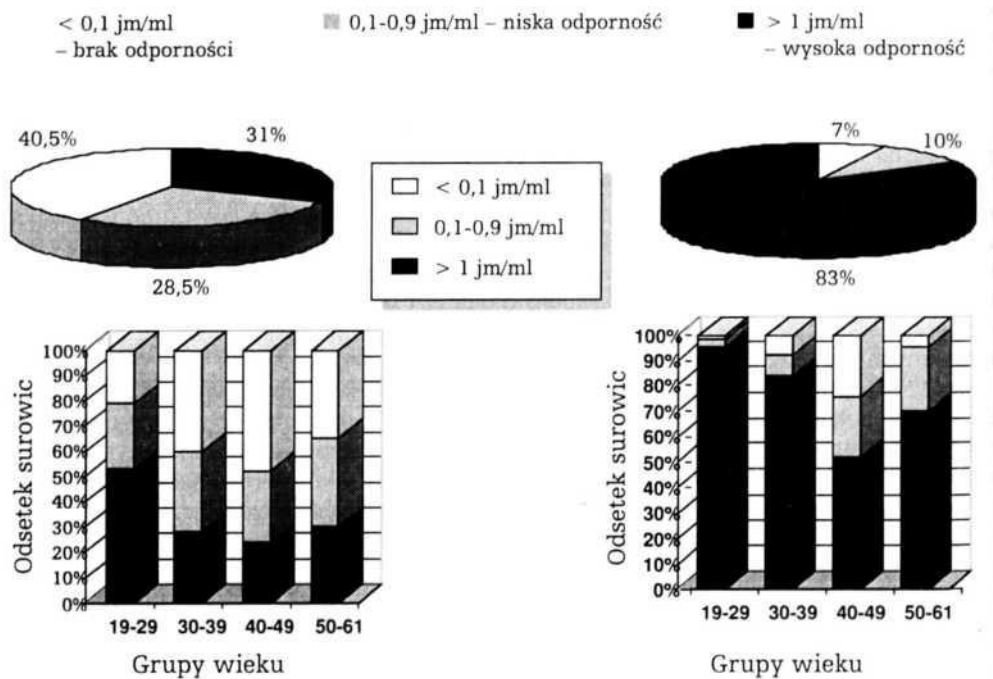
Szczepionka Td wyprodukowana w Wytwórni Surowic i Szczepionek „BIOMED” w Krakowie przeszła badania laboratoryjne i została dopuszczona do szczepienia pilotowego w 1992 roku. (12). Pojedyncza dawka szczepionki 0,5 ml zawierała 2 Lf toksoidu błoniczego, 10 BU toksoidu tężcowego i 0,4 mg glinu. Szczepionką tą zaszczepiono 3 grupy ochotników, łącznie 136 osób w wieku 19–65 lat. I grupę stanowili uczniowie średnich szkół medycznych w Warszawie; 51 osób w wieku 19–24 lat, II grupę – pracownicy PZH i członkowie ich rodzin; 41 osób w wieku 25–65 lat, III grupę – pracownicy Zakładu Mikrobiologii Akademii Medycznej w Krakowie; 44 osoby w wieku 22–57 lat. Bezpieczeństwo szczepionki oceniono na podstawie analizy kart obserwacji poszczepiennej. Karty wypełniały osoby z pierwszej i trzeciej grupy. Analiza objęła 81/95 osób, ponieważ 14 osób spośród ankietowanych nie zwróciło kart. Reakcje na szczepionkę obserwowano przez trzy kolejne dni po wstrzyknięciu. 40/81 (49%) wśród ankietowanych zgłaszało ból, a 16/81 (19%) zaczerwienienie w miejscu wstrzyknięcia. 11/81 (13%) podawało uczucie ogólnego rozbięcia i 22/81 (34%) nieznaczne podwyższenie temperatury ciała nie przekraczające 37°C. Z obserwacji wynika, że szczepionka była dobrze tolerowana. Lekkie odczyny, które mogły też być reakcją na zawarty w szczepionce adiuwant, pojawiały się w ciągu 1–2 dni po szczepieniu i znikły w ciągu 2–3 dni.

Immunogenność szczepionki Td oceniano badając poziom przeciwciał błoniczych w 136 parach próbek surowicy krwi pobranej od ochotników przed szczepieniem szczepionką Td i 4 tygodnie po szczepieniu. Przeciwciała błonice oznaczono metodą ELISA przyjmując stężenie przeciwciał 0,1 jm/ml za chroniące przed zachorowaniem na błonicę, a powyżej

Profilaktyka i leczenie

1 jm/ml za zapewniające ochronę na okres około 10 lat. Badania potwierdziły wysoką immunogenność szczepionki Td zastosowanej u osób dorosłych. W całej grupie badanej serokonwersję po szczepieniu Td, u uprzednio nieodpornych osób, zanotowano u 33/42 osób. 9 osób (7%) nie zareagowało na szczepionkę wzrostem przeciwciał błoniczych ponad poziom ochronny. Odsetek osób z poziomem przeciwciał powyżej 1 jm/ml wzrósł dwukrotnie w porównaniu z obserwowanym przed szczepieniem (ryc.1)

Rys.1 Poziom przeciwciał i stopień uodpornienia przeciw błonicy u osób dorosłych przed szczepieniem Td i cztery tygodnie po szczepieniu Td

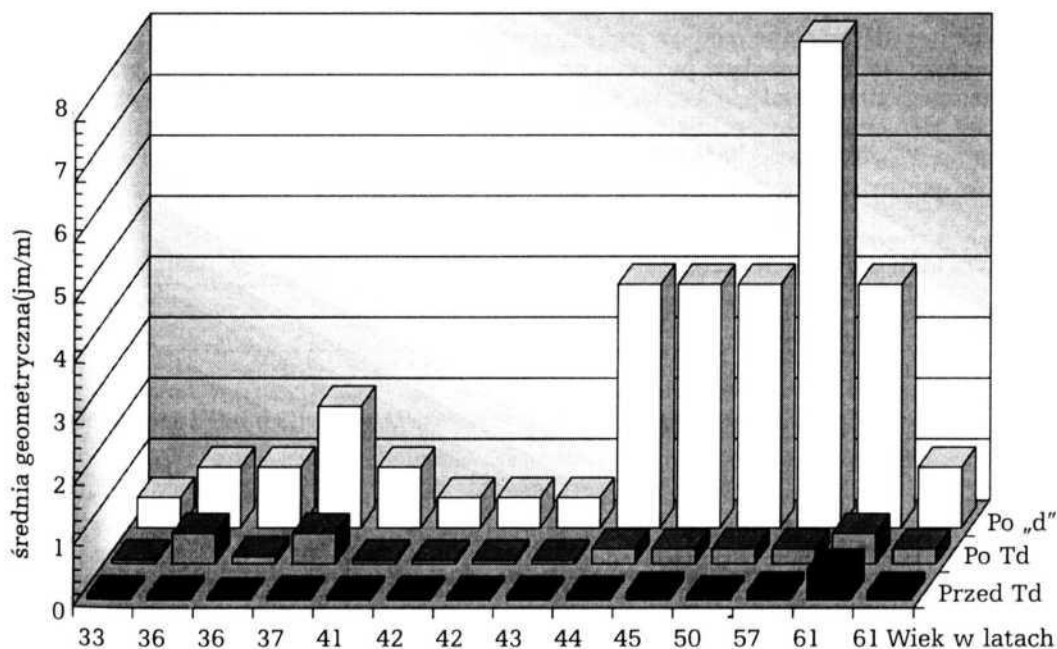


Analizując właściwości uodparniające szczepionki Td w poszczególnych grupach wieku można stwierdzić, że jedna dawka szczepionki dobrze stymuluje produkcję przeciwciał błoniczych, jeżeli działa jako dawka przypominająca. Najwyższą serokonwersję i najwyższy odsetek osób z wysoką odpornością obserwowano w przedziale wieku 19-29 lat, a więc u tych osób, które w dzieciństwie przeszły obowiązkowe szczepienie przeciw błonicy, a od ostatniej dawki przypominającej toksoidu błoniczego nie minęło więcej niż 10 lat. Również w grupie najstarszej (50-61 lat) zauważono wysoką skuteczność testowanej szczepionki. Część osób z tego przedziału wieku prawdopodobnie zachowała jeszcze odporność naturalną, gdyż w latach 1950-55 w Polsce panowała epidemia błonicy, co stwarzało możliwość nabywania odporności na drodze zakażeń bezobjawowych lub przechorowania na błonicę. Podanie szczepionki Td mogło zadziałać u tych osób jak dawka przypominająca. Osoby pomiędzy 30-50 rokiem życia najslabiej zareagowały na szczepienie toksoidem błoniczym w dawce 2 Lf. W grupie 40-49 lat odsetek odpornych po szczepieniu Td był najniższy spośród całej grupy badanej. Polska była jednym z pierwszych krajów w Europie, który zainicjował szczepienia przeciw błonicy. Państwowy Zakład Higieny już w 1924 roku podjął próby szczepienia dzieci toksoidem błoniczym, ale dopiero w drugiej połowie lat 50 tych przystąpiono do organizacji masowych szczepień w całym kraju stosując skuteczną adsorbowaną szczepionkę błoniczą. Duża część osób nigdy nie była uodpar-

niana przeciw błonicy jak również nie miała okazji do zetknięcia się z toksynogennymi szczepami *C. diptheriae*.

Dla zapewnienia odpowiedniej indukcji przeciwciał błoniczych u osób, które pozostały nadal wrażliwe na zachorowanie na błonicę pomimo otrzymania szczepionki Td zastosowano drugą dawkę toksoidu błoniczego w formie monowalentnej szczepionki d o takiej samej zawartości antygeny (2 Lf). Do powtórnego szczepienia zakwalifikowano również osoby z poziomem przeciwciał poniżej 1 jm/ml. Po podaniu drugiej dawki szczepionki błoniczej (2 Lf) u wszystkich zaszczepionych osób stwierdzono wzrost przeciwciał błoniczych do poziomu zapewniający ochronę przed zachorowaniem na okres około 10 lat (ryc. 2).

Ryc. 2. Pozom przeciwciał błoniczych u osób dorosłych w różnych grupach wieku przed szczepieniem Td, po szczepieniu Td i po szczepieniu „d”



Z badań wynika, że szczepionka zawierająca 2 Lf może być używana do uodparniania osób dorosłych. Jedna dawka szczepionki wystarczy do wywołania efektu „booster” u osób, które przeszły pierwotne uodpornienie przeciw błonicy i nie straciły jeszcze całkowicie odporności nabytej w sposób sztuczny bądź u osób, które zachowały jeszcze odporność naturalną wytworzoną w kontakcie z antygenem błoniczym. Osoby, które nie były uodparniane i te, które całkowicie straciły odporność przeciw błonicy (głównie z przedziału wieku 30–50 lat) do wytworzenia ochronnego poziomu przeciwciał potrzebują więcej niż jedną dawkę szczepionki przeciwbłoniczej przeznaczonej do stosowania u osób dorosłych.

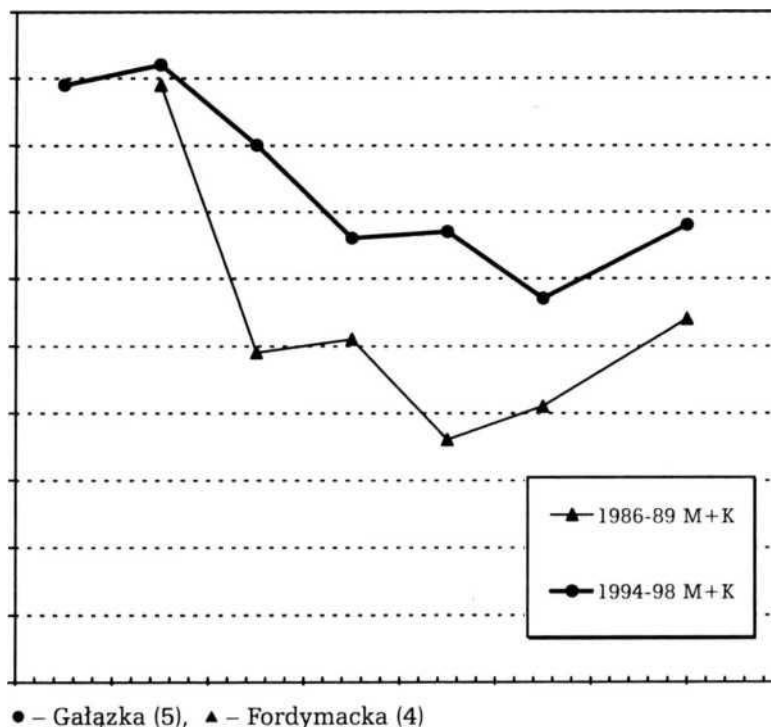
Po zakończeniu badań pilotowych w 1992 roku dokonano zmian w PSO. W miejsce monowalentnej szczepionki tężcowej podawanej młodzieży kończącej szkołę średnią w 19 roku życia wprowadzono szczepionkę tężcowo-błoniczą Td. Wystosowano również szereg zaleceń dotyczących uodparniania osób dorosłych należących do grup ryzyka, w tym zamieszkujących tereny bezpośrednio przylegające do krajów objętych epidemią.

Epidemię w krajach dawnego Związku Radzieckiego udało się opanować dzięki skutecznej interwencji oraz pomocy ze strony innych państw. Od 4 lat w Polsce nie rejestruje się

Profilaktyka i leczenie

zachorowań na błonicę, ale problem uodpornienia osób dorosłych jest nadal otwarty. Błonica nie została jeszcze wyeliminowana, występuje endemicznie w wielu krajach, a ostatnia epidemia pokazała, że zachorowania mogą być przenoszone na osoby wrażliwe, tj. z niskim poziomem przeciwciał. Ważną sprawą jest zatem utrzymanie stałego wysokiego poziomu uodpornienia dzieci poprzez wysoki odsetek pokrycia szczepieniami oraz podtrzymywanie zanikającej odporności u osób dorosłych poprzez stosowanie przypominających dawek szczepionek zawierających małe ilości toksoidu błoniczego (Td i „d”). Obowiązujący w Polsce Program Szczepień Ochronnych zaleca stosowanie szczepionki Td u dorosłych co 10 lat, jednak zalecenie to jest trudne do wykonania i monitorowania. Wyniki ostatniego przeglądu seroepidemiologicznego po kilku latach stosowania tej szczepionki nadal są niezadowalające. W badaniach stwierdzono ogółem 77% osób odpornych na błonicę. Odporność ta była najwyższa wśród dzieci i młodzieży, a następnie spadała w starszych grupach wieku. Osoby należące do przedziału wieku 30-60 lat można zaliczyć do grupy ryzyka, ponieważ odsetek odpornych (60%) był znacznie niższy niż w całej populacji (4). Był również niższy niż uznany za chroniący przed epidemią, który określono na 70 % (1). Porównując wyniki przeglądu poziomu przeciwciał błoniczych w latach 90 z wynikami z poprzedniego dziesięciolecia można zauważyć nieznaczną poprawę stopnia uodpornienia przeciw błonicy (5), szczególnie w grupie 20-latków (efekt dodatkowej dawki przypominającej w 19 roku życia), jednakże tendencja spadku odporności na błonicę u osób dorosłych w porównaniu z grupą dzieci i młodzieży jest wyraźnie zaznaczona (ryc. 3).

Ryc. 3. Zmiany w odporności przeciw błonicy w latach 1986-1998.



Aby podnieść poziom odporności na błonicę, szczepionka Td powinna być szerzej stosowana niż przewiduje PSO, np. zamiast monowalentnej szczepionki tężcowej w profilaktyce tężca u zranionych osób, u osób pełniących służbę wojskową lub podróżujących do krajów, gdzie błonica panuje endemicznie.

Szczepienia przeciw zakażeniu *Haemophilus influenzae* typ b

Piśmiennictwo

1. Ad-hoc working group. Lancet 1978, 428-430.
2. Benenson A. American Public Health Association, 13th ed. Washington D.C. 1981, 116.
3. Feery B., Benenson A., Forsyth J. Med. J. Aust. 1981, 1: 128-130.
4. Fordymacka A.' - praca oddana do druku. Przeg. Epid. 2000
5. Gałązka A., Kardymowicz B. Epidem. Inf. 1989, 103: 587-593.
6. Gałązka A., Robertson S. Vaccine, 1996, 14(9): 845-857.
7. Gałązka A., Robertson S., Oblapenko G.. Eur. J. Epid. 1995, 11: 95-105.
8. Gałązka A., Robertson S.E. Eur. J. of Epid. 1995, 11: 107-117.
9. Langford D., Shepard W., Knight P. J. Hyg. Camb. 1982, 89: 513-519.
10. Nahum E., Lerman Y., Cohen D. Israel J. Med. Sci. 1994, 30(8): 600-603.
11. Rappouli R., Podda A. Giovannoni F. Vaccine 1993, 11: 576-577.
12. Rymkiewicz D, Zakrzewska A. Kuszewski K. Przeg. Epid., 1993, 47, 4: 388-391.
13. Simonsen O., Kjeldsen K., Vendborg A. APMIS 1986, 94: 213-18
14. Smith J. Br. Med. Buli. 1969, 25: 177-182.
15. Volk V. Gottshall R. Publ. Health. Rep. 1962, 77: 185-194.

Szczepienia przeciw zakażeniu *Haemophilus influenzae* typ b

Andrzej Zielinski

Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

Stwierdzenie przez Pittman we wczesnych latach trzydziestych występowania postaci otoczkowych i bezotoczkowych *Haemophilus influenzae*, a następnie znajdowanie szczepów otoczkowych w płynie mózgowo-rdzeniowym i we krwi dzieci chorych na zapalenie opon mózgowych otworzyło drogę do stwierdzenia przez tę samą autorkę fundamentalnego faktu, że przeciwciała przeciwotoczkowe typu b dostarczają specyficznego odporności przeciw śmiertelnym zakażeniom *Haemophilus influenzae* typu b (Hib) u zwierząt laboratoryjnych. Doprowadziło to do wczesnych prób leczenia inwazyjnych zakażeń *Haemophilus influenzae* typu b u ludzi za pomocą surowic końskich, a następnie króliczych. Przed wprowadzeniem seroterapii zakażenia te w wielkim odsetku przypadków kończyły się śmiercią (18). Niedługo jednak nastąpiła era antybiotyków i niemal przez pół wieku lekarze stawiali się raczej na szybką diagnozę i leczenie niż na zapobieganie inwazyjnym chorobom Hib. Dopiero narastająca świadomość, że antybiotyki nie tylko nie eliminują zachorowań, ale też nie zawsze są skuteczne w leczeniu tych bardzo groźnych chorób, spowodowała w latach siedemdziesiątych intensyfikację badań nad szczepionką przeciw Hib. Nie bez wpływu był coraz częściej obserwowany rozwój szczepów Hib produkujących beta-laktamazę i w związku z tym opornych na ampicillinę a także pojawianie się szczepów opornych na chloramfenikol.

Czynniki odpornościowe w zakażeniach *Haemophilus influenzae*.

Obrona organizmu przed zakażeniem Hib odbywa się na następujących poziomach: czynniki śluzówkowe, które zapobiegają przyłączeniu się bakterii do nabłonka oddechowego i jego penetracji,

aktywacja alternatywnej i klasycznej drogi komplementu co prowadzi do zabicia organizmu i reakcji zapalnej,

Profilaktyka i leczenie

- indukcja przeciwciał,
- fagocytoza przez makrofagi i granulocyty, która odbywa się w tkankach, w krwioobieg i w układzie siateczkowo-śródbłonkowym,
- mechanizmy odporności komórkowej.

Wszystkie te mechanizmy odgrywają rolę w obronie organizmu i trudno jest określić ich względną ważność. Lecz choć przeciwciała nie stanowią wyłącznego mechanizmu obronnego, ich znaczenie jest na tyle duże, że ocena immunogenności szczepionki opiera się na oznaczeniu ich poziomu (18). Na podstawie badań serokonwersji oraz zachorowalności przyjęto za dostateczne miano przeciwciał w zapobieganiu inwazyjnym chorobom wywołanym przez Hib na 0.15 μ g/ml. Ponieważ przez pierwsze 6 miesięcy obrona jest zapewniona przez przeciwciała uzyskane od matki, a po drugim roku życia wytwarzają się własne przeciwciała w sposób naturalny, szczepionka winna więc indukować przeciwciała z uwzględnieniem luki immunologicznej pomiędzy szóstym miesiącem, a drugim rokiem życia. W szeregu badań na zwierzętach stwierdzono, że szczególnie skuteczną obroną mają przeciwciała przeciw otoczkowemu polisacharydowi typu b (polyribosylri- bitol phosphate - PRP). Mają one zdolność aktywowania komplementu, są opsonofagocy- tarne, bakteriobójcze i chronią zwierzęta eksperymentalne przed śmiertelnym zakażeniem wywołanym przez Hib.

Pierwsze szczepionki zarejestrowane w USA w 1985 roku zawierały oczyszczony PRP. Wywoływały one powstawanie przeciwciał głównie w grupie IgM mniej aktywnych w zwalczaniu bakterii, a ich miano utrzymywało się na poziomie skuteczności stosunkowo krótko i posiadały stosunkowo małą siłę wiązania („zachłanność”- avidity). Szczepionki te zostały zastąpione wkrótce znacznie skuteczniejszymi szczepionkami skoniugowanymi, w których PRP jest kowalennie związany z immunogenym nośnikiem białkowym. Immunogeny nośnik białkowy jest rozpoznawany przez komórki T oraz makrofagi, pobudza on odporność komórkową zależną od limfocytów T i to pobudzenie jest wykorzystywane do tworzenia przeciwciał oraz innych elementów odpowiedzi immunologicznej w stosunku do polisacharydowego haptenu - PRP. Tak uzyskana reakcja jest bardziej skuteczna, powstałe przeciwciała w przeważającym stopniu należą do grupy IgG, ich miano utrzymuje się dłużej, charakteryzują się większym powinowactwem (affinity) większą zachłannością (avidity) od przeciwciał IgM indukowanych przez szczepionki zawierające oczyszczony PRP.

W chwili obecnej są produkowane cztery skoniugowane szczepionki przeciw Hib oparte na różnych nośnikach białkowych (1, 2, 5, 9, 18):

1. PRP-D, w której nośnikiem jest toksoid błoniczy. Jest to najstarsza szczepionka skoniugowana. Zawiera średniej wielkości cząsteczkę polisacharydową połączoną z toksoidem sześciowęglowym łącznikiem. Jest ona wysoce immunogenna u dorosłych wywołując wysokie miano przeciwciał niemal u wszystkich szczepionych. Jej skuteczność u dzieci mocno zależy od wieku. Po piętnastym miesiącu życia duże i trwałe odpowiedzi w postaci miana przeciwciał występują już po pojedynczych dawkach i dawki przypominające nie są konieczne, ale u dzieci poniżej pierwszego roku życia skuteczność tej szczepionki jest niższa niż innych szczepionek skojarzonych. Szczepionka ta nie jest zarejestrowana w Polsce.
2. HbOC, w której nośnikiem jest białko CRM197, który jest nietoksyczną odmianą toksyny błoniczej uzyskanej na drodze rekombinacji. Immunogenność tej szczepionki jest wysoka, porównywalna z uzyskiwaną przy pomocy szczepionek opartych na toksoidzie tężca (PRP-T) i wyższa od immunogenności szczepionek opartych na toksoidzie błoniczym (PRP-D) oraz na białkach błony zewnętrznej meningokoków grupy B (PRP-OMP)- Odporność bierna uzyskana przezłożyskowo od matki lub przez podanie immunoglobuliny nie zmniejsza odpowiedzi immunologicznej na tę szczepionkę. U większości dzieci przeciwciała utrzymują się przez więcej niż rok i dawka przypominająca winna być podana w wieku 16-18 miesiąca życia. Przeciwciała powstałe w wyniku szczepienia

- HbOC należą do grupy IgG1 i mają właściwości bakteriobójcze. Szczepionka ta wykazała znaczną skuteczność u dzieci z niedoborami przeciwciał (IgG2, IgA) oraz u dzieci z anemią sierpowatą. HbOC i szczepionka przeciw błonicy wzajemnie wzmacniają swe odpowiedzi immunologiczne, co ilustruje ważność preekspozycji na antygen nośnika (carrier priming) dla odpowiedzi immunologicznej na szczepionki skojarzone (13). Zazwyczaj po pierwszej dawce tej szczepionki odpowiedzi immunologiczne są nie wystarczające do zabezpieczenia przed chorobą, ale po pełnej serii trzech dawek skuteczność szczepienia sięga 100%. Jedyne zaobserwowane przypadki niepowodzeń dotyczyły dzieci z liczbą szczepień mniejszą niż trzy.
3. PRP-OMP zawiera jako komponentę białkową fragmenty pęcherzyków błony komórkowej serogrupy B *Neisseria meningitidis*. Szczepionka ta charakteryzuje się małą zależnością odpowiedzi immunologicznej od wieku dziecka. Jej cechą wyróżniającą spośród innych szczepionek skojarzonych jest zdolność do wywołania silnej odpowiedzi immunologicznej u małych dzieci (od szóstego tygodnia życia) już po pierwszej dawce. Druga dawka po 4 miesiącach zwiększa liczbę dzieci z dostateczną odpowiedzią immunologiczną, ale trzecia dawka nie poprawia już tej odpowiedzi znacząco. Dlatego w wypadku szczepienia PRP-OMP zalecane są dwa szczepienia w szczepieniu podstawowym. Ponieważ jednak szybkość opadania miana przeciwciał jest w przypadku tej szczepionki większa niż HbOC lub PRP-T dawka przypominająca jest rekomendowana wcześniej, już w dwunastym miesiącu życia.
 4. PRP-T zawiera duże polimery polisacharydowe skoniugowane z nośnikiem białkowym w postaci toksoidu tężca. Jej wzorzec immunogenności jest podobny do HbOC i podobnie jak ta szczepionka może być podawana jednocześnie z DTP w obecnie przyjętym w Polsce kalendarzu szczepień. Zachowuje też ona swą skuteczność u dzieci z częściowymi niedoborami immunologicznymi podobnie jak HbOC.

Wszystkie wymienione wyżej skoniugowane szczepionki przeciw Hib należą do najbezpieczniejszych i najmniej reaktogennych szczepionek zachowując swą skuteczność i bezpieczeństwo przy podawaniu skojarzonym z innymi szczepionkami. Nie notowano po nich żadnych poważnych objawów niepożądanych, które wiązałyby się przyczynowo ze szczepieniem przeciw Hib. Obserwowane niekiedy reakcje alergiczne nie osiągały poziomu, który uzasadniałby zaniechanie szczepienia. W skojarzeniu z innymi szczepieniami nie wykazywały zmniejszenia immunogenności, ani nie wpływały niekorzystnie na immunogenność innych szczepionek, pod warunkiem, że podawane były jednocześnie lub w odstępach nie mniejszych od trzech tygodni (18).

W 1998 roku ukazała się w Przeglądzie Pediatrycznym praca Artura Gałązki, która zawiera dobrze udokumentowane podsumowanie ówczesnej wiedzy na temat szczepionek i szczepień przeciw Hib (11). Ponieważ większość badań nad skutecznością i bezpieczeństwem tych szczepień była przeprowadzona w latach osiemdziesiątych i wczesnych dwudziestych praca Gałązki zachowuje swą aktualność w tym zakresie. Ostatnie dwa lata przyniosły jednak obszerny nowy materiał w zakresie oceny skuteczności i bezpieczeństwa szczepień, a także ekonomicznej strony programów stosujących szczepienia skojarzone w porównaniu ze szczepieniami stosowanymi oddzielnie (1, 3, 18).

Badania prowadzone w latach osiemdziesiątych wykazały wysoką skuteczność w wielu przypadkach przekraczającą 95% i jak wspomniano wyżej bardzo małą odczynowość szczepionek skoniugowanych przeciw Hib. Wprowadzone następnie programy szczepień okazały się wielkim sukcesem w zwalczaniu chorób inwazyjnych wywołanych przez szczepi otoczkowe *Haemophilus influenzae* typu b (4, 8, 14). W krajach gdzie zastosowano masowe szczepienia zachorowalność na zapalenie opon mózgowych wywołane przez Hib, która kształtowała się na poziomie od około 20 na 100 000 dzieci w wieku do lat pięciu w krajach Europy Zachodniej do 200 wśród niektórych grup rodzimych mieszkańców Ameryki spadła do poziomu odnotowanych pojedynczych przypadków tej choroby (10, 15). Jest swe-

go rodzaju paradoksem, że najwyższe wskaźniki zachorowań na inwazyjne choroby wywołane przez *Haemophilus influenzae* typu b występowały w krajach o wysokim standardzie życia i opieki lekarskiej, ale w grupach osób, które w tych społeczeństwach żyły w stosunkowo trudnych warunkach bytowych, podczas gdy kraje rozwijające się miały często te wskaźniki niższe mimo podobieństwa warunków życia do niższych klas społeczeństw krajów przemysłowych. Przyczynę takiego stanu rzeczy można upatrywać w niskiej wykrywalności inwazyjnych chorób wywołanych przez Hib w krajach o niskim poziomie mikrobiologii szpitalnej przez co dane epidemiologiczne tych krajów nie odzwierciedlają rzeczywistego poziomu zachorowań. Istnieją poważne przesłanki, aby przyjąć iż w Polsce wykrywalność inwazyjnych chorób wywołanych przez Hib jest stosunkowo niska ze wszystkimi tego konsekwencjami epidemiologicznymi. Tymczasem, aby móc przewidzieć pozytywne skutki programu szczepień konieczne jest oparcie oszacowań na wiarygodnych danych epidemiologicznych.

Jest rzeczą oczywistą, że wszelka analiza ekonomiczna skutków programu szczepień musi być poprzedzona analizą oceny skuteczności szczepionki. Skuteczność szczepionki jest nie tylko elementem analizy ekonomicznej programu szczepień, ale wymóg, aby szczepionka była skuteczna jest warunkiem sensowności podjęcia analizy ekonomicznej (4,12,14,19). Nic w terapii, co nie jest efektywne pod względem medycznym, nie może być efektywne ekonomicznie.

Ocena ekonomiczna programu interwencyjnego, a do takich należą programy szczepień, musi zawierać porównanie jego kosztów z uzyskanymi bądź przewidywanymi efektami. Po stronie kosztów występują tu bezpośrednie koszty zakupu szczepionek i strzykawek, koszty ich transportu i przechowywania, koszty badania dzieci przed szczepieniem, wykonania szczepień, prowadzenia ich dokumentacji oraz koszty logistyczne organizacji programu szczepień. Do kosztów programu należy wliczyć też straty poniesione w wyniku niepożądanych odczynów poszczepiennych w tym koszty ich leczenia i możliwych odszkodowań. Analiza uzyskanych efektów jest bardziej złożona od analizy kosztów z tego chociażby względu, że nie wszystkie korzyści ze szczepień da się bezpośrednio przeliczyć na pieniądze (6,15,17). Objęcie analizą wszystkich aspektów szczepienia jest praktycznie nie możliwe choćby z tej racji, że w analizach wstępnych dokonywanych przed wprowadzeniem programu szczepień nie wszystkie skutki danego programu są do przewidzenia, a w analizach retrospektywnych nie o wszystkich skutkach szczepień możemy zebrać dane, a wiele z tych efektów jak zmniejszenie cierpień związanych z chorobą pozostaje w sferze imponderabiliów. Dlatego oceny programów szczepień ograniczają się zazwyczaj do zjawisk bezpośrednio lub pośrednio (przy określonych założeniach) wymiernych, a owe efekty niewymierne są traktowane jako dodatkowa przesłanka wzmacniająca lub osłabiająca wyciągnięte wnioski, ale bez przypisywania im wartości liczbowych.

Po stronie aktywów planowanego programu szczepień na pierwszej pozycji znajdują się oszczędności jakie spodziewamy się uzyskać przez zmniejszenie zachorowalności i związanych z nią kosztów leczenia. Kolejnym zyskiem z programu szczepień będzie poprawa stanu zdrowia populacji mierzona spadkiem absencji chorobowej. Jeżeli szczepienia dotyczą dorosłych, będzie to spadek absencji samych szczepionych, a w przypadku chorób wywołanych przez Hib przede wszystkim koszty absencji rodziców spowodowanej koniecznością opieki nad chorym dzieckiem. Gdy choroba w pewnym odsetku przypadków ma skutek śmiertelny można podjąć próbę oszacowania utraconych osobo-lat i nawet przypisania im wartości finansowej, choć zabiegi takie są mało przekonujące ekonomicznie i trudne do zaakceptowania pod względem etycznym.

Wyróżniamy trzy podstawowe typy analizy ekonomicznej programów interwencyjnych noszące w literaturze ekonomicznej nazwy: „cost-effectiveness”, „cost-benefit” oraz „cost-utility” (6). Różnią się one sposobem określania skutków programu, a mianowicie tym co przyjmujemy za miarę naszych korzyści i co w ostatecznym rachunku odnosimy do poniesionych kosztów. W analizie typu „cost-effectiveness” badamy pojedynczy wspólny efekt

naszych interwencji i wyliczamy jednostkowy koszt uzyskania tego efektu. Efektem mogą być na przykład osobo-lata o które nasza interwencja przedłużyła życie różnym członkom badanej populacji lub zmniejszenie liczby zachorowań na daną chorobę po interwencji. Są to badania stosunkowo proste do przeprowadzenia, ale można im postawić zarzut, że upraszczają rzeczywistą sytuację w której zwykle mamy do czynienia z wielorakimi skutkami, które tworzą prawdziwy obraz uzyskanego efektu dopiero wtedy, gdy zintegrujemy je razem. Taką sytuację próbuje oddać analiza „cost-benefit”. W analizach tego typu usiłuje się znaleźć wspólny mianownik dla różnych współwystępujących efektów, aby móc im przypisać porównywalne z sobą liczby. Niemal zawsze cel ten osiąga się przypisując uzyskanym efektom wartość finansową. Trudności z wyceną skutków medycznych programu są oczywiste i dlatego analizy tego typu są często krytykowane. Sposoby wyliczania opierają się tu na deklarowanej lub obserwowanej chęci poniesienia kosztów (willingness-to-pay) przez uczestników programu lub na próbach przypisania wartości rynkowej uzyskanym skutkom programu. Może to być na przykład przeliczenie dni absencji chorobowej w pracy na sumę średnich zarobków dziennych jakie uzyskują członkowie badanej populacji. Kalkulacje takie wymagają niekiedy stosowania dodatkowych przeliczników, ponieważ waga każdej złotówki jest inna dla ludzi o dużych dochodach, a inna o małych.

W analizie tych programów, których skutki można przeliczyć na lata o które program przedłuża życie członkom populacji stosowany bywa typ badań zwany „cost-utility”. Jest to odmiana badań „cost-effectiveness” polegająca, głównie na tym, że owe oszczędzone lata są liczone z poprawką na jakość życia. Jest zrozumiałe, że lepszym efektem jest przedłużenie życia w warunkach sprawności fizycznej i umysłowej niż przedłużenie go o lata pełne cierpienia i konieczności opieki ze strony innych osób. Przy stosowaniu przeliczników tego rodzaju nie sposób ustrzec się od arbitralności.

W ekonomicznej analizie programu szczepień najprostszy z wymienionych wyżej typów analizy: „cost-effectiveness” jest nie tylko najłatwiejszy w zastosowaniach, ale w większości przypadków daje dostatecznie przejrzysty obraz kosztów programu w przeliczeniu na jeden przypadek zapobieżenia chorobie. Bowiernie zapobieganie zachorowaniom na chorobę, przeciw której są prowadzone szczepienia, jest podstawowym oczekiwanym dobrodziejstwem programu szczepień. Metoda ta daje również możliwość porównywania różnych typów szczepionek i kalendarzy ich podawania z punktu widzenia jednostkowych kosztów zapobieżenia chorobie.

Powstaje pytanie, jak na podstawie dostępnych danych epidemiologicznych można oszacować zachorowalność na zapalenie mózgu wywołane przez *Haemophilus influenzae* typu b w Polsce? Pierwszy takiego oszacowania dokonał A. Gałązka: „W Polsce rejestruje się rocznie około 1700 przypadków BZO (bakteryjnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych). Przy założeniu, że 25% (tak jak w niektórych krajach europejskich) lub 50% (tak jak w USA przed wprowadzeniem szczepień) wszystkich BZO jest wywołanych przez Hib, należy spodziewać się w Polsce od 425 do 850 zachorowań na zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych wywołanych przez Hib rocznie. Ten szacunek dobrze koreluje z 700 przypadkami zachorowań BZO Hib oszacowanymi przez przyjęcie angielskiego wskaźnika zapadalności (29 na 100 000 dzieci poniżej 5 roku życia) i kohorty 2.7 miliona dzieci w Polsce w tym wieku” (11). Gałązka porównuje tu oszacowanie dla wszystkich grup wiekowych z oszacowaniem dla grupy dzieci do lat 5. Tymczasem w cytowanej przez niego pracy zapalenie opon mózgowych u dzieci w wieku 0–4 lata w Bernalillo county stanowią 88% wszystkich zapaleń opon mózgowych, a w polskich raportach epidemiologicznych odsetek ten wynosi 28–34% czyli ponad dwukrotnie mniej (10). Dlatego szacowanie dla Polski ilości zachorowań na zapalenie opon wywołane przez Hib, w oparciu o amerykańskie odsetki tej etiologii w populacji ogólnej prowadzi najprawdopodobniej do znacznego zawyżenia wyniku. Jeżeli odsetek zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych wywołanych przez Hib przyjąć na 50% w grupie wieku 0–4 lata to dla danych polskich wyniosłoby to niewiele ponad 10 zachorowań na 100 000 dzieci w tej grupie wieku, w przybliżeniu tyle, ile wyniosło oszacowa-

Profilaktyka i leczenie

nie dokonane przez Tomaszunas-Błaszczyk w 1998 roku dla województwa Bydgoskiego (10.5). Tabela przedstawiona poniżej zawiera dane epidemiologiczne odnośnie zarejestrowanych bakteryjnych zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych (BZO) w Polsce w latach 1997 i 1998 ogółem oraz o potwierdzonej etiologii Hib dla populacji ogólnej i w grupie wieku -

- 4 lata:

Tabela 1.

ROK	BZO		BZO na 100 000		BZO-Hib		BZO-Hib na 100 000	
	ogółem	0-4	ogółem	0-4	ogółem	0-4	ogółem	0-4
1997	1808	508	4.68	22.35	95	66	0.25	2.90
1998	1217	419	3.15	19.29	101	63	0.26	2.90

Nawet przyjmując grube zaniżenie wskaźników zachorowalności na BZO-Hib u dzieci w grupie wieku 0-4 lata w Polsce spowodowane niskim poziomem diagnostyki bakteriologicznej, trudno jest zaakceptować angielski wskaźnik zachorowalności (29/100 000) przy ogólnym wskaźniku dla wszystkich BZO w tej grupie wieku poniżej 23/100000. W świetle powyższych rozważań, górna granica rocznej liczby zachorowań w Polsce dzieci poniżej piątego roku życia na zapalenie opon mózgowych wywołane przez *Haemophilus influenzae* typu b nie powinna przekraczać 500 czyli liczby wszystkich BZO w tej grupie wieku. Byłaby to jednocześnie górna granica liczby przypadków jakim skutecznym programem szczepień przeciw *Haemophilus influenzae* typu b mógłby zapobiec.

Stosując jako wskaźnik efektywności programu szczepień przeciw Hib we Francji koszt jednego roku przedłużenia życia Livartowski i wsp. oszacowali go na 54084 FF, a po przyjęciu poprawki na jakość życia na 34050 FF (14). W oszacowaniu tym oparli się na wskaźniku zachorowań na zapalenie opon mózgowych na poziomie 17/100 000 przy kosztach za kompletne zaszczepienie ponoszonych przez system ubezpieczeń 282.10 FF a przez rodzinę dziecka 151.90 FF. Autorzy ci przyjęli 100% zaszczepienia i pełną skuteczność szczepień (14).

Ocena wysokości kosztu zapobieżenia zachorowaniu pozostaje niepełna bez oszacowania kosztów leczenia przypadku zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych wywołanego przez Hib oraz jego potencjalnych następstw przewlekłych. We francuskich oszacowaniach leczenie ostrej fazy zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych wynosi 46000 FF, a innych chorób inwazyjnych 34800 FF. Leczenie zaburzeń słuchu oszacowano na 21 000 FF rocznie, a przewlekłe powikłania neurologiczne od 23930 do 301 500 FF rocznie w zależności od ich ciężkości (14). Nie znalazłem danych, które pozwoliłyby na dokonanie podobnych oszacowań dostosowanych do warunków polskich.

W warunkach ograniczonych środków kluczem do decyzji o wprowadzeniu danego szczepienia jako obowiązkowego jest prócz analizy kosztów i efektów świadomość, jakie są inne możliwości wydatkowania tych pieniędzy, które musielibyśmy wydać w naszym programie. Innymi słowy, komu zabrać, a komu dać. Przy czym właściwe jest poddanie analizie ekonomicznej również tych alternatywnych programów, aby upewnić się, że skąpiąc na jakimś programie, nie dajemy pieniędzy na inny jeszcze mniej efektywny. Analiza kosztu innych możliwości, czyli tak zwanego „opportunity cost” pozostaje poza zakresem tego opracowania (6).

PIŚMIENNICTWO

1. Andre FE. Vaccine 1999; 17: 1620-7.
2. Anglo CT, Maniscalco WM, Pichichero ME. Paediatrics 1995; 96: 18-22.

Stan uodpornienia populacji polskiej przeciw odrze

3. Asensi F, Otero MC, Perez-Tamarit, i wsp. *Vaccine* 1995; 13: 1563-6.
4. Beutels PH, Bonanni P, Tormans G, Canale F, Cuneo Crovari P. *Vaccine* 1999; 17: 2400-9.
5. Chung GH, Kim KH, Daum RS, i wsp. *Infection and Immunity* 1995; 63: 4219-23.
6. Drumont MF, Stoddart GL, Torrance GW. Oxford University Press. Oxford 1996.
7. Englund JA, Glezen WP, Turner C i wsp. *J Infect Dis* 1995; 171: 99-105.
8. Eskola J, Peltola H, Kayhty H i wsp. *J Infect Dis* 1992; 165 (Suppl 1); S137-8.
9. Evenberg D, Hoogerhout P, Constant AA, i wsp. *J Infect Dis* 1992; 165(Suppl 1): SI 52-5.
10. Fraser DW, Geil CC, Feldman RA. *Am J Epidemiol* 1974; 100: 29-34.
11. Gałazka A. *Przegl Pediatr* 1998; 28: 176-180.
12. Halsey NA. *Rev Infect Dis* 1989; 2, S3: S503-4.
13. Kurikka S, Kayhty H, Saarinen L, i wsp. *J Infect Dis* 1995; 172: 1268-72.
14. Livartowski A, Boucher J, Detournay B, Reinert P. *Vaccine* 1996; 14: 495-500
15. McIntyre PB, Chey T, Smith WT. *Med J Austral* 1995; 162: 245-8.
16. Makela PH, Takala AK, Peltola H, Eskola J. *J Infect Dis* 1992; 165(suppl 1): S2-6.
17. Spier RE. *Vaccine* 1998; 16: 1788-94.
18. Ward JI, Zangwill KM. W: *Vaccines* ed. Plotkin SA, Orenstein WA, WB Saunders Co, Philadelphia 1999, pp183-221.
19. Weniger BG, Chen RT, Jacobson SH i wsp. *Vaccine* 1998; 16: 1885-97.

Stan uodpornienia populacji polskiej przeciw odrze po 25 latach od wprowadzenia szczepień ochronnych

Wiesława Janaszek, Państwowy Zakład Higieny, Warszawa.

Przedstawiono stan uodpornienia populacji i odsetki osób wrażliwych na zakażenie wirusem odrzy w poszczególnych grupach wieku

WSTĘP

Trzy regiony świata zadeklarowały eliminację odrzy jako cel w zakresie zwalczania chorób zakaźnych na najbliższe lata. Region obu Ameryk zaplanował eliminację odrzy do 2000 r., Region Europejski do 2007 r., a Wschodni Region Basenu Morza Śródziemnego do 2010 r.

Celem programów dotyczących eliminacji odrzy jest przerwanie transmisji dzikiego wirusa odrzy w populacji (2, 3, 13). Doświadczenia licznych krajów wykazały, że eliminację odrzy rodzimej można osiągnąć stosując powszechnie używaną żywą, atenuowaną szczepionkę przeciw odrze (2, 3, 12, 14).

Eliminacja odrzy w Regionie Europejskim była przedmiotem szeregu konferencji organizowanych przez WHO (15, 16, 17, 18).

W dążeniu do osiągnięcia eliminacji odrzy rodzimej w krajach należących do Regionu Europejskiego, WHO zaleca aby:

- do 2000 roku każdy kraj Regionu dokonał oceny stanu uodpornienia populacji i odsetka osób wrażliwych w poszczególnych grupach wieku oraz opracował w oparciu o powyższe dane własny plan eliminacji odrzy. Zaleca się opracowanie

Profilaktyka i leczenie

prostego, alternatywnego do przeglądu serologicznego sposobu oceny stanu uodpornienia populacji.

- do 2003 roku wszystkie kraje Regionu Europejskiego powinny mieć opracowane i wdrożone dodatkowe strategie mające na celu przyspieszenie eliminacji odry.
- do 2005 roku należy zredukować odsetki osób wrażliwych w populacji do wyznaczonych przez WHO odpowiednio niskich poziomów i utrzymać taki stan przez następne 2 lata, co powinno doprowadzić do eliminacji odry w 2007 r.

WHO na podstawie opracowanych modeli matematycznych podała minimalne dopuszczalne odsetki osób wrażliwych zmieniające się w poszczególnych grupach wieku i wynoszące: nie więcej niż 15% w grupie dzieci w wieku 4 lat, 10% wśród dzieci w wieku 5-9 lat, 5% wśród dzieci w wieku 10-14 lat oraz 5% w każdej kohorcie osób powyżej tego wieku (15).

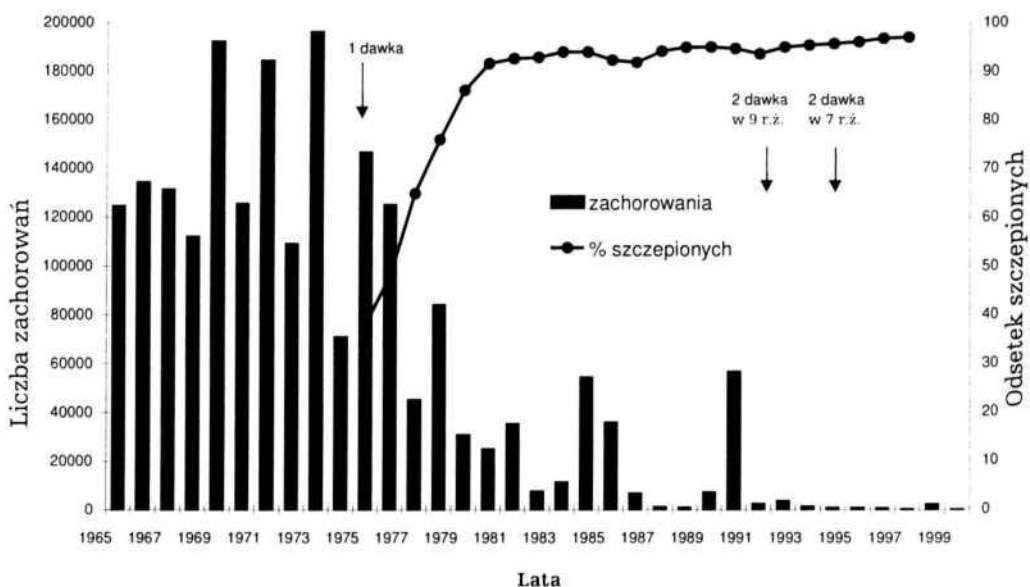
W dążeniu do eliminacji odry niezbędna jest ocena stanu uodpornienia populacji i ciągła kontrola odsetków osób wrażliwych w poszczególnych grupach wieku

WPLYW SZCZEPIEŃ OCHRONNYCH NA SYTUACJĘ EPIDEMIOLOGICZNĄ ODRY W POLSCE

Stosowana w Polsce od 1975 roku w masowych szczepieniach szczepionka przeciw odrze spowodowała spadek liczby zachorowań między rokiem 1974 a 1999 o 99,9%.

Zostały także całkowicie wyeliminowane zgony spowodowane odrą lub towarzyszącymi jej powikłaniami. Od 1992 r. nie odnotowano ani jednego zgonu z powodu odry. Obserwuje się również stopniowy zanik charakterystycznej dla odry okresowości zachorowań. Kolejne epidemie są coraz mniejsze pod względem zarówno zasięgu jak i liczby zgłaszanych przypadków i pojawiają się w coraz dłuższych odstępach czasu. Ostatnia epidemia wyrównawcza wystąpiła po 8 latach zacięcia epidemicznego i objęła zaledwie 2255 osób (Ryc. 1).

Ryc. 1. Wpływ szczepień ochronnych na liczbę zachorowań na odrę w latach 1965-1999



Niekorzystnym skutkiem wolniejszego kumulowania się osób wrażliwych w okresie stosowania szczepień ochronnych jest coraz większy udział w zachorowaniach dzieci starszych (powyżej 10 roku życia), młodzieży, a nawet osób dorosłych (4, 8, 9, 10).

OCENA STANU UODPORNIEŃ POPULACJI

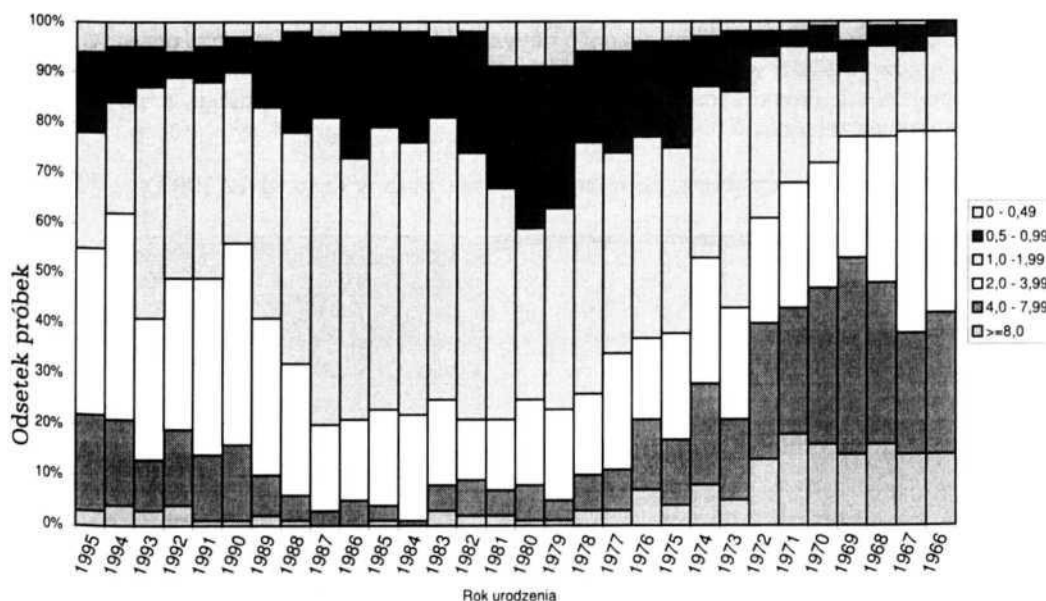
Analizę stanu uodpornienia populacji po 25 latach stosowania szczepień ochronnych przeciw odrze przeprowadzono:

- na podstawie przeglądu serologicznego w kierunku przeciwciał odrowych przeprowadzonego w oparciu o 3.000 próbek surowic zebranych w 6 wybranych losowo województwach,
- na podstawie szczepień ochronnych, analizując odsetki osób zaszczepionych pierwszą i drugą dawką szczepionki w poszczególnych rocznikach,
- na podstawie analizy zapadalności na odrę w różnych grupach wieku podczas ostatniej epidemii wyrównawczej w 1998 r.

1. Przegląd serologiczny w kierunku odrzy

Bezpośrednim sposobem oceny stanu uodpornienia populacji polskiej na zakażenie dzikim wirusem odrzy był przegląd serologiczny wykonany w 1997/98 na 3.000 próbek surowic pochodzących od osób w wieku 1-30 lat zebranych w 6 wylosowanych województwach (warszawskim, poznańskim, wrocławskim, tarnobrzeskim, lubelskim i zielonogórskim). Poziom swoistych przeciwciał odrowych w klasie IgG oznaczano metodą immuno-enzymatyczną ELISA wobec surowic standardowych mianowanych w odniesieniu do Drugiego Międzynarodowego Standardu dla ludzkiej surowicy anty-odrowej. Wszystkie próbki surowic o mianie 0,5 IU były określane jako nie chroniące przed kliniczną postacią odrzy czyli „ujemne” (5).

Ryc. 2. Przegląd serologiczny w kierunku odrzy. Rozkład miana przeciwciał odrowych w poszczególnych rocznikach



Jak przedstawiono na rycinie 2 rozkład miana przeciwciał odrowych w surowicach zmieniał się z wiekiem badanych osób. Najwyższe miana przeciwciał odrowych występowały w surowicach osób urodzonych przed 1974 rokiem, które odporność uzyskały w wyniku naturalnego zakażenia wirusem odrzy.

Wśród 3000 przebadanych surowic w 2880 (96%) stwierdzono ochronne miano przeciwciał odrowych. Jak przedstawiono w tabeli I odsetek surowic ujemnych zmienił się wraz z wiekiem osób badanych.

Profilaktyka i leczenie

Tab. I. Odsetki osób wrażliwych wg wieku. Zalecenia WHO oraz wyniki przeglądu serologicznego

Wiek (lata)	Odsetek	
	Zalecenia WHO (%)	Wyniki przeglądu serologicznego (%)
1-4	15,0	6,0
5-9	10,0	3,6
10-14	5,0	2,4
15-19	5,0	8,2
20-24	5,0	3,2
25-30	5,0	1,5

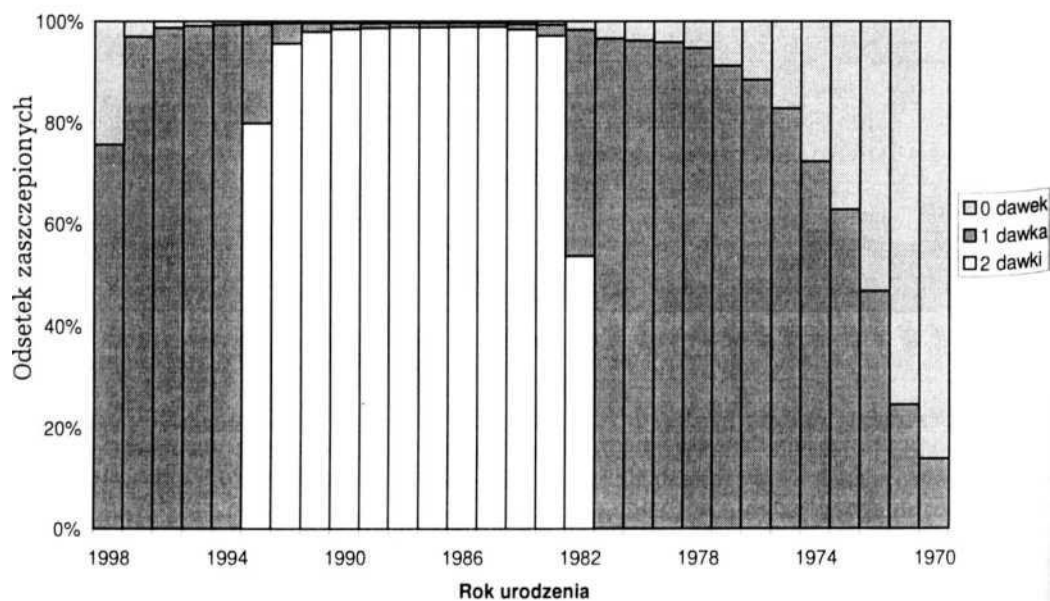
Najwyższy odsetek prób ujemnych przekraczający limit wrażliwości ustanowiony przez WHO stwierdzono w grupie osób, które w czasie przeprowadzania przeglądu serologicznego były w wieku 15-19 lat (8,2%), Osoby te, szczepione w pierwszych latach po wprowadzeniu szczepień ochronnych przeciw odrze, nie zostały objęte dawką przypominającą szczepionki odrowej wprowadzoną w 1991 roku.

2. Ocena odsetka osób niechronionych szczepieniami

Na rycinie 3 przedstawiono odsetek zaszczepionej populacji w Polsce w dniu 31.12.1999 r.

Biorąc pod uwagę wysoką skuteczność używanej w Polsce szczepionki przeciw odrze wynoszącą powyżej 95% w latach epidemicznych przyjęto, że odsetek osób nieuodpornionych po podaniu 1 dawki szczepionki wynosi 5% zaszczepionej populacji, a po podaniu dwóch dawek szczepionki 0,5%.

Ryc. 3. Odsetek zaszczepionej populacji w Polsce. Stan w dniu 31.12.1999 r



Na podstawie wzoru zaproponowanego przez WHO obliczono ogólny odsetek osób niechronionych szczepionką.

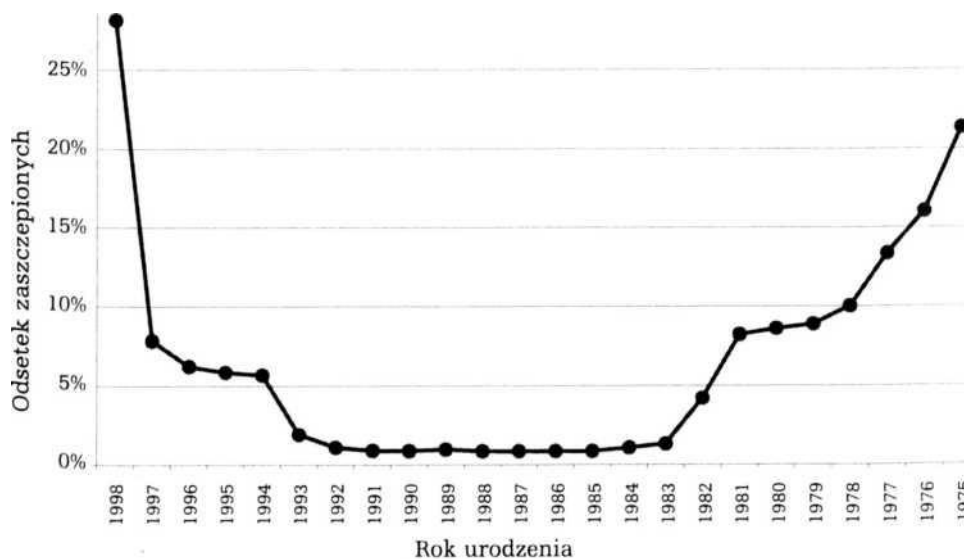
$$\begin{aligned} & \% \text{ niechronionej szczepionką kohorty} \\ & \quad = \\ & \quad \% \text{ nieszczepionych} \\ & \quad + \\ & \quad \% \text{ szczepionych 1 dawką} \times (1 - \text{skuteczność 1 dawki}) \\ & \quad + \\ & \quad \% \text{ szczepionych 2 dawkami} \times (1 - \text{skuteczność 2 dawek}) \end{aligned}$$

W tej uproszczonej analizie nie wzięto pod uwagę odsetka osób, które uzyskały odporność przeciw odrze w wyniku naturalnego zakażenia.

W populacji osób urodzonych w latach 1982–1993 szczepionych dwukrotnie odsetek osób nieszczepionych przeciw odrze w poszczególnych rocznikach jest na tyle niski, że nie ma istotnego wpływu na ocenę stanu uodpornienia.

Na ryc. 4 przedstawiono odsetki osób niechronionych szczepionką w populacji polskiej. Największy odsetek osób wrażliwych na zakażenie wirusem odrzy występuje wśród dzieci w drugim roku życia, które ze względu na opóźnienie w szczepieniu podstawowym nie zostały zaszczepione przeciw odrze w terminie przewidzianym w kalendarzu szczepień (13–15 m.ż.). Następne roczniki mieszczą się w limicie wrażliwości wyznaczonym przez WHO. Dzieci urodzone w latach 1982–1997, które swą odporność przeciw odrze zawdzięczają głównie szczepieniom, osiągnęły odporność grupową w skali kraju. Trudniejsza sytuacja epidemiologiczna występuje wśród osób starszych urodzonych w roku 1981 lub wcześniej. Odsetek osób urodzonych w latach 1975–1981 niechronionych szczepieniem jest stosunkowo wysoki (5%). Należy jednak pamiętać, że wiele osób z tej grupy uzyskało odporność w drodze naturalnego zakażenia wirusem odrzy.

Ryc. 4. Odsetek populacji niechronionej szczepieniami w roku 1999



3. Analiza zapadalności na odrę według wieku podczas epidemii w roku 1998

W roku 1998 po 8 latach zaciśza epidemicznego wystąpiła kolejna epidemia wyrównawcza odrzy. W ciągu całego roku zgłoszono na podstawie rozpoznania klinicznego 2255 przypadków odrzy. Tylko 384 przypadki podejrzane jako odra (17,2%) zbadano laboratoryj-

Profilaktyka i leczenie

nie. Spośród tych 384 przypadków 275 (71,6%) zostało potwierdzonych w wyniku wykrycia w surowicy swoistych przeciwciał odrowych w klasie IgM lub stwierdzenie 4-krotnego wzrostu miana przeciwciał w klasie IgG.

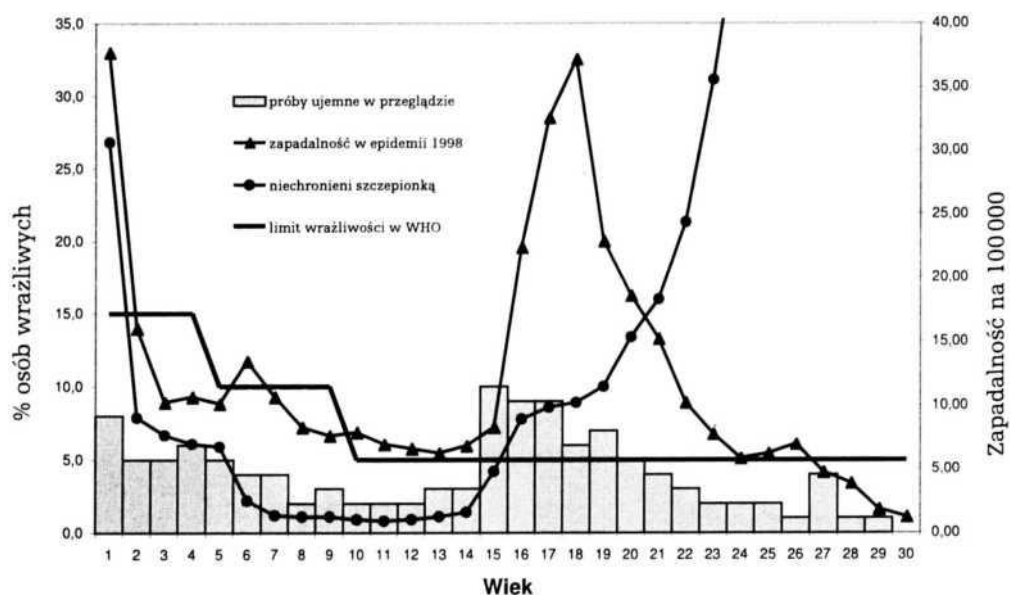
Chociaż wzrost zachorowań w stosunku do roku 1997 był ponad 6-krotny, epidemia nie objęła wszystkich województw. W 7 z 49 województw nie zaobserwowano wzrostu zachorowań, a w dalszych 13 województwach wzrost był nieznaczny.

W 16 województwach (32,6%) zapadalność na odrę była mniejsza niż 1/100 000 mieszkańców, w tym w 1 województwie (bielskopodlaskim) nie zgłoszono ani jednego przypadku odry. W 13 województwach (26,5%) zapadalność wahała się w granicach 1-3/100 000 mieszkańców. Oceniając zapadalność w poszczególnych grupach wieku wykazano najwyższą zapadalność u dzieci w drugim roku życia (37,8/100 000) oraz u niemowląt w wieku poniżej 12 m.ż. (24,6/100 000), a następnie w grupie młodzieży w wieku 15-20 lat (18,7-36,2/100 000).

Na ryc. 5 zestawiono wyniki różnych metod oceny odsetka osób wrażliwych na zakażenie wirusem odry określonego według wieku badanej populacji. Badania te wykonano w okresie 1997-1998 r.

Przedstawione wyniki wskazują na wysoki stopień korelacji stosowanych metod w ocenie wrażliwości populacji na zakażenie wirusem odry ($p < 0,001$).

Ryc. 5. Ocena wrażliwości populacji na zakażenie wirusem odry



4. Poziom przeciwciał odrowych u dzieci w wieku poniżej 12 m.ż.

Aby zbadać przyczynę wysokiej zapadalności na odrę wśród niemowląt w wieku poniżej 12 m.ż. przeprowadzono ocenę szybkości zanikania w ich surowicach swoistych przeciwciał odrowych otrzymanych od matki w okresie życia płodowego. Poziom przeciwciał odrowych oceniano metodą immunoenzymatyczną ELISA. Porównano dwie grupy niemowląt w wieku 6-14 m.ż. Jedna grupa obejmowała niemowlęta urodzone z matek szczepionych w przeszłości przeciw odrze, druga grupa niemowlęta urodzone przez matki nie-szczepione, które odporność zawdzięczają przechorowaniu w dzieciństwie odrze.

Wyniki zawarte w tabeli II wskazują, że u niemowląt pochodzących od matek szczepionych w dzieciństwie przeciw odrze już od 9 m.ż. nie wykrywa się ochronnych poziomów prze-

Tab. II. Poziom przeciwciał odrowych i odsetek prób ujemnych w surowicach niemowląt urodzonych z matek szczepionych przeciw odrze oraz nieszczepionych

Wiek dziecka [mies]	Ilość próbek	śr. geom. miana	Ilość próbek ujemnych	% próbek ujemnych	Matki							
					Szczepione				Nieszczepione			
					Ilość próbek	śr. geom. miana	Ilość próbek ujemnych	% próbek ujemnych	Ilość próbek	śr. geom. miana	Ilość próbek ujemnych	% próbek ujemnych
6	25	0,7073	12	48,0	13	0,5840	8	61,5	12	0,8704	4	33,3
7	30	0,3552	21	70,0	15	0,1835	13	86,7	15	0,6877	8	53,3
8	31	0,1848	25	80,6	16	0,0808	15	93,8	15	0,4465	10	66,7
9	29	0,1225	26	89,7	15	0,0722	15	100,0	14	0,2159	11	78,6
10	30	0,0578	28	93,3	14	0,0232	14	100,0	16	0,1284	14	87,5
11	25	0,0395	23	92,0	13	0,0250	12	92,3	12	0,0648	11	91,7
12	30	0,0410	28	93,3	15	0,0269	15	100,0	15	0,0624	13	86,7
13	27	0,0158	27	100,0	12	0,0081	12	100,0	15	0,0270	15	100,0
14	26	0,0080	26	100,0	14	0,0091	14	100,0	12	0,0069	12	100,0

ciwciał odrowych. Średnia geometryczna miana w surowicach tej grupy dzieci wahała się w granicach od 0,58 IU/ml u dzieci w 6 m.ż. do 0,009 IU/ml u dzieci w 14 m.ż. U niemowląt urodzonych z matek, które w przeszłości chorowały na odrę, zanik przeciwciał obserwowano od 13 m.ż. Średnia miana przeciwciał odrowych w tej grupie dzieci wahała się od 0,87 IU/ml u dzieci w 6 m.ż. do 0,006 IU/ml u dzieci w 14 m.ż. Uzyskane wyniki potwierdzają wcześniejsze doniesienia świadczące o tym, że dzieci urodzone z matek, które chorowały na odrę mają wyższe miana przeciwciał odrowych w momencie urodzenia, które wolniej zanikają w surowicy niemowląt niż dzieci urodzone z matek szczepionych przeciw odrze (1, 6, 7, 11).

Ocena wrażliwości populacji na zakażenie wirusem odrzy dokonana na podstawie: analizy odsetków osób zaszczepionych w poszczególnych kohortach, wyników przeglądu serologicznego w kierunku odrzy oraz zależnej od wieku zapadalności podczas ostatniej epidemii wykazała, że najwyższy odsetek osób wrażliwych występuje wśród niemowląt w wieku powyżej 8 m.ż. oraz wśród dzieci w drugim roku życia, a także w grupie młodzieży urodzonej w latach 1975–1981, która została zaszczepiona w pierwszych latach po wprowadzeniu szczepień ochronnych przeciw odrze i nie została objęta ze względu na wiek dawką przypominającą szczepionki.

Wnioski

1. Sytuacja epidemiologiczna odrzy w kraju świadczy, że Polska ma duże szanse na osiągnięcie eliminacji odrzy rodzimej w najbliższych latach.
2. Istnieje pilna potrzeba laboratoryjnego potwierdzenia wszystkich przypadków podejrzanych jako odra na podstawie rozpoznania klinicznego.
3. Młodzież w rocznikach 1975–1981, wśród której stwierdzono wysoki odsetek osób wrażliwych na zakażenie wirusem odrzy, powinna zostać zaszczepiona dawką przypominającą szczepionki odrowej.
4. Ze względu na wciąż zwiększający się odsetek dzieci urodzonych z matek szczepionych przeciw odrze, u których następuje szybsze zanikanie uzyskanych przeciwciał odrowych, proponuje się przesunięcie wieku podania pierwszej dawki szczepionki przeciw odrze z 13–14 m.ż. na 12–13 m.ż.

PIŚMIENNICTWO

1. Carson MM, Spady DW, Albrecht P i in. *Pediatr Infect Dis J* 1995, 14, 17–22.
2. Heinonen OP, Paunio M, Peltola H. *Ann Med* 1998, 30, 131–133.
3. Hirshon JM, Irons B, Figueroa P i in. *Am J Public Health* 1999, 89, 1254–1255.
4. Janaszek W. *Przeg Epidemiol* 1998, 52, 413–425.

Profilaktyka i leczenie

5. Janaszek W, Gut W. Przeg Epidemiol 1999, 53, 291-298.
6. Lennon JL, Black FL. J Pediatr 1986, 108, 671-676.
7. Maldonato YA, Lawrance EC, Hovitz R de i in. Pediatrics 1995, 96, 447-450.
8. Naruszewicz-Lesiuk D. Przeg Epidemiol 1992, 46, 43-50.
9. Naruszewicz-Lesiuk D. Przeg Epidemiol 1998, 52, 13-21.
10. Naruszewicz-Lesiuk D. Przeg Epidemiol 1999, 53, 13-22.
11. Pabst HF, Spady DW, Marusyk RG i in. Pediatr Infect Dis J 1992, 11, 525-529.
12. Peltola H, Davidkin I, Valle M i in. Lancet 1997, 350, 1364-1365.
13. Quadros CA de, Hersh BS, Nogueira AC i in. Bull WHO 1998, 76 Suppl 2, 47-52.
14. Quadros CA de, Olive JM, Hersh BS i in. JAMA 1996, 275, 222-229.
15. Ramsay M. WHO Expanded Programme on Immunization Seventh Meeting of National Programme Managers 1997 November, Berlin, Germany.
16. Roure C. EPI Progress Report Fifteenth Meeting of the European Advisory Group on the Expanded Programme on Immunization 1998, Warsaw, Poland.
17. WHO Regional Office for Europe. Report on a WHO Consultation 1996 November, Copenhagen, Denmark.
18. WHO Regional Office for Europe. European Advisory Group on EPI. Report on the 13th Meeting 1997 March, Paris, France.

Problemy związane ze szczepieniami w opinii epidemiologa wojewódzkiego

Roman Graczykowski, Elżbieta Narolska-Wierczewska
Wojewódzka Stacja Sanitarno-Epidemiologiczna w Bydgoszczy

Wstęp

Dobrodziejstwa, będące konsekwencją masowych szczepień ochronnych są bardzo dobrze znane – w historii rozwoju ludzkości nie było lepszej i tańszej metody zapobiegania chorobom zakaźnym. Jest to dynamiczny proces, wymagający precyzyjnej organizacji, właściwej implementacji oraz ciągłego nadzoru przeciwepidemicznego i monitorowania.

Podstawowym celem masowych szczepień ochronnych jest nie tylko ochrona indywidualna poprzez wytworzenie czynnej odporności osobniczej ale jednocześnie w wielu przypadkach osiągnięcie eliminacji i eradykacji choroby zakaźnej w populacji poprzez wytworzenie odporności zbiorowiskowej (herd immunity).

Generalne założenia polityki szczepień masowych określone są w "Rozszerzonym Programie Szczepień" (EPI) Światowej Organizacji Zdrowia, zaś Narodowe Programy Szczepień formułują szczegółowe rozwiązania dotyczące między innymi form prawnych realizacji szczepień, rodzajów szczepień, rekomendowanych preparatów (z zawartością antygenów i schematami dawkowania) oraz wieku osób podlegających szczepieniom (tzw. kalendarz) i grup szczególnie narażonych na zachorowanie wraz z okolicznościami obligującymi do szczepień (szczepienia w grupach ryzyka).

Różne strategie prowadzenia czynnego sztucznego uodpornienia są uwarunkowane wieloma czynnikami, takimi jak: cechy choroby, sytuacja epidemiologiczna choroby na danym terenie oraz terenach ościennych, dysponowanie bezpiecznymi i skutecznymi

preparatami oraz możliwości finansowe, logistyczne i organizacyjne instytucji państwowych czy samorządowych, zwłaszcza pionu ochrony zdrowia.

Zagrożenia realizacji programu szczepień ochronnych (PSO) związane z przemianami ustrojowymi i reformą ochrony zdrowia

Dotychczasowe zasady w zakresie organizacji szczepień obowiązkowych w Polsce zapewniały wysoki stopień pokrycia szczepieniami populacji dziecięcej przede wszystkim dzięki temu, że dzieci w wieku szkolnym były szczepione w zakładach nauczania i wychowania przez pielęgniarki medycyny szkolnej. Fakt, że obowiązek szkolny obejmuje kompletną populację dzieci w wieku 6–15 lat umożliwił „uchwycenie” prawie każdego dziecka i sprawdzenie stanu jego zaszczepienia, a co za tym idzie uzupełnienie ewentualnych braków.

Radykalna zmiana systemu opieki zdrowotnej w Polsce w wyniku reformy wprowadzonej od 1 stycznia 1999 roku zrodziła szereg zagrożeń dla prawidłowej realizacji masowych szczepień ochronnych.

Aktualnie obowiązujący w Polsce program szczepień, opublikowany w lipcu 2000 roku w formie rozporządzenia Ministra Zdrowia i Opieki Społecznej, obliguje osoby przebywające na terenie Rzeczypospolitej Polskiej (na podstawie art. 2 ust. 1 ustawy z dnia 13 listopada 1963 r. o zwalczaniu chorób zakaźnych) do poddania się szczepieniom przeciwko gruźlicy, błonicy, tężcowi, krztuścowi, poliomyelitis, wzw-B, odrze, różyczce oraz wścieklicznie i durowi brzuszemu – w określonym wieku (p/w ośmiu chorobom) i w określonych grupach (p/w sześciu chorobom).

Zgodnie z obecnym stanem prawnym nadzór nad szczepieniami ochronnymi sprawuje Inspekcja Sanitarna. Za organizację szczepień odpowiedzialne są władze samorządowe, zaś obowiązek realizacji spoczywa na kasach chorych, które zawarły te zadania w kontraktach podpisanych z lekarzami podstawowej opieki zdrowotnej. Taki system organizacji szczepień, w odróżnieniu od poprzednio obowiązującego, całą odpowiedzialność za stopień pokrycia populacji docelowej szczepieniami obowiązkowymi składa na barki lekarza podstawowej opieki zdrowotnej, stanowiąc jedno z wielu wykonywanych przez niego zadań. Wymaga od tegoż lekarza pełnego rozeznania „kto, kiedy, czym i gdzie” powinien zostać zaszczepiony. Oznacza to konieczność posiadania właściwego systemu informacyjnego, jak i prowadzenia fachowego systemu monitorowania stanu zaszczepienia swych pacjentów. Wszystko to pociąga za sobą szereg trudności i potencjalne zagrożenia dla realizacji szczepień. Zgodnie z naszymi przewidywaniami do najistotniejszych należały m.in.: możliwość pominięcia części dzieci podlegających szczepieniom obowiązkowym w sytuacji, gdy rodzice nie wybrali swego lekarza „rodzinnego” oraz przejęcie całości szczepień przez placówki i pracowników niewłaściwie przygotowanych do tych zadań, tak pod względem fachowym, jak i organizacyjnym. Dodatkowym problemem okazały się sprzeczności natury finansowo-prawnej, dotyczące objęcia szczepieniami obowiązkowymi osób nieubezpieczonych.

W Polsce stopień uodpornienia populacji docelowych ocenia się poprzez stan zaszczepienia, to jest odsetek osób poddanych szczepieniu w stosunku do wszystkich osób w danej populacji. Co roku obserwuje się ubytek kart szczepień dzieci i młodzieży w poszczególnych, zwłaszcza starszych, rocznikach. Przyczyny tego niekorzystnego zjawiska należy upatrywać w braku jednolitej procedury przesyłania dokumentacji szczepiennej. Karty uodpornienia, będące częstokroć jedynym rzetelnym zestawieniem wszystkich zrealizowanych szczepień, przekazywane są do rąk rodziców lub co gorsza, dzieci czy pozostawiane bez nadzoru w likwidowanych szkolnych punktach szczepień. W sytuacji, gdy realizatorzy szczepień nie dysponują kartami uodpornienia wszystkich swoich podopiecznych, mogą uważać, że prowadzą szczepienia w wystarczającym odsetku.

W warunkach polskich jedną z mniej istotnych przyczyn trudności w realizacji szczepień była dotychczas niekontrolowana migracja ludności czy brak akceptacji szczepień, choć w przyszłości nie należy ich pomijać czy lekceważyć.

System nakazowy obowiązujący w Polsce w ubiegłych dekadach spowodował w dziedzinie szczepień dwojakie efekty. Z pewnością korzystne dla pełnego pokrycia szczepieniami populacji celowanych było postrzeganie obowiązku jako przymusu. Stroną ujemną tego zjawiska było i być może jest traktowanie szczepień ochronnych nie jako profilaktycznego zabiegu medycznego lecz jako realizację zobowiązań prawnych. Okazuje się jednak, że konieczne jest w tej sferze posługiwanie się ugruntowaną wiedzą medyczną, tak teoretyczną jak i praktyczną, a nie tylko wypełnianie zaleceń aparatu urzędniczego. Niestety, być może spuścizną poprzednich rozwiązań było i jest marginalne traktowanie problematyki zapobiegania chorobom poprzez czynne, sztuczne uodpornienie, tak w kształceniu przed-, jak i podyplomowym pracowników medycznych, zwłaszcza lekarzy.

Brak skoordynowanego systemu szkolenia dotyczył również średniego personelu medycznego. Przygotowanie pielęgniarek realizujących szczepienia ochronne polegało częstokroć na „przywarsztatowym” instruktażu, prowadzonym przez osoby nie będące ani formalnie ani fachowo do tego upoważnione.

Utrzymywanie sprawnego systemu zaopatrywania w szczepionki z zachowaniem łańcucha chłodniczego, w sytuacji prowadzenia masowych szczepień jest sprawą priorytetową. Sprawdzonym rozwiązaniem logistycznym był i jest system zaopatrywania punktów szczepień, w którym istotną rolę odgrywa Inspekcja Sanitarna, tak szczebla wojewódzkiego, jak i powiatowego. Służby przeciwepidemiczne są profesjonalnie przygotowane do prowadzenia gospodarki szczepionkami, dysponują właściwie wyposażoną powierzchnią magazynową i fachową obsadą kadrową. Niezwykle ważnym zadaniem pracowników Inspekcji Sanitarnej jest formalny i merytoryczny nadzór nad realizacją szczepień ochronnych. Gromadzenie danych na temat stanu zaszczepienia przeciw wybranym chorobom i przypadków zachorowań na nie, przesyłanie informacji na ten temat tak do centralnych jednostek nadrzędnych, jak i wykorzystywanie ich do planowania działań przeciwepidemicznych na własnym terenie ma kilkudziesięcioletnią dobrą tradycję. Niebezpieczeństwo osłabienia tych służb w dobie przemian ustrojowych, choćby likwidacja ich „pionowej” struktury, pozwalającej na natychmiastowe, jednolite działanie i uzależnienie ich od lokalnych decyzji czy rozwiązań, może również przyczynić się do pogorszenia sytuacji epidemiologicznej kraju. Pamiętać należy również o tym, że eradykacja, eliminacja i spadek zapadalności na choroby zwalczane przez szczepienia to efekt wzorowej pracy kilku pokoleń lekarzy i pielęgniarek, a sukcesy w tej dziedzinie osiąga się w ciągu szeregu lat. Jakiegokolwiek zaniedbania w prowadzeniu szczepień masowych mogą być przyczyną początkowo niezauważonych sporadycznych zachorowań, jednak niekontrolowany przebieg wypadków, mogący dawać nieprzewidywalną w skutkach epidemię, to tylko kwestia czasu. Wszakże drobnoustroje, toksyny i trucizny nie respektują granic województw czy regionów...

Sytuacja w województwie kujawsko-pomorskim – wdrożone rozwiązania, efekty

W okresie transformacji systemu organizacyjnego opieki zdrowotnej i reformy administracyjnej nie doszło w województwie kujawsko-pomorskim do załamania realizacji programu szczepień ochronnych. Stało się tak dzięki temu, że przewidując wspomniane trudności, podjęto szereg działań zmierzających do ich usunięcia lub zminimalizowania. Już na początku stycznia 1999 roku, spotkaniem Epidemiologa Wojewódzkiego z dyrektorami d/s medycznych kas chorych, zainicjowano współpracę z Kujawsko-Pomorską oraz Branżową Kasą Chorych. Ustalono zasady współdziałania w zakresie nadzoru nad szczepieniami ochronnymi oraz wytypowano osoby upoważnione przez

Problemy związane ze szczepieniami w opinii epidemiologa wojewódzkiego

kasy do stałych kontaktów z Wojewódzką Stacją Sanitarno-Epidemiologiczną. Zorganizowano szereg spotkań w zespole złożonym z Epidemiologa Wojewódzkiego, pracowników pionu epidemiologii WSSE odpowiedzialnych za nadzór nad szczepieniami oraz wspomnianymi przedstawicielami kas chorych, podczas których podjęto decyzje w sprawach, takich jak:

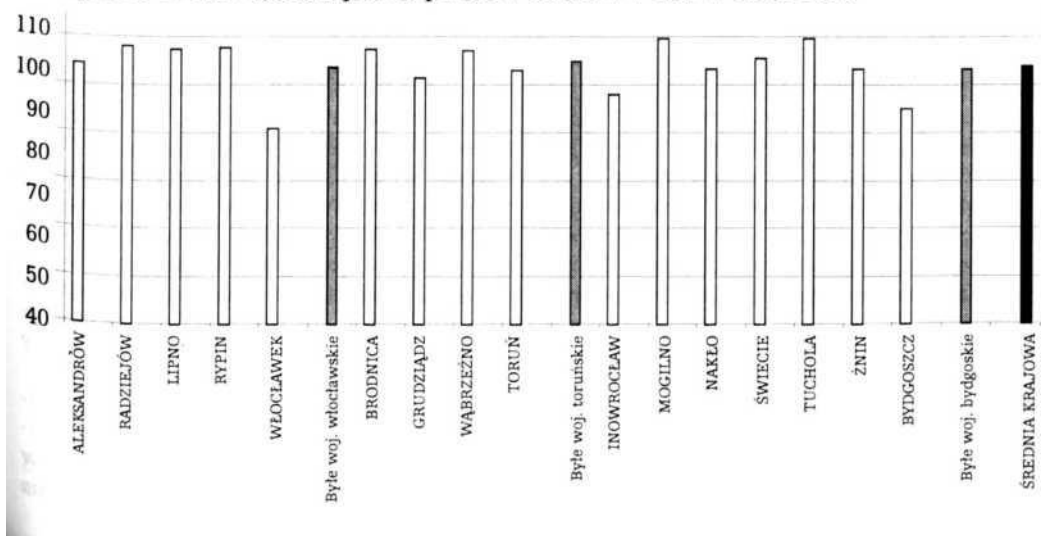
- przygotowanie wykazu świadczeniodawców, którzy realizować będą szczepienia ochronne,
- ustalenie zasad dystrybucji szczepionek, szczególnie dla świadczeniodawców, którzy nie prowadzili dotąd szczepień ochronnych,
- ustalenie trybu szczepień przeciw wzv-B przed planowanymi zabiegami operacyjnymi oraz prowadzenia szczepień zalecanych,
- wzajemnego powiadamiania o stwierdzonych nieprawidłowościach i podjętych decyzjach administracyjnych w zakresie realizacji szczepień ochronnych,
- organizacji cyklicznych spotkań, mających na celu ocenę realizacji masowych szczepień na terenie województwa.

W maju 1999 roku zainaugurowano cykl szkoleń dla ponad 100-osobowej grupy lekarzy rodzinnych z regionu Pomorza i Kujaw. Lekarze uchylający się od szkoleń byli zobligowani do udziału w nich przez kasy chorych. Zarówno pracownicy nadzorujący szczepienia w kasach, jak i zespół przeciwepidemiczny WSSE, nasilili nadzór nad nowopowstałymi punktami szczepień, a w trakcie częściej przeprowadzanych kontroli w każdym z punktów szczególną uwagę zwracali na kompletność (zgodnie z listą „zaopieczonych” pacjentów) kartoteki szczepień oraz właściwy jej układ i prowadzenie.

Nowi świadczeniodawcy ubiegający się o możliwość prowadzenia szczepień ochronnych byli na bieżąco weryfikowani pod względem fachowym przez właściwych terenowo inspektorów sanitarnych. Od grudnia 1998 na terenie województwa kujawsko-pomorskiego rozpoczęło wyżej określoną działalność 26 placówek, w których po raz pierwszy prowadzi szczepienia ochronne 8 lekarzy różnych specjalności, mających pod swoją opieką 83 584 osoby, w tym 19.413 dzieci w wieku 0-19 lat.

Poziom realizacji szczepień u dzieci i młodzieży szkolnej był w roku 1999 dość zróżnicowany. Występujące w niektórych miastach i powiatach opóźnienia w szczepieniach

Wykres 1 Stan zaszczepienia przeciw odrze w 7 r.ż. w roku 1999



Profilaktyka i leczenie

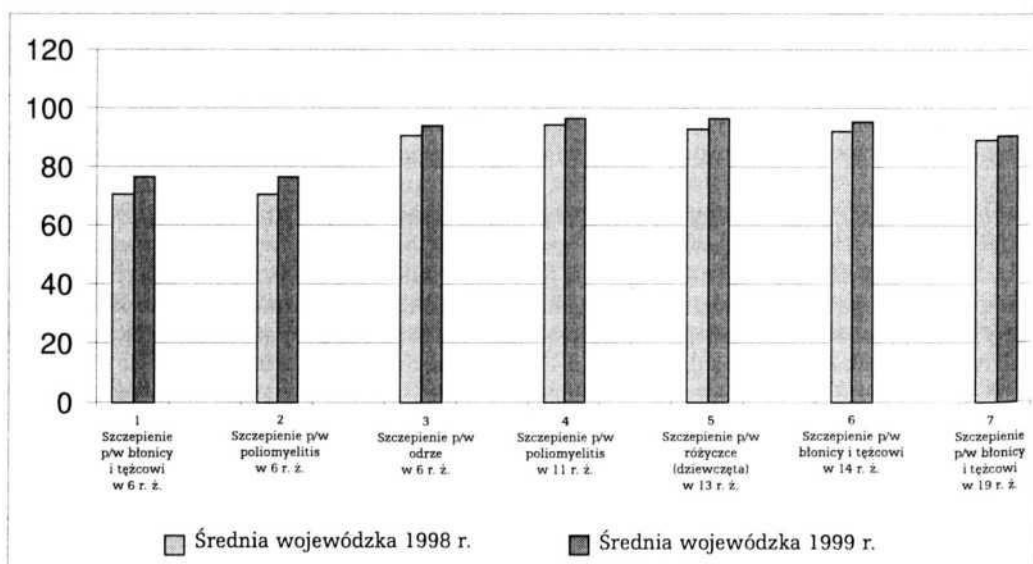
przeciw błonicy, tężcowi w 19 roku życia, p/w odrze w 7 r.ż. (wykres 1) oraz BCG w 7, 12 i 18 r.ż. nie były rezultatem zmiany systemu organizacyjnego opieki zdrowotnej, lecz nieprawidłowej interpretacji programu szczepień ochronnych w latach ubiegłych. Opóźnienia te nie były drastyczne i zostały zlikwidowane w krótkim czasie.

Zadawalający okazał się stan realizacji szczepień pierwotnych i podstawowych przeciw błonicy, tężcowi, krztuścowi i poliomyelitis w pierwszym i drugim roku życia. Terminowo realizowano szczepienia podstawowe przeciw odrze oraz wzv-B.

Efektom prowadzenia intensywnych szkoleń personelu pielęgniarskiego był spadek odsetka dzieci nie posiadających blizny po szczepieniu pierwotnym BCG (z 3,17% w 1998 do 2,5% w 1999 r.)

Szczegółowa analiza wykonania szczepień ochronnych wykazała często poprawę stanu realizacji szczepień ochronnych w 1999 r. w stosunku do 1998 (wykres 2).

Wykres 2 Analiza porównawcza wykonania szczepień ochronnych w rocznikach szkolnych w roku 1998 w stosunku do roku 1999



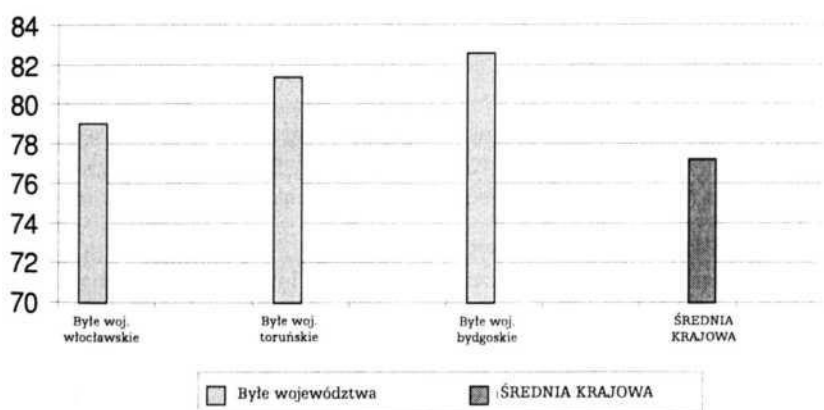
Podczas przeprowadzonej dwukrotnie (w listopadzie i grudniu 1999 r.) wizytacji wszystkich oddziałów noworodkowych nie stwierdzono zaniedbań w szczepieniach noworodków p/w gruźlicy i wzv-B. W 1999 r. tylko 1,01 % noworodków nie zostało zaszczepionych w obowiązującym terminie z powodu istniejących przeciwwskazań przeciw gruźlicy i 0,3 % - przeciw wzv-B. Szczepienia tychże dzieci zostały wykonane w zakładach podstawowej opieki zdrowotnej bezpośrednio po ustąpieniu przeciwwskazań. Dokumentację szczepień (karty uodpornienia i książeczki zdrowia dziecka) zakładano na oddziałach noworodkowych i przesyłano do właściwych lekarzy pierwszego kontaktu. Wyjątek stanowiły 3 bydgoskie szpitale, w których dokonywano tylko wpisu do książki zdrowia. System ten został zweryfikowany. Ustalono, że karty uodpornienia będą w trybie natychmiastowym zakładane w oddziale i przesyłane pocztą do lekarzy podstawowej opieki zdrowotnej.

Nie doszło również do drastycznego ubytku kart uodpornienia w okresie przekazywania dokumentacji medycznej do lekarzy pierwszego kontaktu, do których zapisali się mieszkańcy. Od 1.07.99 r. do 31.12.99 ubyło w województwie 3671 kart uodpornienia dzieci ^ wieku 0-19 lat. Świadczyć to może, że stosunkowo niewielka część dzieci i młodzieży III^e

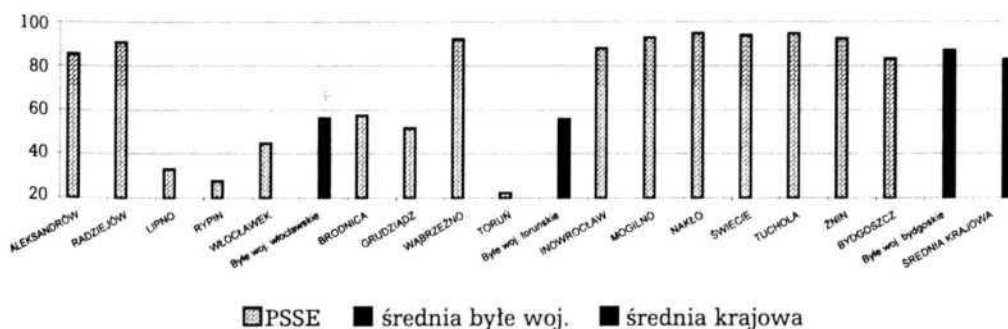
Problemy związane ze szczepieniami w opinii epidemiologa wojewódzkiego

została zadeklarowana do żadnego lekarza podstawowej opieki zdrowotnej i, że ta część populacji może nie być objęta obowiązkowymi szczepieniami ochronnymi we właściwym czasie. Do tej dobrej sytuacji w zakresie pełnej realizacji szczepień w grupach wiekowych przyczyniło się przygotowanie i wdrożenie procedury przekazywania kart uodpornienia, tak w przypadku osób zmieniających opcję przynależności do danego lekarza, jak i w przypadku likwidacji punktu szczepień, na przykład punktu szczepień w szkole.

Do trudności specyficznych dla województwa kujawsko-pomorskiego zaliczyć trzeba fakt pewnych różnic w realizacji szczepień pomiędzy trzema dawnymi województwami, które weszły w skład nowej, dużej jednostki administracyjnej (wykres 3 i 4).



Wykres 3 Stan zaszczepienia przeciw odrze dzieci w 2 r.ż. w regionie w 1998 r.



Wykres 4 Stan zaszczepienia p/w WZW-B osób z bliskiego otoczenia zakażonych HBV w regionie w 1998

Dawne trzy województwa różniły się dość znacznie jeśli chodzi o zakres i tryb szkolenia pielęgniarek realizujących szczepienia ochronne. O ile w byłym woj. bydgoskim szkolenia te były systematyczne, realizowane cyklicznie i prowadzone w ramach kursów organizowanych przez WODKM i WSSE, to w byłym woj. toruńskim szkoleń takich w zasadzie nie prowadzono.

Postulowane kierunki działań

Kształcenie przeddyplomowe

Niezwykle istotne byłoby uwzględnienie w programach kształcenia przeddyplomowego lekarzy i pielęgniarek tematyki wakcynologicznej w wymiarze odpowiadającym rosnącemu znaczeniu tej gałęzi medycyny w podstawowej opiece zdrowotnej.

Szkolenie podyplomowe

Profesjonalne podejście do szczepień wymaga przyswojenia szerokiej wiedzy na temat badań nad szczepionkami, techniki ich produkcji, systemu dystrybucji i przechowywania szczepionek, ich własności, schematów szczepień, wskazań i przeciwwskazań do szczepień, technik szczepienia czy wielu innych aspektów działań wobec pacjenta czy populacji. Dlatego też niezwykle istotne jest szkolenie osób zajmujących się realizacją szczepień w Polsce, zwłaszcza w sytuacji gdy lekarze różnych specjalności, z różnym doświadczeniem zawodowym, rozpoczęli pracę w placówkach podstawowej opieki zdrowotnej – strukturze gorzej funkcjonującej w naszym kraju, niż „wszechobecna specjalistyka”. Szkolenie powinno być prowadzone pod kierunkiem fachowej kadry lekarzy i pielęgniarek nadzorujących szczepienia w stacjach sanitarno epidemiologicznych, w ścisłej współpracy z nadzorem regionalnym w dziedzinie epidemiologii i pediatrii. Konieczny jest również jednolity system organizacyjny tych szkoleń, na przykład w formie licencyjnych kursów, przynajmniej częściowo refundowanych, oparty o Wojewódzkie Ośrodki Kształcenia Podyplomowego Kadr Medycznych. System taki byłby zgodny z obowiązującym stanem prawnym. System ten powinien odpowiadać regułom kształcenia ustawicznego, to znaczy cyklicznie powtarzanego, w celu aktualizacji nabytej wiedzy.

Rozbudowywanie sieci realizatorów szczepień

Potrzeba obejmowania szczepieniami coraz większych grup ludności, wynikająca zarówno z wygasania odporności (pochorobowej czy poszczepiennej), jak i sukcesywnego wprowadzania nowych preparatów pociąga za sobą konieczność rozbudowywania sieci realizatorów szczepień. Jednym z możliwych rozwiązań mogłoby być, wzorem niektórych krajów (np. Finlandii), powierzenie samodzielnej realizacji szczepień pielęgniarkom z wyższym wykształceniem medycznym odpowiednio w tym kierunku przeszkolonym.

Szczepionki skojarzone

Wprawdzie kształtowanie strategii szczepień ochronnych w kraju nie należy do kompetencji epidemiologa wojewódzkiego, zdajemy sobie sprawę z tego że decyzje dotyczące szerszego wprowadzenia do masowego używania szczepionek skojarzonych (DTP + HBV + IPV + Hib, MMR) powinno być rychło podjęte. Rozszerzający się stale zakres szczepień, obejmujący coraz większą liczbę szczepionek, wyzwala potrzebę minimalizacji liczby iniekcji.

Akceptacja społeczna szczepień

Istotne jest, by szczepienia w dalszym ciągu były postrzegane jako działania korzystne zdrowotnie, społecznie i ekonomicznie, nawet w sytuacji, gdy zachorowania na choroby, przeciw którym są one prowadzone stają się rzadkością. Niekwestionowaną nigdy korzyścią jest dobry klimat społeczny wokół szczepień ochronnych, choć i w Polsce coraz częściej słyszymy głosy, nielicznych jeszcze, grup przeciwników szczepień. Niemniej jednak należy być przygotowanym do konfrontacji z przedstawicielami ruchów antyszczepiennych, wykorzystując do tego celu opracowania naukowe, wyniki wieloletnich obserwacji epidemiologicznych – mówiące o doskonałych efektach prowadzenia szczepień, ich wyjątkowej wartości i ważności, znacząco niskiej liczbie niepożądanych odczynów poszczepiennych zarówno w odniesieniu do osób, jak i mniejszych czy większych populacji. Należy przypominać o groźnych konsekwencjach niejednokrotnie zapomnianych już chorób. Wszyscy winni być informowani, że rzeczywiste przeciwwskazania do szczepień są nieliczne oraz, że każde dziecko ma prawo do ochrony przed chorobami zwalczaniu przez szczepienia w najlepszym (jak najwcześniejszym) dla niego czasie. Informacje te winny być do dyspozycji środowiska medycznego (w każdej przychodni), organizatorów opieki zdrowotnej, decydentów i polityków. Niezwykle ważne jest również szerokie prowadzenie edukacji zdrowotnej, tak całego społeczeństwa (zwłaszcza przez środki masowego przekazu), jak i poszczególnych środowisk (rodzice, nauczyciele, itp.). Należałoby zadbać, aby osoby prowadzące te działania były w pełni kompetentne w dziedzinie wakcynologii.

Immunoterapia w kompleksowym leczeniu złamań otwartych układu narządów ruchu

Nadzór epidemiologiczny (surveillance)

Sprawą o kapitalnym znaczeniu jest właściwie zorganizowany nadzór epidemiologiczny nad chorobami, którym zapobiega się drogą szczepień, umożliwiającą natychmiastową interwencję w przypadku pogorszenia się sytuacji epidemiologicznej tych chorób, wychwycenie kohort o niskim stanie zaszczepienia, itp. Sprawne działanie służb przeciwepidemicznych, wielokrotnie potwierdzone w przeszłości, przemawia za utrzymaniem dotychczasowych rozwiązań, to znaczy za działaniem niezależnej instytucji, wyposażonej w szerokie delegacje prawne, zatrudniającej wysokiej klasy specjalistów oraz mającej do dyspozycji odpowiednie zaplecze laboratoryjne. Kryteria te spełnia niewątpliwie pion epidemiologii Inspekcji Sanitarnej. Aby w sposób rzetelny i sprawny móc monitorować skuteczność szczepień niezbędne jest posługiwanie się odpowiednim oprzyrządowaniem i ujednoczonym systemem zbierania informacji drogą elektroniczną (programy, sprzęt komputerowy, sieć).

Kwestie logistyczne

Obowiązujący aktualnie system zaopatrywania punktów szczepień w centralnie zakupione szczepionki poprzez stacje sanitarno-epidemiologiczne, z zachowaniem łańcucha chłodniczego, tak na etapie transportu, jak i magazynowania, sprawdzil się w ciągu ubiegłych kilkudziesięciu lat. Zgodnie z zasadą, aby nie zmieniać tego co dobrze funkcjonuje, należałoby utrzymać stan dotychczasowy.

Prowadzenie i kontrola dokumentacji szczepień

Istotne jest prowadzenie właściwej dokumentacji szczepień, zarówno indywidualnej dla każdego dziecka (aktualnie książeczka zdrowia dziecka, w perspektywie być może oddzielna, międzynarodowa książeczka szczepień), jak i zapisu w kartotece gabinetu szczepień. Korzystnym działaniem byłoby sprawdzanie stanu zaszczepienia dziecka przy każdej interwencji medycznej - co pozwoliłoby „wyłapać” osoby z brakującymi, koniecznymi do wykonania szczepieniami. Należałoby również przygotować i wprowadzić „automatyczny system” przypominania rodzicom o szczepieniach niezrealizowanych, np. system kontroli stanu zaszczepienia dziecka przy przyjęciu do przedszkola, szkoły itp.

Piśmiennictwo

- 1- H. Helwig, J. Mertsola, D. Harvey Eur J Pediatr (1998) 157: 676-680
2. Christos Kattamis Inpharma - Supplement 1/1999: 3-4
3. David W. Scheifele Vaccines: Children & Practice V.2 N: 231-32
- 4- CDC Recommendations and Reports, May 14, 1999/ Vol. 48/ No. RR-5
- 5- CDC Recommendations and Reports, June 18, 1999/Vol. 48/ No. RR-8
- 6- WHO Weekly Epidemiological Reports 1996, 21, 261-268

Immunoterapia w kompleksowym leczeniu złamań otwartych układu narządów ruchu

Budkiewicz Z., Żolyński K., Goc S., Szmigiel A.

1 Kliniki Chirurgii Urazowej i Ortopedii SK WAM w Łodzi

W oparciu o piśmiennictwo i badania własne autorzy przedstawiają zaburzenia w obrębie układu odpornościowego (u.o.), które są następstwem urazu mechanicznego i/lub operacyjnego układu narządu ruchu (u.n.r.). Dysfunkcja tego układu jest

Profilaktyka i leczenie

odpowiedzialna zarówno za rozwój powikłań infekcyjnych w tej kategorii chorych, jak również za mniejszą skuteczność leczenia farmakologicznego. W prezentowanej pracy autorzy przedstawili zasady immunoterapii pacjentów z obrażeniami mechanicznymi u.n.r., w tym ze złamaniami otwartymi w połączeniu z leczeniem chirurgicznym i antybiotykoterapią.

Dotychczasowe obserwacje kliniczne wykazują, że chory „urazowy”, w tym chory ze złamaniem otwartym narażony jest bardziej niż inni pacjenci o profilu chirurgicznym na ryzyko infekcji w - okresie okołoperacyjnym, zwłaszcza że lekooporność licznych szczepów bakteryjnych (szczególnie szczepów tzw. szpitalnych) nawet na najnowsze generacje antybiotyków doprowadziła do sytuacji dramatycznej, albowiem po 50 latach stosowania

Tabela 1 Powikłania infekcyjne w złamaniach otwartych

Schweikert (1973)	40%	
Clancey, Hansen (1978)	8,2%	– wczesna ostra infekcja
Chapmann, Mahoney (1979)	0,5%	– p.z.k.
Rittman i wsp. (1979)	2,2%	– amputacje w 403 złamaniach otwartych
Burri i wsp. (1980–81)	20%	
Wall i wsp. (1983)	28,6%	
Bielawski i wsp. (1983)	26,3%	– spadek powikłań infekcyjnych – po zmianie techniki zaopatrywania tkanek miękkich oraz nowej koncepcji leczenia pooperacyjnego – do 17,4%
Wąsikowski i wsp. (1983)	15%	– 21,6% przy leczeniu zachowawczym – 11,7% przy leczeniu operacyjnym
Bieniek i wsp. (1983)	21% 6%	– u chorych leczonych osteosyntezą wewnętrzną – u chorych leczonych osteosyntezą minimalną
Roth i wsp. (1986)	11%	
Candle i wsp. (1987)	20%–59%	– w zależności od rozległości urazu
Trost (1990)	2,1% 11,3% 17,1%	– w I stopniu – w II stopniu – w III i IV stopniu
Sowier i wsp. (1990)	8%	
Ketter i wsp. (1991)	0,5% 8,3%	– w złamaniach I i II stopnia – w złamaniach III stopnia
Hughes i wsp. (1991)	0% 0,3%	– w I stopniu – 2 infekcje w stopniu II
Patzakis i wsp. (1972–1974)		w 310 złamaniach otwartych, w tym w 78 postrzałowych, autorzy wyodrębnili 3 grupy: – I grupa (bez antybiotyków) – 13,9% powikłań – II grupa (Pc+SM) ^{**} – 9,7% – III grupa (Cefazolina) – 2,3% W złamaniach postrzałowych u 26 chorych nie stwierdzono skażenia ran, u pozostałych 52 powikłania bakteryjne rozwinęły się tylko w 4 przypadkach, w tym u jednego wystąpiło p.z.k.

* dane z piśmiennictwa, ** Pc — penicylina krystaliczna, SM — streptomycyna

Application and Reading of the Mantoux test using Tuberculin PPD RT 23 SSI 2 T.U./0.1 ml



STATENS
SERUM
INSTITUT

prevention and control
of infectious diseases
and congenital disorders

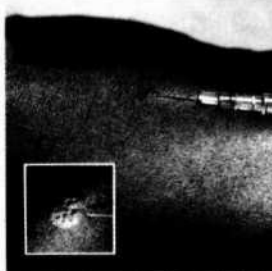
- Tuberculin PPD RT 23 SSI is the premixed ready-to-use solution for Mantoux skin tests to assist in the clinical diagnosis of tuberculosis.



◀ Dosage and site

0.1 ml contains 2 tuberculin units of PPD RT 23 (2 T.U.). Fill the syringe immediately before use! Draw-up slightly more than 0.1 ml of the Tuberculin PPD RT 23 solution. Tap out bubbles. Reduce the content to 0.1 ml. The injection should be given in the middle third of the forearm.

- Tuberculin PPD RT 23 SSI is also used as the standard tuberculin in skin test surveys to determine the prevalence of *M. Tuberculosis* in a community.



◀ Administration

Penetrate the skin with the needle bevel up, entering just within and along the skin. While injecting 0.1 ml of RT 23 a resistance must be felt. RT 23 must be injected intracutaneously (intradermally). After injection, a flat wheal of about 8-10 mm should be seen.

- Administered intracutaneously using a 1 ml graduated syringe with a short beveled 25 or 26 gauge needle.



◀ Reading the test

The result should be read approximately 3 days after the skin test. Carefully palpate and measure the transverse diameter in the induration in mm using a transparent plastic ruler. Ignore any redness. **A positive reaction to Tuberculin PPD RT 23 SSI is defined as an induration having a diameter of 6 mm or more.**

- Use separate sterile needles and syringes for each patient.

HOW TO READ A MANTOUX TEST

Diameter of induration in mm

Negative	Positive	Strongly positive
0 - 5 mm	6 - 14 mm	15+ mm

A reaction of 10 mm or more in a child under 5 years should lead to a strong suspicion of infection with *M. Tuberculosis*.

FOR THE MANTOUX TEST

Please refer to
package insert for
detailed information

Manufacturer:
Statens Serum Institut
5 Artillerivej
2300 Copenhagen S
Denmark

Tel.: (45) 3268 3268
Fax: (45) 3268 3868
serum@ssi.dk
www.ssi.dk

antybiotyków spotykamy się z chorymi, których nie ma czym leczyć [2, 3, 5, 6, 8, 11, 15, 16, 21, 23, 24].

Musimy więc zadać sobie pytanie, czy stosując obowiązujące aktualnie sposoby profilaktyki infekcji w złamaniach otwartych z udziałem antybiotyków możemy zmniejszyć ich liczbę.

I kolejne pytanie, czy zasady profilaktycznego stosowania antybiotyków opracowane dla zabiegów chirurgicznych — planowych — mogą być przyjęte bez zastrzeżeń dla chorych urazowych?

Przytoczone fakty potwierdzają spostrzeżenia z praktyki dnia codziennego, które unaczyniają nam niezbicie to, iż aktualnie osiągnęliśmy pewien pułap wyleczeń złamań otwartych bez powikłań infekcyjnych — różny oczywiście w zależności od stopnia złamania — którego stosując przyjęte obecnie metody leczenia (zachowawcze lub operacyjne zaopatrzenie złamania + antybiotykoterapia ogólna i/lub miejscowa) nie jesteśmy w stanie przekroczyć, tzn. obniżyć. Tabela 1 podaje odsetek zakażeń bakteryjnych w z.o. od lat 70 do lat 90.

Bez uznania przez **szerokie rzesze** (nie tylko ze środowisk akademickich) chirurgów, zwłaszcza chirurgów-traumatologów, faktu że o dalszych losach pacjentów z obrażeniami otwartymi (szczególnie II°, III° i IV° i również obrażeniami mnogimi) decyduje w dużej mierze także stan jego **układu odpornościowego** — niemożliwy będzie dalszy postęp w leczeniu tej kategorii obrażeń. Rozwój i zejście zakażenia jest bowiem wynikiem złożonej gry pomiędzy drobnoustrojem a u.o. chorego.

W świadomości lekarzy wciąż funkcjonuje uproszczony sposób rozumowania: przyczyną choroby infekcyjnej jest drobnoustrój (bakteria, grzyb). Jego likwidacja to wyleczenie. Ten schemat myślowy nie uwzględniający implikacji w układzie: uraz → zaistniałe obrażenie → osłabienie u.o. → ordynowana terapia — głównie antybiotykoterapia, stosowana jako jedyna metoda mająca nie dopuścić do rozwoju powikłań bakteryjnych, prowadzi w konsekwencji do nadmiernego szafowania antybiotykami ze wszystkimi negatywnymi takiego postępowania skutkami, nie tylko biologicznymi, ale i ekonomicznymi.

Zasadniczą trudnością w antybiotykoterapii u chorych z osłabioną odpornością jest to, że w odróżnieniu od chorych z prawidłowym u.o., u których możemy skupić się tylko na zapobieganiu infekcji mając do tego celu bardzo szeroki wachlarz preparatów, musimy u tej kategorii pacjentów prowadzić **jednocześnie** korekcję deficytów w obrębie u.o. i zapobiegać lub zwalczać rozwijającą się infekcję mając do dyspozycji ograniczoną liczbę preparatów antybiotykowych, które by ten układ wspierały lub w ostateczności nie wpływały na niego niekorzystnie.

Tak jak do przyjętych obecnie kanonów postępowania z przewlekłymi zapaleniami kości należy triada czynności, tj.: fistulektomia z sekwestrektomią i ewentualnie drenażem płuczającym + antybiotykoterapia + immunoterapia, tak i w kanonie terapeutycznym z.o. powinna obowiązywać, w oparciu o aktualny stan wiedzy, następująca triada czynności:

1. leczenie chirurgiczne zachowawcze lub operacyjne, ale zawsze jak najmniej traumatyzujące,
2. stosowanie antybiotykoterapii (z uwzględnieniem preparatów z grupy biologicznych modyfikatorów odpowiedzi — BRM),
3. stosowanie immunoterapii.

Zawierzenie dalszych losów chorego samym tylko antybiotykami w kontekście posiadanych przez nas wiadomości z zakresu patofizjologii urazu, zachowania się u.o. u chorych „urazowych” i farmakologii antybiotyków jest już niewystarczające.

Zlecając antybiotyk zbyt rzadko, a niektórzy z nas zapewne prawie nigdy, zwracamy uwagę na to, aby nie ingerował on w u.o. Wynika to zapewne z faktu, że wybierając antybiotyk(-i) dla chorych o profilu chirurgicznym, kierujemy się głównie jego skutecznością w stosunku do drobnoustrojów, a dopiero później myślimy o jego właściwościach toksycznych czy immunodepresyjnych na u.o.

Profilaktyka i leczenie

Tabela 2 podaje informacje o tych grupach antybiotyków, które wywierają szczególnie niekorzystny wpływ na u.o.

Tabela 2 Antybiotyki i ich niekorzystny wpływ na układ odpornościowy
(za Hauser W. E. jr i Remington J.: Effect of antibiotics on the immune response.
The American Journal of Medicine, vol. 72, 5, May 1982, 711-716) [10]

Chemotaksja	Transformacja limfocytów	Opóźniona nadwrażliwość	Produkcja przeciwciał	Miscenalia
gentamycyna tobramycyna amikacyna tetracykliny rifampicyna amfoterycyna B	amfoterycyna B tetracykliny minocyklina cefalotyna chloramifenikal nitrofurantoina trimethoprim – sulthametho- ksazol	rifampicyna amfoterycyna B tetracykliny metronidazol	chloramfe- nikol rifampicyna retracykliny trimethoprin sulfametho- ksazol	Fagocytoza tetracykliny amfoterycyna B Wewnątrzkomórkowe zabijanie przez fagocyty amikacyna gentamycyna tobramycyna sulfonamidy Metabolizm tlenowy granulocytów obojętnochłonnych chloramfenikol amfoterycyna B trimethoprim sulfamethoksazol Przeżycie przeszczepów rifampicyna trimethoprim

Leki i terapia immunosubstytucyjna i immunostymulująca w leczeniu obrażeń i powikłań infekcyjnych

Idea zwiększenia efektywności działania u.o. poprzez zastosowanie preparatów biologicznych i leków stymulujących niespecyficznie mechanizmy obronne gospodarza w walce z zakażeniem („prohost approach”) zyskuje coraz więcej zwolenników i wykazała już znaczną przydatność w zwalczaniu infekcji bakteryjnych tkanek miękkich i kości, dróg oddechowych a także w kompleksowym leczeniu nowotworów kości [1, 13].

W następstwie urazu i/lub infekcji występuje u pacjentów wtórny defekt odporności, który uniemożliwia skuteczne leczenie farmakologiczne i stawia pod znakiem zapytania wyniki ewentualnego leczenia operacyjnego [3, 5, 6, 7, 8, 9, 12, 15, 16, 17, 21, 23].

Leczenie przeciwbakteryjne u chorych z istniejącym lub zagrażającym spadkiem odporności — w świetle przedstawionych dotychczas danych — nie może opierać się więc wyłącznie na leczeniu operacyjnym i antybiotykach. Te ostatnie mogą zaburzać homeostazę u.o. nie tylko pośrednio i bezpośrednio, ale również poprzez rozpad bakterii i uwalnianie z nich endo- i egzotoksyn. Obie te grupy substancji nie mogą być oczywiście inaktywowane przez antybiotyki, natomiast przyczyniają się do pogłębienia dysfunkcji u.o. [6/14, 19, 20].

W przypadkach ciężkich obrażeń ciała przecięcie skóry i innych tkanek miękkich w momencie obniżenia się sił odpornościowych chorego jest znamienym czynnikiem stwarzającym

jącym dogodnie warunki do rozwoju i rozprzestrzeniania się zakażenia. Ułatwiają ją jeszcze miejscowe zaburzenia ukrwienia tkanek miękkich i kości spowodowane urazem mechanicznym.

W wielu ośrodkach, w tym także w Klinice Chirurgii Urazowej i Ortopedii SK WAM w Łodzi, od wielu lat prowadzone są badania nad wykorzystaniem wielu substancji naturalnych i syntetycznych, które zwiększają zdolności obronne ustroju przeciwko zakażeniom, także u chorych urazowych [2, 3, 6, 7, 8, 9, 15, 16, 17, 19, 21, 23, 24].

Prace te wykazały korzystny wpływ anatoksyny gronkowcowej (AG) [15, 16, 21, 23, 24], decarisu–levamisolu [8], Corynebacterium parvum (Coparvax) [17], preparatu torfowego Tołpy [16] i autoszczepionek [7, 9] na funkcje u.o.

Zastosowanie tych preparatów przyczyniło się do:

1. zwiększenia efektywności leczenia p.z.k. i p. p.z.k. (zwłaszcza gronkowcowego) m.in. poprzez szybsze wygojenie procesu zapalnego tkanek miękkich i kości, co stworzyło możliwość wcześniejszego wykonania rekonstrukcyjnych zabiegów osteoplastycznych pozapalnych ubytków kości [7, 8, 9, 15, 16, 17, 21, 23, 24],
2. złagodzenia klinicznego przebiegu schorzenia [3, 7, 8, 9, 15, 16, 17, 21, 23, 24],
3. znormalizowania zaburzeń immunologicznych humoralnych i komórkowych [3, 7, 8, 9, 15, 16, 17, 21, 23, 24],
4. zabezpieczenia chorego przed ewentualnym rozsiewem bakterii w czasie zabiegu chirurgicznego [3, 7, 8, 9, 15, 16, 17, 21, 23, 24],
5. ułatwienia niszczenia drobnoustrojów (zwiększenie właściwości fagocytarnych i pobudzenie chemotaksji g.o.) [7, 8, 9, 15, 16, 17, 21, 23, 24] oraz
6. zmniejszenia skutków ewentualnego niekorzystnego oddziaływania antybiotyków na u.o. [3, 7, 8, 9, 15, 16, 17, 21, 23, 24].

Stąd pytanie: czy umiejętne sterowanie odpowiedzią immunologiczną byłoby, z punktu widzenia postępowania lekarskiego u chorych z obrażeniami u.n.r., jednym z najskuteczniejszych (przyczynowych) mechanizmów terapeutycznych, a może także profilaktycznych?

Immunostymulacja

Celem tego rodzaju immunoterapii jest wyindukowanie bądź wzmożenie pożądanej odpowiedzi odpornościowej. Wyróżniamy dwa podstawowe rodzaje immunostymulacji:

1. swoista, którą uzyskujemy poprzez szczepienia ochronne (zwiększamy liczbę komórek określonego klonu reagującego na dany antygen),
2. nieswoistą, która wykorzystuje następujące grupy preparatów:
 - a. pochodzące od drobnoustrojów szczepionki jedno- i wieloważne (AG, panodyna, Corynebacterium parvum, BCG)
 - b. syntetyczne — levamisol, izoprynozylna, PTT
 - c. biologiczne modyfikatory odpowiedzi immunologicznej (BRM — Biological Response Modifiers). Są to białka, które pobudzają szereg reakcji odpornościowych w organizmie, umożliwiając sterowanie reakcjami odpornościowymi w sposób zbliżony do ich normalnej regulacji. Największą rolę praktyczną mają obecnie: interferony α i γ , interleukiny — 1, 2, 3, i 6, kachektyna (TNF) oraz krwiotwórcze czynniki wzrostowe — GM-CSF, M-CSF, G-CSF [1, 13, 14]. Niektóre właściwości tych substancji mają antybiotyki z grupy linkozamidów: linko- i klindamycyna oraz niektóre preparaty cefalosporynowe III generacji: cefoperazon (Cefobid), ceftazydym (Fortum), a przede wszystkim cefozydym (Modivid).

Immunosubstytucja

Polega na uzupełnieniu brakującej lub niedostatecznej odpowiedzi odpornościowej za pomocą przetaczania gotowych komórek lub cząsteczek efektorowych, przeciwciał, które można podać w formie:

Profilaktyka i leczenie

- preparatów wzbogaconych o przeciwciała przeciwko określonemu drobnoustrojowi, np. surowica przeciwtężcowa [13, 19],
- preparatów wieloważnych — koncentratów immunoglobulin [13, 19].

Własne lub wprowadzone do ustroju, nie zmienione, cząsteczki immunoglobulin krążą przede wszystkim w obszarach okołonaczyniowych (IgA, IgG) oraz we krwi (IgA, IgG i IgM) skąd wolno przenikają w głąb narządów [13, 19].

Działanie immunoglobulin polega na swoistej reakcji z antygenem. Jest to pierwszy krok na drodze eliminacji wirusów, bakterii i ich toksyn. Odbywa się to głównie w tkankach okołonaczyniowych. Mimo iż preparaty te są stosowane w profilaktyce i leczeniu infekcji od wielu lat i mimo, że skuteczność ich nie budzi żadnych wątpliwości, to nadal mechanizm działania tych substancji nie jest całkowicie wyjaśniony.

Synergizm działania immunoglobulin z antybiotykami był przedmiotem wielu badań doświadczalnych [19] i klinicznych [5]. Prace Eckerta i wsp. [4] na szczurach z wywołanym doświadczalnie zapaleniem otrzewnej wykazały, że infekcję przeżywały (przeżywalność stuprocentowa) te zwierzęta, które otrzymywały jednocześnie azlocylinę i gamma-veninę; w grupie zwierząt, które otrzymywały tylko sam antybiotyk, uzyskano również wysoką przeżywalność (80%), ale stwierdzono u nich zmiany w płucach — obrzęk śródmiąższowy z dużą ilością białka — za zmiany te odpowiedzialne były toksyny bakteryjne. Również badania Ichihashi i wsp. [12] wykazały, że stosując jednocześnie gamma-veninę z tobramycyną lub ampicyliną można uzyskać korzystniejsze wyniki leczenia w zakażeniach wywołanych odpowiednio przez pałeczki okrężnicy i pałeczki ropy błękitnej, niż po zastosowaniu tylko każdego z tych preparatów z osobna.

Badania autorów niemieckich [19] wykazały, że próg oporności bakterii na antybiotyki zostaje za pomocą immunoglobulin wyraźnie obniżony, a odporne na nie bakterie traciły ją w obecności immunoglobulin. Po podaniu preparatów immunoglobulinowych w doświadczalnej posocznicy wywołanej bakteriami G⁺ i G⁻ uzyskano większą skuteczność działania cefotaksymu lub ampicyliny [20].

Obecnie uważa się, że wzmocnienie działania układu immunoglobulina-antybiotyk wywołane zostaje przez następujące mechanizmy:

1. immunoglobulina ułatwia penetrację antybiotyku w głąb komórki, przywiera do powierzchni bakterii i rozpoczyna jej lizę poprzez zaktywowanie komplementu i procesu fagocytozy. Zmieniony zostaje przy tym ładunek powierzchniowy i struktura ściany komórkowej tak, że znacznie łatwiej następuje penetracja antybiotyku do wnętrza drobnoustroju, a więc
2. immunoglobulina uzupełnia działanie antybiotyku,
3. immunoglobuliny neutralizują narastające ilości endotoksyn uwolnionych przez komórkowo-destrukcyjne działanie antybiotyków. Stwierdzono, że w stężeniach terapeutycznych inaktywacja endotoksyn przez IgM zostaje zakończona już po 30 minutach, przy zastosowaniu IgG czas ten wydłuża się do 60 minut [19, 20].

W latach 1983-1994 bazując na wynikach leczenia z.o. z lat poprzednich i wynikających z nich doświadczeń przyjęliśmy i wprowadziliśmy nowe zasady leczenia tych obrażeń u.n.r. Sprowadzały się one do:

1. znacznego ograniczenia osteosyntezy wewnętrznej z użyciem płytek i śrub, jako metody bardzo traumatyzującej, zwłaszcza w rękach niezbyt wprawnego operatora. Pozorna łatwość wykonania osteosyntezy wewnętrznej przyczyniła się do powstania znacznej liczby powikłań infekcyjnych: p.z.k. i stawów rzekomych,
2. zastąpienia powyższej metody osteosyntezą minimalną, leczeniem czynnościowym, ZESPOL-em i osteosyntezą zewnętrzną, według wskazań opracowanych dla każdej z nich,
3. wprowadzenia do stałego leczenia farmakologicznego:
 - antybiotyków z grupy biologicznych modyfikatorów odpowiedzi immunologicznej (BRM), tj.: linko- a zwłaszcza klindamycyny, cefoperazonu i ceftazydymu,

- preparatów immunosubstytucyjnych: immunoglobuliny drobnocząsteczkowej (gammaveniny),
- preparatów immunostymulujących: panodiny, anatoksyny gronkowcowej i levamisolu,
- oczywiście w obu przedziałach czasowych postępowanie powyższe uzupełniano także lekami przeciwobrzękowymi, przeciwzapalnymi i poprawiającymi ukrwienie obwodowe tkanek. Ostatnio (od 3 lat) wykorzystujemy w tym celu pentoksyfilinę w związku z coraz licznymi doniesieniami o jej korzystnym wpływie na u.o [22].

Wobec faktu, że to niezwykle istotne elementy naszego postępowania, chciałbym poświęcić im nieco więcej uwagi. Fakty, które zaprezentowałem wcześniej dowodzą, że:

1. nawet najbardziej prawidłowo prowadzona antybiotykoterapia nie daje pełnej gwarancji zapobieżenia powstania i rozwoju infekcji,
2. sama tylko antybiotykoterapia nie zapobiega rozwojowi infekcji w okresie późniejszym (po zagojeniu rany urazowej),
3. antybiotyki biorą udział w niszczeniu bakterii likwidując źródło(-a) zakażenia, ale czy przez to poprawiają stan ogólny chorego i przyczyniają się do jego wyzdrowienia? U osoby ze sprawnym u.o. generalnie tak [11, 20]. Ale u osoby, u której został on osłabiony — tak jak to się dzieje po urazie mechanicznym z nakładającym się niejednokrotnie na niego urazem operacyjnym — już nie. Wtedy nawet bakterie oportunistyczne mogą wywołać poważne zakażenie [5, 6, 11, 20]. Podawane wówczas antybiotyki niszcząc bakterie powodują, że do ustroju chorego dostają się znaczne niekiedy (zależnie oczywiście od masywności zakażenia) ilości egzo- i endotoksyn bakteryjnych, które oddziałują niekorzystnie na u.o. i cały organizm chorego (toksemia) [6, 10, 11, 20]. Zjawisko to może przybrać takie następstwa, że staje się bezpośrednim zagrożeniem chorego „urazowego”. Chory ginie we wstrząsie septycznym, choć „miał tylko złamaną kość”.

Z wprowadzenia do profilaktyki i leczenia z.o. immunoterapii wypływa jeszcze jedna niezwykle istotna korzyść.

Zastosowanie preparatów immunosubstytucyjnych i immunostymulujących może zapobiegać poprzez modulowanie u.o. powstawaniu zaburzeń zrostu kostnego w omawianej grupie chorych. Jest to hipoteza, ale znajdująca potwierdzenie w pracach doświadczalnych, szczególnie Radomskiej [18], jak również w badaniach przeprowadzonych w naszej klinice. Kociuga [15, 24] w doświadczeniach na królikach wykazał, że w grupie zwierząt ze złamaniami zakażonymi kości podudzia, które otrzymały anatoksynę gronkowcową z antytoksyną gronkowcową zrost złamania następował średnio w 35 dobie, podczas gdy u zwierząt z tymi samymi obrażeniami, którym nie podawano wymienionych preparatów, w 56 dobie zrost stwierdzono tylko u 4 królików.

W analizie mojego materiału klinicznego mogłem zaobserwować, że w grupie 31 pacjentów ze z.o. II° w obrębie podudzia, którym podawano antybiotyki (penicyliną krystaliczną z linko- lub klindamycyną) łącznie z immunoterapią (immunoglobuliny i anatoksyną gronkowcową) zrost złamania następował średnio w ciągu 105 dni (3,5 miesiąca). W grupie 31 osób z tego samego przedziału czasowego (1983–1994), które otrzymały tylko same antybiotyki, zrost kostny wykazano średnio dla całej grupy po 122 dniach (4 miesiącach). Z kolei w grupie 23 chorych leczonych z powodu tych samych obrażeń (stopni, lokalizacja) w latach 1978–1982 konsolidację złamania uzyskiwano średnio po 133 dniach (4,4 miesiąca), co w porównaniu do pierwszej grupy pacjentów jest znamiennością istotną statystycznie ($p < 0,05$).

Warto jeszcze dodać, omawiając ten aspekt zagadnienia, że w pierwszej grupie pacjentów nie stwierdzono żadnego poważnego powikłania infekcyjnego, a zaburzenia zrostu kostnego to tylko dwa zrosty opóźnione. Natomiast w grupie drugiej i trzeciej odnotowano po jednym zroście opóźnionym i po dwa stawy rzekome. Okres powstania zrostu kostnego

Profilaktyka i leczenie

w pierwszej grupie chorych był korzystniejszy w porównaniu do danych z piśmiennictwa.

Decyzja wprowadzenia do leczenia pacjentów z obrażeniami otwartymi u.n.r. preparatów immunosubstytucyjnych i immunostymulujących miała zarówno cel profilaktyczny (do 2- 3 tygodnia od urazu), jak i leczniczy (po 3 tygodniach od urazu).

O powodzeniu immunoterapii decydują poza właściwościami samych preparatów trafność wyboru chorób, w których się je podaje oraz sposób ich ordynowania [1, 13, 19].

Biorąc pod uwagę stan u.o. chorego „urazowego” (opisany na wielu stronach tej pracy), który bezpośrednio po urazie jest w różnym stopniu niewydolny (czasem aż do jego „paraliżu” [51]) przyjęliśmy pewien konkretny schemat postępowania. Schemat, według którego podawane preparaty wspierają u.o. sekwencyjnie, zgodnie z jego reakcją na rozwijające się zakażenie.

W pierwszym etapie podawaliśmy więc przez pierwsze 7 dni po urazie wraz z antybiotykami preparaty immunosubstytucyjne — Gammaveinin firmy Behring — wspierając układ humoralny, który jak wiadomo pierwszy wchodzi w kontakt z czynnikiem atakującym. Od 2 tygodnia po urazie rozpoczynaliśmy podawanie preparatów immunostymulujących: panodiny, anatoksyny gronkowcowej lub levamisolu według schematu opisanego w tabeli 3.

Tabela 3 Schemat podawania preparatów immunosubstytucyjnych i immunostymulujących u chorych z otwartymi obrażeniami układu narządów ruchu

Preparat immunosubstytucyjny

1. **Gammaveinin** - wlewy dożylny w 1, 3 i 6 dobie po urazie i/lub zabiegu operacyjnym, każdorazowo w dawce 150 ml (7,5 g)

Preparaty immunostymulujące

1. **Anatoksyna gronkowcowa** - pierwsza dawka (1 ml) w 7 dobie po urazie, przez następne 2 tyg. co 3 dni po 1 ml podskórnie, od 4 tyg. 1 raz w tygodniu przez kolejne 2 miesiące.
2. **Levamisol** - 2 razy 1/2 tabl. przez 3 kolejne dni tygodnia w ciągu 3 kolejnych tygodni. Na każdą kurację tygodniową chory otrzymał 450 mg, a na całą kurację 1350 mg preparatu.
3. **Panodina** - 2 do 4 ml co drugi dzień przez okres 2-3 tygodni

Przedstawiona sekwencja jest istotna, albowiem aby uzyskać wytwarzanie przeciwciał przez plazmocyty przeciw określonemu antygenowi potrzeba około 14-21 dni [13]. Jest to tzw. pierwsza odpowiedź immunologiczna. Aby ją otrzymać, komórki u.o. muszą być sprawne funkcjonalnie, a jak pisałem poprzednio nawet wtedy, kiedy u pacjentów po urazach i/lub zabiegach operacyjnych stwierdza się prawidłową liczbą komórek układu odpornościowego, to niejednokrotnie pozostają one niesprawne [1, 13]. U osób po urazach mechanicznych musimy po pierwsze liczyć się z utratą określonej ilości krwi obwodowej, której wielkość uwarunkowana jest stopniem doznanych obrażeń oraz po drugie, z mniejszą sprawnością pozostałej części u.o.

Stąd wyżej wymienione postępowanie terapeutyczne zmierzało do tego, aby:

1. wesprzeć u.o. w pierwszych dniach po urazie i
2. dać mu przez to czas na odtworzenie jego prawidłowych parametrów ilościowych i jakościowych.

Pierwszy etap to podawanie antybiotyku (co zapobiega bądź zwalcza infekcję, a więc działa przeciwbakteryjne) i immunoglobuliny (które wspierają działanie przeciwbakteryjne antybiotyków poprzez podniesienie progu wrażliwości bakterii na antybiotyki [16, 19])

i neutralizacją toksyny: egzotoksyny oraz endotoksyny z rozpadłych na skutek działania antybiotyków bakterii).

W ciągu tygodnia po poprawieniu kondycji u.o. podajemy preparaty immunostymulujące mając pewność, że u.o. na nie odpowie, a przez to zabezpieczymy chorego przed nawrotem ewentualnego zakażenia w okresie, kiedy wycofamy się z antybiotykoterapii. Kolejne podawanie dawki panodiny, czy anatoksyny gronkowcowej gdy stężenie przeciwciał wytworzonych przez plazmocyty przeciw określonemu antygenowi jest wyższe, powoduje że podana dawka antygeny stymuluje wytwarzanie przeciwciał „startując” jakby z wyższego poziomu [13]. Ponadto uaktywnianie wtedy procesu fagocytozy jest bardziej efektywne.

Skojarzenie antybiotyków z immunoterapią jest wynikiem poszukiwań coraz lepszych metod leczenia sięgających źródeł choroby. Podjęcie badań nad łącznym wpływem antybiotyków i immunoterapii podyktowane było właśnie ich kliniczną — potwierdzoną doświadczalnie — wartością. O ile terapia antybiotykami z punktu widzenia wpływu na homeostazę organizmu jest postępowaniem objawowym, tak immunoterapia otwiera możliwości skutecznych działań poprzez wykorzystanie fizjologicznych mechanizmów sterowania układem limfatycznym. W naszej klinice postępowanie takie doprowadziło wśród chorych ze z.o. do znamiennej statystycznego ($p < 0,05$) obniżenia odsetka powikłań bakteryjnych z 17,9% w latach 1978–1982 do 4,8% w latach 1983–1994.

Piśmiennictwo

1. Dąbrowski M.P., Dąbrowska-Bernstein B.K.: Mechanizmy działania i zastosowanie terapeutyczne TFX, cz.I „Chemil”, Warszawa 1984: 5–27
2. Dudkiewicz Z.: Przydatność wybranych wskaźników immunologicznych w ocenie ryzyka powikłań bakteryjnych w leczeniu chorych o profilu urazowo-ortopedycznym. Rozprawa doktorska, Łódź, 1986
3. Dudkiewicz Z., Żołyński K., Szczur K., Kociuga J.: Możliwości zapobiegania i leczenia chorych z obrażeniami mechanicznymi i operacyjnymi ciała współistniejącymi z zaburzeniami w obrębie układu immunologicznego. Biul. WAM, 1990, 33, 3–4: 205–210
4. Eckert P., Nabor M., Barbey-Schneider M.: Immunoglobulins in Serum und in Peritonealsekret in der Frahen postoperativen Phase. Chirug., 1981, 52: 403–40
5. Faist E.: MOF in polytrauma patients. J. Trauma., 1983, 23: 775–781
6. Galikowski M.: Badania kliniczne i doświadczalne nad wpływem urazu operacyjnego, posocznicy i profilaktyki antybiotykowej na metabolizm tlenowy i właściwości fagocytarne granulocytów obojętno-chłonnych. Rozprawa habilitacyjna, Łódź, 1993
7. Giedrys-Galant S.: Niektóre aspekty swoistego działania immunologicznego szczepionki gronkowcowej przemawiające za stosowaniem autoszczepionek. Pol. Tyg. Lek., 1988, 43: 953–956
8. Goc S.: Wpływ preparatu Decaris na leczenie chorych z pourazowym zapaleniem kości. Rozprawa doktorska. WAM, Łódź, 1986
9. Hałasa J. (red.): Immunoterapia w przewlekłym zapaleniu kości. Wyd. JotA, Szczecin, 1996
10. Hauser W. E., Remington J. S.: Effect of Antibiotics on the Immune Response. Am. J. Med., 1982, 72, 5: 711–716
11. Hryniewicz W.: Antybiotykoterapia wobec problemu narastającej oporności bakterii. Mag. Med., 1993, 10, 38: 1–15
12. Ichihashi Y.: The effects of a pepsin-treated human normal immunoglobulin. Preparation against experimental infections with E. Coli or Ps. Aeruginosa. Jap. J. Pediatrics. 1980, 33: 483–488
13. Jędrzejczak W. W.: Podstawowe zasady immunoterapii. Lek. Woj., 1994, 7–8, 391–396
14. Klemperer M.S., Styrz B.: Clindamycin uptake by human neutrophils. J. Infect. Dis. 1981, 114: 472–478

Profilaktyka i leczenie

15. Kociuga J.: Wpływ surowicy przeciwgronkowcowej oraz skojarzonego podawania anatoksyny i antytoksyny gronkowcowej na wybrane wskaźniki immunologiczne i kliniczne w doświadczalnym pourazowym gronkowcowym zapaleniu kości. Rozprawa doktorska. WAM, Łódź, 1989.
16. Krajewski T.: Porównawcza ocena aktywności immunologicznej i skuteczności klinicznej preparatu torfowego Tołpy (PTT) i anatoksyny gronkowcowej u chorych na przewlekłe pourazowe gronkowcowe zapalenie kości. Rozprawa doktorska, WAM Łódź, 1991
17. Per ner T.: Wpływ preparatu corynebacterium parvum na wybrane wskaźniki immunologiczne i wyniki kliniczne u chorych na przewlekłe pourazowe zapalenie kości. Rozprawa doktorska. WAM, Łódź, 1987
18. Radomska D.: Badania nad wpływem antybiotyków i niektórych innych leków na aktywność angiogenna leukocytów jednojądrowych człowieka. Rozprawa doktorska, Zakład Immunologii Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc, Warszawa, 1992
19. Ronneberger H., Zwisler O., Gutjahr.: Geringere Keimansiedlung durch Antibiotika und Immunoglobuline. Die gelben Hefte XXIII, 1983: 60-63
20. Skopińska-Różewska E.: Modulujący wpływ antybiotyków na odporność. Immunol. Pol., 1985, 10: 81-88
21. Wierzbicki S.: Zdolność fagocytarna i bakteriobójcza granulocytów u chorych na pourazowe zapalenie kości leczonych anatoksyną gronkowcową. Rozprawa doktorska. WAM, Łódź, 1986
22. Zeman K., Paradowski P.T.: Pentoxifylline A new immunomodulator? Int. Rev. Allergol. Clin. Immunol., 1995, 1, 3: 1-8
23. Żołyński K.: Patogeneza i leczenie pourazowych zapaleń kości. Badania doświadczalne i kliniczne. Praca habilitacyjna, WAM—Łódź, 1983
24. Żołyński K., Denys A., Goc S., Wierzbicki S.: Skuteczność immunoregulatorów w leczeniu chorych na pourazowe zapalenie kości. Materiały XXV Jubileuszowego Zjazdu Naukowego PTOiTr. Łódź, 1984: 476-481

ZAKAZENIA SZPITALNE I POSOCZNICE

Motto:

1. Świat jest wszystkim, co jest faktem.
Ludwig Wittgenstein: „*Tractatus logico-philosophicus*”

Zakażenia szpitalne (kilka podstawowych stwierdzeń)

Jacek Juszczyk

Klinika Chorób Zakaźnych Instytutu Mikrobiologii i Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

. Problem zakażeń szpitalnych (zs.) w Polsce jako temat analiz i opracowań pojawił się dopiero w latach 60. Od tego czasu przez następne dziesiątki lat łączy go jeden wspólny wątek. Jest nim uporczywie powtarzająca się opinia ekspertów o poważnych zaniedbaniach w staraniach zmierzających do ograniczenia tego zagrożenia.

- 1.1. Wyrażano ją tak samo w latach 60., jak i dziś. Można ją w skrócie opisać cytatem z Jeljaszewicza z r. 1978 (1): „Problematyka ta przedstawia się niepokojąco”.
- 1.2. W r. 1996 autorzy ostatniego ministerialnego Raportu na temat zs. (2), stwierdzili: „Rzeczywista częstość występowania zs. w naszym kraju jest nieznana, względnie dane są tylko cząstkowe i oparte na najmniej efektywnej rejestracji typu biernego.. . Jednym z kluczowych elementów jest świadomość tego rodzaju zagrożeń”. Oceniono ją jako wysoce niewystarczającą.
- 1.3. W połowie lat 70. Arnold, jeden ze znawców problemu, wcale nie mając na myśli naszej sytuacji stwierdził, iż należy zadać pytanie, czy szpitale są chore?. Tak, odpowiedział, ta choroba to zakażenia w nich występujące.
 - 1- 3.1. Jednakże, od tego czasu, w krajach o wysokich standardach szpitalnictwa zrobiono wiele, aby skutki tej choroby były o wiele mniej dotkliwe.
 - 1.3.2. W niewielkim stopniu dotyczy to naszego kraju.

W ograniczeniu liczby zakażeń szpitalnych musi być zainteresowane środowisko lekarskie z natury wykonywanego zawodu, z jego zobowiązaniami etycznymi i ściśle profesjonalnymi.

 - 2.1. U nas w myśleniu o zakażeniach szpitalnych tkwi podstawowy błąd, wynikający z niewłaściwej analizy kosztów i korzyści.
 - 2.2. Środki przeznaczone na szeroko pojętą higienę szpitalną nader często ulegają redukcji, ponieważ priorytet mają wydatki na leczenie, w tym -zakażeń szpitalnych, którym nie umiano zapobiec.
 - 2.3. I tak np. obliczono, że przeciętne straty wynikające z jednostkowego zakażenia szpitalnego, wymagającego długotrwałego i drogiego leczenia, mogą równoważyć cenę średniej jakości urządzenia sterylizującego.
 - 2.3. Bez zrozumienia wagi problemu trudno w ogóle mówić o chęci poprawy sytuacji.
- 2- 4. Jeżeli argumenty natury etycznej nie są dostatecznie przekonujące, co jest naganne, należy się również odwoływać do strat ekonomicznych.

Zakażenia szpitalne i posocznice

- 2.5. Tylko analiza koszty-korzyści może przekonać o celowości wydatków na higienę szpitalną, jeżeli argumenty natury etycznej są traktowane werbalnie.
- 2.6. Zmiana nastawienia do problemów związanych z zakażeniami szpitalnymi musi dotyczyć dosłownie wszystkich pracowników medycznych.
- 2.7. Bez spełnienia tego elementarnego warunku, jakiegokolwiek programy naprawy są skazane na niepowodzenie.
2. W latach 90. Światowa Organizacja Zdrowia szacowała częstość zs. na ok. 10%. Były one bezpośrednią przyczyną zgonu u 3%, a pośrednią u 8,3%.
 - 2.1. Tymczasem rejestracja zs. przebiegała i przebiega w kraju w sposób wskazujący na niewiarygodność publikowanych danych.
 - 2.2. W latach 1984-1997 od 24% do 34% (na 49) województw nie zgłosiło żadnego zs.
 - 2.3. Ogółem zarejestrowano 58 zgonów z powodu zs.
 - 2.4. W tym czasie hospitalizowano ok. 4,6 mln. chorych rocznie.
3. W latach 1994-1996 sporządzono Raport na temat zs., który został (formalnie) przyjęty do realizacji przez kierownictwo Ministerstwa Zdrowia (2), do czego jednak nie doszło. (W tym miejscu nie treść tego dokumentu nie może być streszczona z przyczyn oczywistych. Zostaną wyeksponowane tylko niezbędne wątki).
 - 3.1. Podkreślono niewiarygodność danych o częstości zs., w tym liczby zgonów, wnioskując o uchYLENIE zarządzenia o rejestracji zs. z r. 1983.
 - 3.2. Komitety zs. posiadało 85% szpitali (ich działalność oceniono jako zróżnicowaną, na ogół tylko formalną) a tylko 20% zatrudniało epidemiologów.
 - 3.3. U nieco ponad 50% hospitalizowanych, leczonych przeciwbakteryjnie, nie wykonano żadnego badania bakteriologicznego. Tak więc, w codziennej pracy w szpitalach przeważa postępowanie empiryczne.
 - 3.4. Poddano krytycznej analizie politykę antybiotykową, której po prostu w większości szpitali nie było.
 - 3.4.1. Działo się to w sytuacji, kiedy odnotowywano stały wzrost liczby zakażeń wieloopornymi bakteriami.
 - 3.4.2. Postulowano konieczność utworzenia zespołów do spraw polityki antybiotykowej.
 - 3.5. Tylko 43% szpitali zaopatrzonych było w komory dezynfekcyjne parowe lub parowo - formalinowe. W 84% szpitali stosowano nadal sterylizatory na suche, gorące powietrze, które powinny być wycofane. Nieskuteczność sterylizacji procesów sterylizacji gazowej w niektórych ośrodkach sięgała 27%.
 - 3.6. Dużo miejsca poświęcono wirusowemu zapaleniu wątroby typu B i C.
 - 3.6.1. U osób dorosłych 60%, a u dzieci do lat 2 przeszło 80% wzv. typu B - miało W okresie tworzenia raportu pochodzenie jatrogenne.
 - 3.6.2. Około 65% wszystkich przypadków zakażenia wirusem C zapalenia wątroby stanowiły zs (wśród przeszło 7400 hemodializowanych w Polsce anty-HCV wykryto u 36%).
 - 3.7. Autorzy Raportu postulowali opracowanie procedur postępowania w celu ograniczenia ryzyka zs.
 - 3.7.1. Nacisk na prostą „higienizację” szpitala, przedstawianie danych o wynikach posiewów bez określenia, czy to jest kolonizacja, czy zakażenie, nie przynosi rzeczywistych danych o zs. i bywa postępowaniem wprowadzającym „szum informacyjny”
 - 3.8. Dane z Raportu były i są wykorzystywane przy różnych okazjach, lecz najczęściej nie podaje się ich źródła.
4. W r. 1995 Polskie Towarzystwo Zakażeń Szpitalnych opracowało jednolitą Kartę rejestracji zs., którą mogły wykupić szpitale.
 - 4.1. Zastosowano metodę rejestracji biernej, a więc o bardzo niskiej efektywności. Wstępne dane zostały opublikowane w r. 1999 (3).
 - 4.2. Średnia częstość zarejestrowanych zs. wynosiła 1,6% (od 0% - 19%; w 45% szpitali poniżej 1%).

- 5.3. Najczęściej zs. rozpoznawano na oddziałach rehabilitacyjnych (prawie 20%), intensywnej terapii (przeszło 14%) i psychiatrii (8,5%), a najrzadziej: gruźlicy i chorób płuc (0,3%), otolaryngologii (0,4%) i pediatrii (0,5%). Ogółem, w przybliżeniu, oszacowano częstość występowania zs. w przedziale od 3% do 15%.
- 5.4. Czynniki etiologiczne wykryto badaniem mikrobiologicznym tylko w ok. 42%.
- 5.5. Zs. były bezpośrednią przyczyną zgonu w 2,5% przypadków.
- 5.6. Analiza tych danych wskazuje, iż uzyskane informacje nadal nie są w pełni wiarygodne.
- 5.7. Np. mała liczba zgłoszonych zakażeń na oddziałach oparzeń wręcz nie nadawała się do analizy statystycznej. Dominacja oddziałów rehabilitacji jest trudna do wytłumaczenia.
- 5.8. Całkowicie pominięto problem zakażeń wirusami hepatotropowymi, co jest dość specyficznym ujęciem problemu.
- 5.9. Autorzy również wyrażają wątpliwości co do uzyskanych rezultatów.
- 5.10. Wstępne wyniki potwierdzają więc wciąż niedostateczne przygotowanie personelu szpitalnego. I to jest czynnik najważniejszy, który ankieta potwierdza (wpisując się w rodzimą historię problemu).
- 5.11. Niektóre Kasy Chorych pomijają uwagi krytyczne o wartości uzyskanych wyników i usiłują dane ze swego terenu przyjmować za wiarygodne.
- 5.12. Do kuriozum należy próba wymuszania przez jedną z Kas Chorych klauzuli, iż nie pokrywać będzie kosztów leczenia zs., o ile ono wystąpi. W ten sposób administratorzy „zlikwidują” problem.
6. Podstawowym warunkiem zapobiegania zakażeniom szpitalnym jest wiedza na ich temat. Jest to jeden z podstawowych elementów zawodowego przygotowania pracowników medycznych.
 - 6.1. Wymaga to starannego, praktycznego szkolenia, prowadzonego już w okresie studiów przeddyplomowych, jak i stałego uwzględniania tej problematyki w szkoleniu podyplomowym.
 - 6.2. Polskie podręczniki przeznaczone dla personelu średniego – poza nielicznymi wyjątkami – w ogóle nie zawierają informacji z tego zakresu.
 - 6.3. Rozdział na temat zs. po raz pierwszy w polskim podręczniku chorób zakaźnych (red. B. Kassur i Jerzy Januszkiewicz) pojawił się w r. 1985.
 - 6.4. Kandydaci na specjalistów w dziedzinach klinicznych mają ograniczoną wiedzę szczegółową z tego zakresu. Nie jest ona konsekwentnie egzekwowana przez komisje egzaminacyjne.
 - 6.5. Dotyczy to także konkursów na stanowiska ordynatorskie.
7. Jedną z przyczyn niewłaściwego rozumienia znaczenia zs. jest u nas niedorozwój mikrobiologii klinicznej. Specjalistów z tej dziedziny mających prawdziwy kontakt z pacjentem jest po prostu dramatycznie mało.
 - 7.1. Wśród mikrobiologów dominuje specjalista od identyfikacji czynnika etiologicznego nie mający realnego związku z oddziałem, na którym jest leczony chory.
 - 7.1.1. Nie jest prawdziwym partnerem lekarza. Najczęściej dlatego, że sam nim nie jest.
8. W Polsce występuje nadmierne ordynowanie antybiotyków, wyższe w niektórych podstawowych grupach w porównaniu z krajami europejskimi.
 - 8.1. Odmienny profil drobnoustrojów odpowiedzialnych za zs. w dużym stopniu pozostaje w bezpośrednim związku z rodzajem oddziału w konkretnym szpitalu oraz ze stopniem zużycia na nim antybiotyków.
 - 8.2. Racjonalizacja stosowania leków przeciwbakteryjnych jest koniecznością podnoszoną przez ekspertów we wszystkich rozwiniętych krajach.
 - 8.3. Program szkolenia w tym zakresie musi być włączony do problematyki zs. jako jego immanentna składowa.
9. Szczególnej troski wymaga przygotowanie personelu średniego, w tym pielęgniarek.

Zakażenia szpitalne i posocznice

- 9.1. Bez współpracy lekarzy z tą grupą zawodową niemożliwe jest wdrożenie racjonalnych i sprawdzonych zasad zapobiegania zs.
- 9.2. W wielu krajach odpowiednio wyszkolone pielęgniarki są odpowiedzialne za prewencję zakażeń szpitalnych zarówno w poszczególnych szpitalach, jak i w skali całego kraju.
- 9.3. Bez aktywnego udziału tego środowiska nie ma mowy o właściwej kontroli zs.
10. W ostatnich kilku latach tematyka zs. jest coraz częściej omawiana na coraz liczniejszych sympozjach ogólnopolskich, regionalnych i lokalnych.
 - 10.1. Obecnie najcenniejsze są jednak takie imprezy, na których przedstawia się konkretne analizy z konkretnego terenu, będące wynikiem własnych doświadczeń zespołów zaangażowanych w tę problematykę.
 - 10.2. Wynika to z coraz to bardziej rosnącego przekonania, że zs. są sprawą konkretnych oddziałów i szpitali.
 - 10.3. Problematyka ta przenika nie tylko do środowisk lekarzy i biologów zatrudnionych w laboratoriach mikrobiologicznych, lecz także do środowisk nie lekarskich (Stowarzyszenie Kierowników Centralnych Sterylizacji: r. 1996; Polskie Stowarzyszenie Pielęgniarek Epidemiologicznych: r. 1998).
 - 10.4. Tendencje te nasiliły się w związku z reformą służby zdrowia, jej nową organizacją i bardzo wymierną odpowiedzialnością związaną z samodzielnością szpitali.
 - 10.5. Problem prawny dotyczy skutecznego dochodzenia odpowiedzialności szpitali za zakażenia szpitalne i wszystkie jego skutki (z powództwa cywilnego).
 - 10.6. Kontrola zs. jest jednym z najważniejszych wymogów akredytacji szpitali w krajach Unii Europejskiej, której chcemy być członkiem.

Piśmiennictwo:

1. Jeljaszewicz J. (przewodniczący), Chachaj W., Kańtoch M., Kassur B., Kosieradzki K, Kulesza A., Nowosławski A., Oszacki J., Piekacz K., Towpik J: „Zakażenia szpitalne - stan obecny na świecie oraz zalecenia praktyczne na użytek krajowy”, Rada Naukowa przy Ministrze Zdrowia i Opieki Społecznej, Analizy i Opinie 4, Zakażenia szpitalne, Warszawa, 1978 (do użytku służbowego).
2. Raport o zakażeniach szpitalnych (opracowanie zespołowe, przewodniczący: J. Juszczyk, członkowie: A. Gładysz, W. Hryniewicz, A. Kiibler, B. Jakimiak, W. Magdzik, S. Samet): Klin. Chor. Zak. Szpit., 1997, 1, 7-48. (pełny tekst wraz z załącznikami przekazany do Ministerstwa Zdrowia i Op. Społ. w r. 1996).
3. Wójkowska-Mach J., Bulanda M., Adamski P.: Wstępna analiza danych uzyskanych w ramach programu kontroli zakażeń. Terapia, 1999, 7, z.1 (73), 3-6.

Epidemie szpitalne

Alfred Samet, Łukasz Naumiuk, Marek Bronk, Olga Padzik

Zakład Bakteriologii Klinicznej, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr 1 AM w Gdańsku

Zakażenia wywoływane przez różnorodne patogeny mogą w przypadku zaniedbań higieny szpitalnej przybrać formę epidemii szpitalnej. Kontrola każdej epidemii wymaga połączonych wysiłków i dobrej woli dyrekcji placówki, zespołu kontroli zakażeń oraz całego personelu oddziału bądź kliniki. W dobie narastającej oporności drobnoustrojów, a co za tym idzie

zwiększonej trudności w ich eliminacji ze środowiska szpitalnego często mamy do czynienia z rozprzestrzenieniem się epidemii w obrębie szpitala lub nawet okolicznych szpitali. Niekontrolowana epidemia prowadzi do sytuacji endemicznej czyli stałego utrzymywania się danego drobnoustroju w szpitalu. Endemia może charakteryzować się zmienną intensywnością.

Chcielibyśmy skupić się w tym opracowaniu na epidemiach szpitalnych powodowanych głównie przez przenoszenie bakterii między pacjentami na rękach personelu. Na przykładzie naszego szpitala pragniemy przedstawić sytuację epidemiologiczną wankomycyno-opornych enterokoków (VRE), metycyliny-opornych gronkowców złocistych (MRSA) i pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* produkujących -laktamazy o rozszerzonym spektrum działania (ESBL).

Epidemie wankomycyno-opornych enterokoków są w naszym kraju rzadkością. Pierwszy w Polsce *Enterococcus faecium* VRE o fenotypie oporności VanA został wyizolowany od pacjentki Kliniki Hematologii Dorosłych AMG w grudniu 1996. Przez 2 miesiące była ona jedynym nosicielem tego szczepu. W kolejnych miesiącach 1997 zaobserwowano występowanie tych bakterii u innych pacjentów – w lutym u 5 osób, w marcu u 3 i w kwietniu u 2 [1]. W całym 1997 od 31 pacjentów kliniki, w 1998 – 42, 1999 – 43. Z innych oddziałów naszego szpitala zaczęto izolować VRE od 1998 roku, charakterystyczne jest, że bakterie te głównie kolonizowały pacjentów. Jedynie u części pacjentów leczonych w Klinice Hematologii rozwinęła się infekcja, u 26 z nich wykryto bakterie VRE. Wszystkie szczepy VRE były odporne na dostępne antybiotyki. Przeprowadzone typowanie enterokoków oparte na technikach molekularnych takich jak RAPD-PCR i REP-PCR potwierdziło podobieństwo izolowanych drobnoustrojów i utrzymywanie się 2 klonów VRE w klinice Hematologii. Za pomocą tych samych metod ustalono fenotyp wysokiej oporności na wankomycynę i teikoplaninę VanA u wszystkich VRE [1,4]. Mimo izolacji pacjentów i niewykrycia nosicieli wśród personelu oraz braku skażenia środowiska, VRE utrzymują się i wywołują zakażenia. Podejrzewamy, że skolonizowani pacjenci powtórnie przyjmowani na hospitalizację są rezerwuarem tych bakterii, a przenoszenie VRE na rękach personelu odgrywa rolę w rozprzestrzenianiu epidemii.

MRSA stanowią o wiele poważniejszy problem dotyczący wiele polskich szpitali. Infekcje wywołane przez te bakterie są bardzo trudne do wyleczenia i wymagają stosowania glikopeptydów. Zwiększone zużycie tych antybiotyków ma z kolei wpływ na selekcję VRE i wankomycyno-opornych gronkowców. W naszym szpitalu zaczęliśmy śledzić występowanie MRSA w 1996 r. gdy wyizolowaliśmy te bakterie od 62 pacjentów. W kolejnych 3 latach było odpowiednio 219, 198 i 140. Najbardziej dotknięte tym problemem były kliniki Intensywnej Terapii i Chirurgiczne (głównie Kardiochirurgii), gdzie w badanym okresie wykryto 154 (w tym 33 bakterie) i 350 (w tym 46 bakterie) zakażeń lub/i skolonizowanych pacjentów [5]. Ilość zakażeń MRSA na tle wszystkich infekcji kształtowała się następująco 1,2%; 6,2%; 5,8% i 3,1% w kolejnych latach. Większość szczepów MRSA była oporna na erytromycynę, klindamycynę i ciprofloksacynę (mniej niż <5% wrażliwych), wrażliwa na kotrimoksazol (1,3% opornych) i wrażliwa na wankomycynę i teikoplaninę. Wykonane badania molekularne RAPD-PCR wybranych 141 izolatów udowodniły dominację jednego genotypu (76% badanych izolatów) i współwystępowanie drugiego (18% izolatów) i obecność pojedynczych izolatów należących do 5 innych genotypów [6]. Uważamy, że trudności w izolacji zakażonych i skolonizowanych pacjentów wraz z zaniedbaniem podstawowych czynności higienicznych takich jak mycie rąk, spowodowało sytuację endemiczną w naszym szpitalu.

ESBL są wśród bakterii Gram ujemnych tym czym MRSA wśród gram dodatnich, tzn. ich obecność w danym szczepie eliminuje z leczenia danej infekcji całe grupy antybiotyków jak penicyliny, cefalosporyny i monobaktamy. Ich pojawienie się w połowie lat 80-tych jest rezultatem stosowania III generacji cefaloporyn. Enzymy te przenoszone są na plazmidach *Klebsiella pneumoniae* i *Escherichia coli*, a w ostatnich latach także przez inne pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* [3]. Równoległe ze stale poszerzaną listą gatunków produkujących te laktamazy zwiększa się liczba różnych ESBL, która ostatnio sięgnęła kilkudziesięciu rodzajów. W drugim półroczu 1999 zaczęliśmy śledzić sytuację ESBL w SPSK1. W badanym okresie wyhodowaliśmy od pacjentów 123 izolaty o fenotypie ESBL, głównie *K. pneumoniae* (57) i *E. coli* (42)

Zakażenia szpitalne i posocznice

w większości z klinik pediatrycznych (37) i chirurgicznych (33). Najczęściej te drobnoustroje związane były z zakażeniami układu moczowego, oddechowego i ran pooperacyjnych. Dla porównania w pierwszym kwartale tego roku wyizolowaliśmy w sumie 91 pałeczek ESBL, w tym *K. pneumoniae* - 42 i *E. coli* - 36, na klinikach pediatrycznych - 61 i chirurgicznych-

13. Tylko pojedyncze izolaty nie są odporne na aminoglikozydy. Kolejnym problemem związanym z ESBL jest długotrwała kolonizacja pacjentów, najczęściej dotycząca układu pokarmowego, cewki moczowej, ran, często trudna do odróżnienia od zakażenia i będąca przyczyną niepotrzebnej antybiotykoterapii. Pacjenci skolonizowani mogą być rezerwuarem bakterii, przenoszonych dalej na rękach personelu. Na terenie naszego szpitala mamy do czynienia albo z epidemią ESBL albo już z sytuacją endemiczną w zależności od kliniki. Największy problem stanowią te bakterie u pacjentów klinik pediatrycznych. Do tej pory nie przeprowadziliśmy genotypowania drobnoustrojów i możemy tylko podejrzewać w oparciu o piśmiennictwo, że w naszym przypadku doszło do równoległego rozprzestrzenienia się klonów *K. pneumoniae* i *E. coli* oraz plazmidu lub plazmidów przenoszących ESBL między gatunkami [2,3].

W dalszym ciągu zauważamy braki w przestrzeganiu podstawowych procedur higienicznych w naszym szpitalu, jednak skuteczna kontrola epidemii szpitalnych wymaga podjęcia wielu dodatkowych działań, do których należą m.in. izolacja pacjentów, grupowanie pacjentów skolonizowanych/zakażonych na tych samych salach, ograniczenie stosowania niektórych antybiotyków (np. III generacja cefalosporyn, glikopeptydy), stałe monitorowanie występowania określonych drobnoustrojów w oparciu o skomputeryzowaną bazę danych laboratorium mikrobiologicznego, prowadzenie badań przesiewowych w celu identyfikacji pacjentów skolonizowanych, prawidłowe określanie fenotypów oporności bakterii w laboratorium mikrobiologicznym, badania molekularne szczepów w celu ustalenia sytuacji epidemiologicznej oraz ciągłe nadzorowanie przestrzegania procedur higienicznych jak np. mycie rąk [3,7].

Piśmiennictwo

- 1 Bronk M., A. Samet, A. Hellmann. 1997. Klin.Chor. Zakaż. Zakaż.Szpit. 1: 71-74
- 2 Lucet J.C., D. Deere, A.Fichelle.1999. Clin. Inf. Dis. 29: 1411-18
- 3 Paterson D.L., V.L. Yu. 1999. Clin. Inf. Dis. 29: 1419-22
- 4 Samet A., M. Bronk, A. Hellmann. 1999. J.Hosp.Inf. 41: 137-143
- 5 Samet A., O. Padzik, A. Śledzińska. 1999. Klin.Chor. Zakaż. Zakaż.Szpit. 3: 29-33
- 6 Samet A., P. Sachadyn, J. Kur. 1997. Klin.Chor. Zakaż. Zakaż.Szpit. 1: 63-68
- 7 Shlaes D.M., D.N. Gerding, J.F.John. 1997. Clin. Inf. Dis. 25: 584-99

Zarys patogenezy posocznicy

Jacek Juszczyk

Klinika Chorób Zakaźnych Instytutu Mikrobiologii i Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

W latach 1991–1992 zaproponowano inne niż dotąd ujęcie problemu posocznicy. Przez jednych zostało to przyjęte nieomal z entuzjazmem, przez innych z rezerwą. *American College of Chest Physicians and American Society of Critical Care Medicine* (3) wprowadziło pojęcie zespołu uogólnionej reakcji zapalnej (*systemic inflammatory response syndrome*, SIRS). Jest to odpowiedź na różne czynniki, zakaźne i niezakaźne (np. oparzenia, rozległe

urazy, ostre zapalenie trzustki), której przebieg sprowadza się do wieloczynnikowej, nadmiernej reaktywności zapalnej, ze szczególnym znaczeniem pobudzenia sieci cytokinowej. Posocznica w tym ujęciu jest jednym z wariantów SIRS, rozwijającym się na podłożu infekcyjnym.

Posocznicę rozpoznaje się u chorych demonstrujących co najmniej dwa objawy z zespołu złożonego z następujących składowych, o ile jednocześnie występują objawy kliniczne:

Ciepłota > 38 st. C lub < 36 st. C

Tętno > 90/min.

Częstość oddechów > 20/min. lub ciśnienie parcjalne tlenu < 32 mmHg

Liczba leukocytów > 12 000/mm lub < 4000/mm lub >10% pałeczek

Wśród czynników etiologicznych posocznicy dominują bakterie. W dużych opracowaniach tematu na pierwszym miejscu wymienia się *E. coli*, enterokoki oraz gronkowce (wg: 13). Bakterie Gram-dodatnie jako przyczyna posocznicy odzwierciedlają charakterystyczną zmianę w częstości występowania ciężkich zakażeń szpitalnych, wśród których jeszcze w latach 60-tych dominowały bakterie Gram-ujemne. Zróżnicowanie etiologiczne posocznicy ma wyraźny związek z coraz agresywniejszymi metodami diagnostycznymi i terapeutycznymi (np. linie naczyniowe), zwiększaniem liczby chorych znajdujących się w stanie immunosupresji związanej z chemoterapią, AIDS, cukrzycą, marskością, etc. Oprócz bakterii posocznicę mogą wywołać także grzyby (np. *Candida sp.*), riketsje (*Rickettsia rickettsi*), pierwotniaki (*Plasmodia falciparum*), jak również niektóre wirusy (denga). Niezależnie od etiologii posocznica jest nadal stanem zagrażającym życiu ze śmiertelnością w połowie lat 90 ocenianą na 40% a ze wstrząsem na 70% (8).

Patogeneza posocznicy

Rozpoznanie obcych antygenów prowadzi do odpowiedzi zapalnej w miejscu zakażenia. Istotą tych złożonych reakcji (określanych czasami jako „splątana sieć”) jest wytwarzanie czynników prozapalnych. Dochodzi do powstania tzw. kaskady zapalnej, która bardzo skutecznie doprowadza do ograniczenia, a następnie likwidacji ogniska zakażenia. Bardzo wiele czynników, zarówno ze strony drobnoustroju, jak i zaatakowanego makroorganizmu powoduje, iż taki przebieg procesu zapalnego może jednak przybierać bardzo niekorzystne formy. Realizuje się wtedy inny scenariusz, który jest istotą uogólnionej reakcji zapalnej, w tym posocznicy. Odpowiedź jest nadmierna lub też nie poddaje się zwykle skutecznym mechanizmom regulacyjnym. Jeżeli nie dochodzi do skutecznego ograniczenia zakażenia, następuje jego rozsiew. Możliwy jest także jeszcze jeden wariant. W niektórych sytuacjach egzogenne produkty bakteryjne, jak i składniki ich budowy wyzwalane w dużych ilościach, przy braku adekwatnej obrony, mogą doprowadzać do SIRS bez wyraźnych objawów rozsiewu. Oddziałują toksycznie z jednego, pierwotnego źródła na cały ustrój. Są to np. peptydoglikany i kwasy tejchojowe, niektóre egzotoksyny bakteryjne, jak również składowe ściany komórkowej grzybów.

Drobnoustroje i ich produkty ulegają rozsiewowi przez układ limfatyczny lub krwionośny. W warunkach rozsiewu oczywiście o wiele łatwiej dochodzi do uogólnienia odpowiedzi zapalnej.

Czynniki drobnoustrojowe: lipopolisacharydy bakteryjne (LPS) i superantygeny

Najlepiej przebieg tego procesu poznano na modelach zwierzęcych wstrząsu septycznego wywołanego przez LPS bakterii Gram-ujemnych (endotoksyny) oraz gronkowcową toksynę 1 powodującą zespół wstrząsu toksycznego (TSST-1). LPS jest integralnym składnikiem zewnętrznej części błony komórkowej bakterii Gram-ujemnych. Zawiera czynnik toksyczny w swej strukturze wielocukrowej i w lipidzie A (dwucukier D-glukozaminyłowy połączony z kwasami tłuszczowymi). Podanie zwierzętom lipidu A powoduje śmiertelny

wstrząs (20). Interakcja LPS z monocytami/makrofagami i z neutrofilami obejmuje najpierw związanie LPS z surowiczym białkiem go wiążącym (LBP). Powstały kompleks łączy się z cząsteczkami o własnościach receptorowych, w tym z cząsteczką CD14 znajdującą się na powierzchni ww. komórek (26). Ważne jest także i to, że ww. cząsteczka występuje także w formie rozpuszczalnej w surowicy. Kompleks rozpuszczalny CD4+LBP ma własności uszkodzenia śródbłonna (19). Ostatnio stwierdzono, że cząstka CD14 może także być receptorem dla bakterii Gram-dodatnich (9) Związanie kompleksu z powierzchnią błony komórkowej uruchamia enzymatyczne sygnały aktywujące. Oddziałują one na metabolizm uruchamiając wytwarzanie dużych ilości czynników prozapalnych.

Specyficzny mechanizm oddziaływania posiadają superantygeny bakteryjne wchodzące w skład struktury *Staphylococcus aureus* i *Streptococcus pyogenes*. Istota ich oddziaływania polega na omijaniu systemu uruchomienia „konwencjonalnej” aktywności komórek T nastawionych na wysoce swoiste rozpoznawanie obcych antygenów. Superantygen łączy się nieswoiście z receptorami TCR limfocytów T, co wywołuje syntezę dużych ilości IL-2 stymulującej wytwarzanie licznych mediatorów zapalenia. Wiążą się także nietypowo z cząsteczkami układu MHC-II (5). W efekcie tego „przeskakiwania” zwykłych mechanizmów oddziałują poza restrykcją MHC, co doprowadza do głębokiego spaczenia odpowiadającej odpornościowej typu komórkowej. Procesy zapalne są szczególnie nasilone i dochodzi do niewydolności narządowej (22).

Aktywacja sieci cytokinowej i jej skutki

Aktywacja komórek opisaną wyżej drogą prowadzi do wytwarzania i uwalniania cytokin, z których największe znaczenie patogenetyczne mają: czynnik martwiczy guzów (TNF-alfa), IL-1 i interferon- γ (IFN- γ). Kluczowe znaczenie tych cytokin udowodniono w wielu eksperymentach na zwierzętach, *in vitro*, a także w badaniach u chorych z SIRS, jak i na ochotnikach (15). Można stwierdzić, iż SIRS, a w tym posocznica jest wynikiem nasilonej, nie dającej się wyregulować aktywacji skomplikowanej sieci cytokinowej (7). Nie wszystkie z cytokin wzmagają procesy zapalne. I tak IL-10 ma odwrotne działanie (7).

TNF- α i IL-1 powodują adhezję leukocytów do komórek śródbłonna, uwalniając proteazy i metabolity kwasu arachidowego oraz aktywują powstawanie zakrzepów (przegląd: 25). Oddziaływanie cytokin powoduje zwiększenie wytwarzania cząstek adhezyjnych na powierzchni komórek śródbłonna oraz uwalnianie chemokin. Umożliwia to przyciąganie leukocytów do miejsca zapalenia. Ten korzystny efekt może ulec spaczeniu wówczas, kiedy produkty bakteryjne doprowadzają do nadmiernej jego aktywacji i leukocyty wędrują poza pierwotne miejsce, naciekając tkanki i powodując rekrutację następnych populacji leukocytów uszkodzających narządy. Jest to efekt niszczenia tkanek przez pobudzone neutrofile (24).

INF-alfa i IL-1 są wytwarzane przez liczne komórki, w tym monocyty, makrofagi, śródbłonkowe, mikroglej i astrocyty. TNF- poza aktywacją komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego hamuje kurczliwość komórek mięśnia sercowego z konsekwencjami z tego wynikającymi. U chorych z posocznica w plazmie wykrywa się wysokie wartości TNF- α (1).

Współdziałanie TNF- α , IFN- i IL-1 indukuje aktywność enzymów określaną wspólnym mianem jako syntaza tlenku azotu (NOS), a ten – ma działanie rozszerzające naczynia (18). W posocznicy/SIRS w moczu wykrywa się zwiększone stężenie związków azotowych, co może pośrednio wskazywać na zwiększoną syntezę NO (16). Wzmoczone wytwarzanie NO może być jednym z ważnych powodów hipotonii w przebiegu posocznicy.

Szczególne znaczenie w podtrzymywaniu zapalenia mają IL-6 i IL-8, czynniki chemotaktyczne leukocytów (14). Z kolei IL-10 ma własności kontrregulujące. Hamuje wytwarzanie TNF- α , nasila oddziaływanie czynników wyzwalanych w reakcji ostrej fazy oraz immunoglobulin, a także hamuje funkcje komórek T i makrofagów (6,21).

LPS oraz mediatory zapalenia wzmagają aktywność wytwarzania i uwalniania tromboksanu A oraz prostaglandyn poprzez aktywację cyklooksygenazy, natomiast leukotrie-

nów przez aktywację lipooksygenazy (2). O ile PG1 i PG2 (przedstawiciele prostaglandyn) poprawiają ukrwienie i hamują procesy krzepnięcia, o tyle tromboksan A i leukotrieny odgrywają istotną rolę w ostrej niewydolności oddechowej (ARD: *adult respiratory distress syndrome*). Cytokiny prozapalne oddziałując pobudzająco na makrofagi i neutrofile przyczyniają się także do wzmożenia fagocytozy. Granulocyty wykazują zwiększony metabolizm tlenowy, wytwarzają zwiększone ilości rodników tlenowych, przez co nasilają własności bójcze tych komórek. Nadmiar tych związków, z kolei, prowadzi do uszkodzenia tkanek, co jest istotą dysfunkcji wielonarządowej (23). Istotne jest tutaj toksyczne oddziaływanie na lipidy, które ulegają peroksydacji, co szczególnie odbija się na płynności błon komórkowych. Jest to proces typu lawinowego z powstawaniem toksycznych aldehydów oddziałujących daleko poza pierwotnym miejscem ich syntezy (24). Hipermetabolizm tlenowy jest zjawiskiem towarzyszącym posocznicy, przybierającym postać tzw. wybuchu tlenowego warunkowanego aktywnością układu oksydazy NADPH⁺ z powstawaniem zredukowanej formy tlenu, w postaci anionorodnika ponadtlenkowego (O₂). Pozwala to na powstawanie innych wysokoreaktywnych związków tlenu (24). W tabeli nr 1 przedstawiono mediatory posocznicy.

Tabela nr 1. Mediatory posocznicy

Mediator	Efekt
TNF- α	Indukcja IL-1, IL-6, IL-8, uwalnianie PAF, gorączka
IL-1	Gorączka; IL-6, IL-8: uwalnianie, migracja leukocytów
IL-6, IL-8	Neutrofile: chemotaksja i aktywacja, wzrost przepuszczalności naczyń
PAF (czynnik aktywacji płytek)	Aktywacja leukocytów, przepuszczalność naczyń, agregacja płytek, zmniejszenie kurczliwości mięśnia sercowego
Czynnik XII (Hagemana) i czynniki krzepnięcia	Krzepnięcie, fibrynoliza, aktywacja dopełniacza
Dopełniacz	Chemotaksja neutrofilii, przepuszczalność naczyń
Leukotrieny	Wzrost przepuszczalności naczyń, agregacja płytek, adhezja neutrofilii
Prostaglandyny	Wzrost przepuszczalności naczyń, gorączka
Tlenek azotu	Poszerzenie naczyń

Dopełniacz

Układ dopełniacza w zakażeniach odgrywa niezwykle ważną rolę przez bezpośrednie niszczenie drobnoustrojów (liza). Z kolei – opsonizacja ułatwia fagocytozę. Poza tym skutkiem aktywacji tego układu jest uwalnianie prozapalnych czynników C3a, C4a i C5a (anafilatoksyny). O ile droga klasyczna uaktywnienia dopełniacza wymaga obecności przeciwciał, o tyle droga alternatywna – nie. Jest więc wczesną linią obrony uruchomianą przez liczne drobnoustroje lub produkty bakteryjne i aktywowanych komórek niezależnie od przeciwciał. Na układ dopełniacza mają wpływ zaburzenia krzepnięcia (patrz niżej: DIC). Kaskada krzepnięcia uruchamia alternatywną drogę aktywizacji dopełniacza (oddziaływanie na komponent C3) poprzez plazminę. Jest to wielofunkcyjna proteaza o własnościach litycznych wobec skrzepów fibrynowych. Ten rodzaj aktywacji może jednak prowadzić także do nasilania kaskady dopełniacza i wzmagania efektu prozapalnego (wg: 17). Anafilatoksyny mają różne oddziaływanie prozapalne, w tym aktywację komórek tucznych i bazofilów z wyzwaniem histaminy, aktywacją i nasilaniem chemotaksji granulocytów obojętnochłonnych. Dochodzi do skurczu mięśni gładkich, wzrostu przepuszczalności naczyń i miejscowego uszkodzenia śródbłonna. Prowadzi to do zaburzeń dystrybucji płynów w obwodowym łożysku naczyniowym z konsekwencjami hemodynamicznymi (zmniejszenia objętości powrotu żylnego, spadek ciśnienia tętniczego krwi), w postaci wstrząsu.

Zakażenia szpitalne i posocznice

Rozsiane krzepnięcie śródnaczyniowe, (DIC)

DIC (*disseminated intravascular coagulation*) jest zespołem rozsianej aktywacji układu krzepnięcia, co powoduje powstawanie mnogich zakrzepów w mikrokrążeniu, a rzadziej w większych naczyniach. Powoduje to niedokrwienne uszkodzenie narządów i tkanek. Każdy drobnoustroj może wywołać to ciężkie zaburzenie krzepnięcia, jednakże najczęściej powodem są bakterie i to zarówno Gram-ujemne, jak i Gram-dodatnie (4). W posocznicy wywołanej przez bakterie Gram-ujemne DIC występuje w 30-50% przypadków (wg: 10). Kaskadę krzepnięcia uruchamiają drobnoustrojowe komponenty błony komórkowej (endotoksyny i egzotoksyny) poprzez uruchomienie wytwarzania cytokin. Kluczową rolę odgrywa IL-6; natomiast TFN- działa poprzez swój wpływ na IL-6 (11).

Uogólnione wytwarzanie fibryny jest rezultatem zwiększonego wytwarzania trombiny, jednoczesnego zahamowania mechanizmów inhibitorów krzepnięcia oraz przedłużenia procesu usuwania fibryny na skutek zaburzenia fibrynolizy. Powstawanie trombiny jest generowane przez czynnik tkankowy o bliżej nieznanym pochodzeniu i aktywację czynnika Vila (wg: 10). Zaburzenia procesu hamowania krzepnięcia polegają przede wszystkim na zmniejszeniu aktywności antytrombiny III spowodowane przez niekontrolowane wykrzepianie, degradację przez elastazę uwalnianą z aktywowanych neutrofilów oraz zaburzenia syntezy antytrombiny

III (wg: 10). Także inne czynniki, jak białko C oraz inhibitor czynnika tkankowego wykazują niedobór. Procesy fibrynolityczne są niewydolne na skutek wzrostu stężenia aktywatora plazminogenu typu I; aktywność fibrynolityczna jest nieproporcjonalnie obniżona w stosunku do ilości odkładającej się fibryny (wg: 10). Fibrynopeptydy powstające w trakcie DIC zwiększają przepuszczalność naczyń, co stanowi niezwykle ważny fragment obrazu zmian hemodynamicznych w posocznicy (wg: 17). Czynniki XII (Hagemana) uaktywniony przez LPS wzbudza system kininowy, co prowadzi do wytwarzania bradykininy, czynnika potencjalnie wzo- aktywnego. Bradykinina wywołuje wzrost przepuszczalności naczyń, skurcz mięśni gładkich i poszerzenie naczyń (wg: 17). Oddziałują niekorzystnie hemodynamicznie poszerzając łożysko naczyniowe. Wzrasta przepuszczalność naczyń i chemotaksja leukocytów.

(3-endorfiny (produkty przysadki mózgowej, w odpowiedzi na stres) uczestniczą w wywoływaniu niedociśnienia we wstrząsie septycznym poprzez oddziaływanie na funkcję mięśnia sercowego i rozszerzanie naczyń (wg: 17). Na ryc. nr 1. przedstawiono schematycznie podstawowe zjawiska doprowadzające do rozwoju DIC.



Ryc. nr 1. Schemat podstawowych zjawisk doprowadzających do rozsianego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego.

Niewydolność wielonarządowa

Proces rozwoju posocznicy jest dynamiczny: rozpoczyna się od zaburzeń naczyniowych (wzrost przepuszczalności naczyń, zmniejszenie obwodowego oporu naczyniowego, zmniejszenie utlenienia tkanek). W miarę pogłębiania się zaburzeń hemodynamicznych chronione są podstawowe funkcje ustrojowe, tj. czynność mózgu i serca poprzez faworyzowanie utlenowania tych narządów, co prowadzi do zubożenia w tlen innych obszarów tkankowych. Uszkodzenie tkanek staje się coraz bardziej rozległe i doprowadza do niewydolności wielonarządowej. Przyczyną jest niemożność zahamowania procesów zapalnych (13,17). Tabela nr 2 przedstawia stadia rozwoju posocznicy.

Ryc. nr 2. Fazy rozwoju posocznicy (wg Norris, 1999)**Początek odpowiedzi zapalnej**

Poszerzenie arterioli

Wzrost przepuszczalności naczyń

Przepływ elektrolitów i komórek do tkanek obwodowych

Wzrost łożyska żylnego

Zmniejszenie powrotu żylnego

Kompensacyjna**odpowiedź na zaburzenia hemodynamiczne**

Zmniejszenie efektywnej

objętości serca

Wzrost wyrzutu sercowego

Podtrzymywanie perfuzji

witalnych narządów: serce, mózg (zmniejszenie dopływu krwi do

tkanek obwodowych)

Utrzymująca się hipoperfuzja tkanek

Uszkodzenia z niedotlenienia: DIC i dalsze zmiany tkankowe

Wstrząs

Niewydolność wielonarządowa Śmierć

Na poziomie tkankowym niewydolność narządowa jest rezultatem niedotlenienia powodowanego ciężkimi zaburzeniami lokalnego mikrokrążenia; giną komórki. Ulegają dysfunkcji praktycznie wszystkie narządy (13,17). Ze względu na brak miejsca zmiany w poszczególnych narządach zostaną przedstawione w tabeli.

Tabela nr 3. Zmiany wielonarządowe w posocznicy (wg Lynn'a, 1999)

Narząd/Tkanka	Cechy kliniczno-patologiczne	Mechanizm
Naczynia obwodowe	Rozszerzenie naczyń Spadek ciśnienia Nieprawidłowe przepływy Koagulopatia (DIC) Depozyty fibrynowe	Śródbłonek: tlenek azotu Mięśnie gładkie: tlenek azotu Ekspresja czynnika tkankowego i aktywność prokoagulacyjna Migracja neutrofilii
Mięsień sercowy	Zmniejszenie kurczliwości mięśnia sercowego Zaburzenia rytmu	Upośledzenie pompy wapniowej Zaburzenia funkcji mięśni
Płuca	Ostra niewydolność oddechowa (ARD)	Wzrost przepuszczalności śródbłonna Aktywacja/migracja neutrofilii
Nerki	Ostra martwica cewkowa	Hipoperfuzja nerek
Wątroba	Martwica strefowa, niewydolność	Hipoperfuzja Kwasica
Jelito	Przerwanie ciągłości nabłonka	Hipoperfuzja Kwasica
Mózg	Encefalopatia	Hipoperfuzja Kwasica

Zakażenia szpitalne i posocznice

Czynniki zależne od gospodarza

Istotne znaczenie ma pierwotny stan chorego w zakresie jego wydolności w opanowaniu zakażenia. Jeżeli u chorego występowały zaburzenia syntezy przeciwciał jest on szczególnie podatny na zakażenia drobnoustrojami otoczkowymi (np. *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*). Pacjenci neutropeniczni są bardzo wrażliwi na zakażenia wywołane przez bakterie Gram-ujemne i grzyby, jak *Aspergillus sp.* i *Candida sp.* W zaburzeniach odporności wywołanych dysfunkcją lub niedoborem odporności zależnej od komórek T wstępują zakażenia drobnoustrojami pasożytującymi wewnątrzkomórkowo (*Mycobacterium sp.*, wirusy).

Najważniejsze wnioski terapeutyczne wynikające z patogenezy

Najistotniejsze kierunki postępowania to: 1) leczenie zakażenia; 2) zapewnienie właściwej perfuzji krwi narządom; 3) podtrzymywanie utlenienia tkanek i 4) zapobieganie powikłaniom. W tym miejscu pomijam problem antybiotykoterapii. Oczywiście jest także dążenie do usunięcia, jeżeli to możliwe, ogniska rozsiewu drobnoustrojów. Leczenie pacjenta w OIOM może mieć wpływ na szanse przeżycia; 70% versus 39% w jednym z doniesień (12). Nie jest zalecany ani dekstran, albuminy i immunoglobuliny. Nadmierne stosowanie wlewów dożylnych krystaloidów może grozić przewodnieniem i ARDS. Preparaty o działaniu intropowo-presyjnym są wskazane, jeżeli uzupełnianie płynów jest nieskuteczne. We wstrząsie podawanie tlenu i wentylacja mechaniczna są najczęściej niezbędne. W razie wystąpienia DIC-u stosuje się świeże mrożone osocze lub krioprecypitat w celu uzupełnienia niedoboru czynników krzepnięcia. Wymaga to jednak precyzyjnej oceny rzeczywistych potrzeb chorego a nie rutynowego stosowania. Podawanie heparyny jest kontrowersyjne. Inhibitory trombiny niezależne od antytrombiny-III (desirudin) nie zostały ostatecznie ocenione. Leczenie antyfibrynolityczne nie jest rekomendowane (11).

Aktualnie są prowadzone badania nad nowymi metodami leczenia posocznicy. Jest to rozwijająca się dziedzina obejmująca wiele możliwości, z których część jest w trakcie realizacji, najczęściej dość odległej od praktycznego zastosowania. Dotyczy to następujących bloków tematycznych (wg: 5):

1. czynniki neutralizujące endotoksynę (np. przeciwciała monoklonalne w tym przeciwciała monoklonalne, blokowanie receptorów komórkowych dla LPS (np. lipid A));
2. czynniki neutralizujące mediatory reakcji zapalnej (np. przeciwciało anti-TFN-, rekombinowany inhibitor tej cytokiny), czynniki neutralizujące aktywność IL-1, IL-10.

Podkreśla się, że ze względu na skomplikowane zależności w sieci cytokinowej niezbędne jest indywidualne analizowanie pacjenta w celu określenia jego statusu pod tym względem i ewentualnego stosowania odpowiednich inhibitorów lub aktywatorów (27). **Nadal** wysoka śmiertelność w posocznicy pozostaje wyzwaniem dla specjalistów różnych dziedzin. Jest to choroba interdyscyplinarna.

Piśmiennictwo:

1. Billiar A, Vandekerckhove F: J Clin Invest 1991, 21, 559.
2. Bone RC: Crit Care Med 1992, 20, 884.
3. Bone RC, Balk RA, Cerra FB I wsp.: Chest 1992, 101, 1644.
4. Bone RC: Arch. Intern. Med. 1994, 154, 26.
5. Cedzyński M, Świerzek AS, Kaca W, w: Zapalenie, patofizjologia i klinika, red. H. Tchorzewski, Medpress, Warszawa, 1998, str. 232.
6. Chernoff AE, Granowitz EV, Shapiro L I wsp.: J Immunol 1995, 154, 5492.
7. Christman JW, Wheeler AP, Bernard GR: J Intensive Care 1991, 6, 172.
8. Cohen J, Heumann D, Glauser MP: Am J Med 1995, 99, 6A-45S.

9. Fenton MJ, Golenbock DT: J Leukoc Biol 1998, 64,25.
10. Levi M, Cate HAT: N Engl J Med 1999, 341, 586
11. Levi M, van der Poll, ten Cate H, Deventer SJH: Eur J Clin Invest 1997, 27, 3
12. Lundberg JS, Perl TM, Wiblin T I wsp.: m Crit Care Med 1998, 26, 1020.
13. Lynn WA: Sepsis, w: Infectious Diseases, red. D.Armstrong I J.Cohen, Mosby, London, etc., 1999, vol. 1, sec. 2, 47.1—17.13.
14. Marty C, Misset B, Tamion F I wsp.: Crit Care Med. 1994, 22, 673.
15. Mihie HR, Manogue KR, Spriggs DR I wsp.: N Engl J Med 1988, 318, 1481.
16. Moncada S, Palmer RMJ, Higgs EA: Pharmacol Rev 1991, 43, 109.
17. Norris KA, w: Microbial pathogenesis, red. BA McClane, TA Mietzner, Dowling JN, Phillips BA, Fence Creek, Madison, Connecticut, 1999, str. 327.
18. Nussler AK DiSilvo M, Billiar TR I wsp.: J Exp Med 1992, 176, 261.
19. Pugin J, Ulevitch RJ, Tobias PS: Prog Clin Biol Res 1995, 392, 369.
20. Raetz CRH, Ulevitch RJ, Wright SD i wsp.: FASEB J 1991, 5, 2652.
21. Schindler R, Mancilla J, Endres s I wsp.: Blood 1990, 75, 40 22.Sriskandan S, Cohen J: J Infect 1995, 30,201.
23. Vlessis AA, Goldman RK, Trunkey DD: Br J Surg 1995, 82, 870.
24. Weiss SJ: N Engl J Med 1989, 320, 365.
25. Wheeler AP, Bernard GR: N Engl J Med 1999, 340, 207.
26. Wright SD, Ramos RA, Tobias PS i wsp.: Science 1990, 249, 1431.
27. Zanetti G, GlauserM-P: Curr Opinion Infect Dis 1997, 10,139

Monitorowanie bakteriologiczne posocznicy

Alfred Samet, Jolanta Komarnicka, Marek Bronk

Zakład Bakteriologii Klinicznej, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 1 AM w Gdańsku

Pomimo znacznego postępu wiedzy medycznej posocznica jest jednym z najciężej przebiegających i najtrudniejszych do leczenia ostrych zakażeń bakteryjnych. Stanowi ona 8–10% wszystkich zakażeń szpitalnych i jest przyczyną ok. 40% związanych z nimi zgonów. W USA septicemia jest na trzynastej pozycji wśród wszystkich najczęstszych przyczyn śmierci (4).

Posocznica jest definiowana jako ogólnoustrojowa reakcja organizmu na zakażenie (2). Punktem wyjścia mogą być: zapalenie płuc, ciężkie zakażenia dróg moczowych, zakażone linie dożylnie, różnego typu ogniska ropne, głównie w obrębie jamy brzusznej a u chorych z upośledzoną odpornością nawet bakterie pochodzące z nieuszkodzonych jelit. Z tych źródeł dostają się do krwioobiegu zarówno same drobnoustroje jak i ich toksyny. W reakcji na zakażenie następuje zwiększenie wytwarzania wielu mediatorów zapalnych, których nadmiar przyczynia się do uszkodzenia narządów (5). Obecnie uważa się, że obok endotoksyn bakteryjnych jest to jeden z głównych czynników powodujących niewydolność wielonarządową.

Posocznicy niezależnie od punktu wyjścia towarzyszy zakażenie łożyska krwionośnego. Jediną metodą służącą do wykrycia tego jest posiew krwi. Jednak dodatnie posiewy krwi udaje się uzyskać tylko u 45–80% chorych. W ciągu ostatnich dwóch dekad wdrożono wiele udoskonaleń w technologii posiewów krwi. Te udoskonolenia skróciły czas wykrycia i identyfikacji mikroorganizmu będącego przyczyną zakażenia łożyska krwionośnego.

Jeśli chodzi o przebieg to możemy podzielić bakteriemie na chwilowe, przerywane i ciągle (4). Chwilowe infekcje łożyska krwionośnego najczęściej następują po mechanicznej lub chirurgicznej manipulacji na tkance zakażonej. Może ona również występować podczas rutynowych codziennych działań, takich jak mycie zębów.

Przerywane bakteriemie są obserwowane w przypadku niezdrenowanego ropnia lub towarzyszą zlokalizowanym innym infekcjom, np. zapaleniu płuc, zakażeniu układu moczowego i centralnego układu nerwowego. Bakteriemie ciągle są obserwowane w przypadku infekcji wewnątrznaczyniowych takich jak infekcyjne zapalenie wsierdza, septyczne zakrzepowe zapalenie żył.

W przypadku zakażeń szpitalnych przebieg bakteriemii jest bardziej skomplikowany. Podzieliliśmy je na cztery grupy: bakteriemie mieszane, naprzemiennie, bakteriemie wywołane przez rzadko spotykane drobnoustroje np. *Flavobacterium meningosepticum*, *Achromobacter sp.*, *Candida lambica* i bakteriemie długo utrzymujące się mimo leczenia celowanego zgodnie z antybiogramem (8). Bakteriemie naprzemiennie, to takie gdy w kolejnych posiewach krwi izoluje się na przemian różne drobnoustroje.

Bakteriemie mieszane wywoływane są przez więcej niż jeden rodzaj bakterii izolowanych jednocześnie z posiewów krwi. Występują one u pacjentów zakażonych przez różne wielooporne szczepy szpitalne. Punkt wyjścia tych bakteriemii może być zlokalizowany w jednym miejscu (np. duże powierzchnie oparzone, ropnie j. brzusznej o mieszanej etiologii), może też być ich kilka, np. wysiew bakterii ze zmian ropnych i zakażonego cewnika. Takie zakażenia występują zwykle u najcięższych pacjentów i często kończą się niepomyślnie.

Jeśli infekcja łożyska krwionośnego jest zidentyfikowana, zazwyczaj nie jest konieczne powtórzenie posiewu krwi po rozpoczęciu leczenia. Jednak jest wiele sytuacji klinicznych, w których te posiewy trzeba wielokrotnie powtarzać. Obecnie posocznica wywołana przez jeden drobnoustrój jest coraz rzadziej spotykana. Na oddziałach intensywnej opieki medycznej, hematologicznych, gdzie najczęściej stosuje się nowoczesne procedury medyczne monobakteriemie stanowią mniejszość, przeważają natomiast zakażenia nietypowe, o bardziej skomplikowanym przebiegu.

Aby wykryć te wszystkie rodzaje zakażeń niezbędne jest monitorowanie łożyska krwionośnego poprzez regularne posiewy krwi. Czas pobierania posiewów i ilość próbek jest zależna od wielu czynników. Wskazówki są różne i nie są standaryzowane. Pacjenci przyjmowani do szpitala z podejrzeniem zakażenia w jakimkolwiek miejscu powinni mieć pobrane posiewy krwi jako część ich wstępnego zestawu badań. Niektóre znaki i objawy pobudzają lekarza do zalecenia posiewów krwi. Gorączka, częsta oznaka infekcji wewnątrznaczyniowej, jest najbardziej powszechną przyczyną i wskazówką do wykonania posiewów. Jednakże gorączka może nie być obecna u wszystkich pacjentów z zakażeniem łożyska krwionośnego. Starsi chorzy podczas epizodu bakteriemii mogą nie gorączkować lub demonstrować niewielki wzrost temperatury. Zmiana stanu umysłowego może być jedyną oznaką infekcji wewnątrznaczyniowej. Także niedociśnienie może być manifestacją inwazji drobnoustrojów do łożyska krwionośnego, szczególnie jeśli nie ma innego wytłumaczenia obniżenia ciśnienia krwi.

Przyjmuje się, że u osób dorosłych, aby wyizolować czynnik etiologiczny posocznicy należy wykonać 4–6 posiewów krwi na dobę.

Optymalnym czasem pobrania próbek jest moment gdy liczba mikroorganizmów w łożysku naczyniowym jest duża. Większość klinicystów zaleca pobranie na szczycie gorączki. Nie wydaje się to jednak właściwe ze względu na patomechanizm zakażenia. W następstwie bakteriemii następuje zwiększenie syntezy cytokin, co wyprzedza wzrost temperatury o około 30–90 minut. Dlatego krew pobrana godzinę przed szczytem temperatury zawiera największą liczbę bakterii. W momencie wystąpienia gorączki ilość bakterii znacznie się zmniejsza i wynik posiewu może być ujemny. Ponieważ bardzo trudno jest wyko-

nać posiewy przed szczytem gorączki, zaleca się śledzenie jej przebiegu. Optymalne jest mierzenie temperatury co pół godziny i pobieranie krwi w momencie, gdy zaczyna ona narastać. W naszym Zakładzie zalecamy oprócz tego posiew na szczycie temperatury i po 45 min., w momencie spadku. Jeśli takie postępowanie jest niemożliwe proponujemy 3–4 posiewy w ciągu doby, niezależnie od gorączki. W niektórych badaniach klinicznych wykazano, że ponad 80% (9), a nawet do 99% (10) epizodów bakteriemii może być wykryte przy pierwszych dwóch pobraniach krwi. Jednak np. w sytuacji, gdy podejrzewamy zapalenie wsierdza pobieranie krwi na posiew co kilka godzin może udowodnić ciągle zainfekowanie łożyska krwionośnego, dlatego zalecane jest w tym przypadku minimum 6 posiewów krwi.

Aronson i Bor (1) uważają, że przy ustalaniu optymalnej liczby posiewów krwi należy kierować się następującymi wyznacznikami:

- jeden posiew krwi nie jest nigdy wystarczający do potwierdzenia lub wykluczenia bakteriemii dwa posiewy krwi są konieczne i wystarczające do potwierdzenia lub wykluczenia bakteriemii jeśli wyhodowany drobnoustrój nie jest typowym nadkażeniem, a prawdopodobieństwo bakteriemii jest średnie lub niskie (infekcje wewnętrzbrzusne, zapalenia płuc, infekcje dróg moczowych).
- trzy posiewy krwi (wysoka czułość), należy wykonać aby wykluczyć bakterię gdy prawdopodobieństwo jest wysokie lub istnieje podejrzenie bakteriemii ciągłej (zakażenia wewnątrznaczyniowe)
- cztery posiewy krwi są konieczne jeśli prawdopodobieństwo bakteriemii jest wysokie, a jednocześnie spodziewany patogen należy do typowych czynników nadkażających (np. zapalenie wsierdza po wszczepieniu sztucznych zastawek) lub gdy pacjent z podejrzeniem zapalenia wsierdza był uprzednio leczony antybiotykiem.

Co do ilości krwi niezbędnej do wykrycia patogenu to zaleca się pobranie 10–30 ml za każdym razem. Mniejszą objętość można pobrać u dzieci, u których większe jest nasilenie bakteriemii. Zalecane ilości to 1–2 ml u noworodków, 2–3 ml u niemowląt i 3–5 ml u starszych dzieci. Optymalny stosunek ilości pobranej krwi do podłoża nie jest jednoznacznie określony (proponowane wartości to 1: 5 do 1: 10).

Trudna klinicznie sytuacja powstaje wtedy, gdy pacjent już jest leczony antybiotykami i rozwija nową gorączkę lub inne oznaki infekcji. Nie jest to do końca sprecyzowane kiedy najlepiej pobierać krew na posiew takich przypadkach, ale właściwe wydaje się pobieranie krwi na posiew wówczas, gdy stężenie antybiotyku w surowicy jest najmniejsze (przed podaniem następnej dawki leku).

Powyższe zalecenia można stosować jedynie wtedy, kiedy dysponuje się profesjonalnym laboratorium mikrobiologicznym dyżurującym całą dobę. Optymalne jest posiadanie automatycznego systemu do posiewów krwi, który umożliwia ciągle monitorowanie posiewu krwi i natychmiastową detekcję wzrostu. U pacjentów w trakcie antybiotykoterapii wskazane jest zastosowanie podłoży z inaktywatorami antybiotyków. Przydatne są też systemy umożliwiające lizę leukocytów, ale jedynie wtedy gdy nie doszło do zabicia wewnątrzkomórkowego sfagocytowanych drobnoustrojów.

Właściwe monitorowanie pacjenta z posocznicą wymaga oprócz posiewów krwi wykonania także innych badań bakteriologicznych w celu poszukiwania punktu wyjścia infekcji. Niezależnie od objawów klinicznych zalecane jest badanie kolonizacji jamy nosowo-gardłowej, posiewy moczu, a u chorych z głębokimi defektami immunologicznymi także posiewy kału.

Poza tym konieczne jest wykonanie innych posiewów, zależnie od punktu wyjścia infekcji (aspiraty z dróg oddechowych, z ran operacyjnych, wymazy z dróg rodnych, płyn mózgowo-rdzeniowy itp.).

Najczęściej źródłem posocznicy są infekcje dróg oddechowych, zakażenia wewnętrzbrzusne i zakażenia układu moczowego. W Tabeli 1 przedstawiliśmy przykładowe dane dotyczące punktu wyjścia posocznicy u 197 pacjentów OIOM (wg.W.J. Reyes i wsp.)(5).

Zakażenia szpitalne i posocznice

Tabela 1.

Punkt wyjścia infekcji*	Liczba
Płuca	86 (38%)
Jama brzuszna	75 (33%)
Układ moczowy	13 (6%)
Kateter	8 (3%)
Krew (bez innych materiałów)	7 (3%)
Skóra	6 (3%)
Śródpiersie	5 (2%)
Inne	16 (7%)
Ogółem	216

*u niektórych pacjentów stwierdzono więcej niż jedno źródło infekcji

Czasami klinicznie rozpoznawanego zakażenia nie można udokumentować ani w posiewach krwi ani w innych badaniach bakteriologicznych. W niektórych jednostkach chorobowych jak np. zapalenie zatok, zapalenie uchyłków jelit, zapalenie pęcherzyka żółciowego niesłyszanie trudno jest ustalić czynnik etiologiczny.

Niekiedy zakażenie jest wywoływane przez drobnoustroj, nie wykrywany w rutynowo wykonywanych posiewach (np. prątki gruźlicy, mykoplazmy, chlamydie, pierwotniaki, wirusy). Niemożność wyhodowania patogenu może wynikać także z wcześniejszej antybiotykoterapii. Dlatego monitorowanie bakteriologiczne infekcji należy zacząć jak najwcześniej, uwzględniając najbardziej prawdopodobne czynniki etiologiczne i kontynuować je w czasie leczenia.

Bez bieżącej znajomości wyników badań bakteriologicznych niemożliwa jest celowana antybiotykoterapia.

Piśmiennictwo

1. Aronson M.D., Bor D.H., Ann Int Med, 1987. 106: 246-53
2. „Definition for Sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis1992. Crit. Care Med. 20(6) 864-874.
3. Modzelewski B., 1992: Anest. Inten. Ter. 24: 193-198.
4. Mylotte J.M., Tayara A., 2000. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 19: 157-163.
5. Przesmycki K. i wsp. „Antybiotykoterapia chorych z posocznica i zespołem uszkodzenia wielonarządowego”, 1996. Wydawnictwo FOLIUM.
6. Reyes W.J., Brimiouille S, Vincent J.-L., 1999. Intensive Care Med 25: 1267-1270
7. Samet A., Komarnicka J., Nalewajska J., Bronk M., Śledzińska A., Stachowiak M. 1997 Klin. Chor. Zakaż, i Zak. Szpitalne, 1/2: 57-61.
8. Samet A., Komarnicka J., Padzik O., Bronk M., 1998. Nowa Medycyna 11: 25-28.
9. Washington J.A., 1975. Mayo Clinic Proceedings, 50: 91-8
10. Weinstein M.P., 1996. Clin Infect Dis, 23: 40-6

Szpitalne szczepy endemiczne i ich wrażliwość na preparaty antyseptyczne

A. Śledzińska¹, K. Giżyński¹, M. Bronk¹, A. Samet¹, J. Kur²

1. Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny nr w Gdańsku, Zakład Bakteriologii Klinicznej

2. Politechnika Gdańska, Zakład Mikrobiologii

WSTĘP

Zakażenia szpitalne są jednym z ważnych problemów w szpitalnictwie, prowadzącym do zwiększenia kosztów leczenia, przedłużenia czasu pobytu pacjenta w szpitalu, a także zwiększonej śmiertelności. O ich wadze świadczy fakt, że zostały uznane za podstawowy parametr jakości usług świadczonych w szpitalach. Jednym z podstawowych elementów kontroli zakażeń szpitalnych jest antyseptyka, zapobiegająca szerzeniu się endemicznych szczepów szpitalnych. Podstawowym wektorem transmisji zakażeń szpitalnych są ręce. Związku z tym niezmiernie ważne jest przestrzeganie procedur mycia rąk oraz używanie odpowiednich środków antyseptycznych, także do usuwania nosicielstwa w innych częściach i odkażania zainfekowanych już powierzchni ciała. W doborze środków antyseptycznych ważnym parametrem jest szerokie spektrum aktywności obejmujące wiele grup drobnoustrojów, ale także czas pozostawiania na powierzchni skóry czy śluzówek, co łączy się z przedłużeniem czasu działania środka, i w związku z tym skuteczniejszą antyseptyką. By uzyskać preparat cechujący się obydwoma powyższymi właściwościami łączy się różne antyseptyków. Zwraca się co raz większą uwagę zabiegi antyseptyczne w związku szerzeniem się infekcji wywołanych przez wielooporne szczepy szpitalne, dla których istnieją ograniczone opcje terapeutyczne lub ich brak, jako, że powstają warianty bakterii opornych na wszystkie dostępne antybiotyki, np., imipenem-oporne szczepy *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, wankomycyno-oporne enterokoki. Sytuacja ta wiąże się ze zwiększeniem częstości niepowodzeń terapeutycznych oraz ze znacznym wzrostem kosztów leczenia.

BAKTERYJNA OPORNOŚĆ NA ŚRODKI ANTYSEPTYCZNE

Oporność bakteryjna na środki antyseptyczne i dezynfekujące może być naturalną właściwością organizmu lub może zostać nabyta w wyniku mutacji, nabycia plazmidu lub transpozonów. Mechanizmy oporności to: zmiana struktury powłok otaczających komórkę, produkcja enzymów modyfikujących oraz wypompowywanie związku z komórki. Stopień powstawania oporności na środki antyseptyczne jest mniejsze niż na antybiotyki, co jest spowodowane tym, że środki antyseptyczne są stosowane w wysokich stężeniach oraz jest spowodowane tym, że mechanizm działania polega na powodowaniu istotnych zmian struktury i metabolizmu komórki, podczas gdy antybiotyki są podawane w małych dawkach, a ich działanie jest wybiórcze – na niektóre procesy życiowe drobnoustroju.

Naturalne mechanizmy oporności na środki antyseptyczne

Cząsteczki środków dezynfekujących czy antyseptycznych by osiągnąć miejsce docelowego działania w komórce muszą przejść przez powłoki zewnętrzne bakterii. W zależności od struktury oraz składu tych warstw działalność środków dezynfekujących i antyseptycznych jest zróżnicowana. Mogą one być także degradowane przez konstytutywnie produkowane enzymy. Gram-ujemne bakterie są bardziej odporne od Gram-dodatnich. Przykłady minimalnych stężeń hamujących środków dezynfekcyjnych i antyseptycznych bakterie Gram-ujemne i Gram-dodatnie są podane w tabeli 1.

Zakażenia szpitalne i posocznice

Tabela 1. Wartości MIC niektórych środków dezynfekujących oraz antyseptycznych dla wybranych bakterii Gram-ujemnych oraz Gram-dodatnich (3,5)

Związek chemiczny	MIC ($\mu\text{g/ml}$)		
	<i>S.aureus</i> ^b	<i>E.coli</i>	<i>P.aeruginosa</i>
Chlorek benzalkoniowy	0,5	50	250
Chlorhexydyna	0,5-1	1	5-60
Hexachlorofen	0,5	12,5	250
Fenol	2000	2000	2000
o-Fenylofenol	100	500	1000
Triklosan	0,1	5	>300

^b - wartości MIC środków kationowych dla szczepów MRSA mogą być wyższe

Oporność bakterii Gram-dodatnich

Sciana komórkowa gronkowców złożona jest głównie z peptydoglikanu oraz kwasu teichoicznego i nie stanowi ona skutecznej bariery ochronnej na antyseptyki oraz środki dezynfekujące. W naturze istnieją gronkowce wytwarzające warstwę śluzu co zwiększa ich oporność na chloroksyfenol, cetrymidę, chlorheksydynę, ale nie na fenole. Usunięcie otoczki śluzowej przywraca im zwykłą wrażliwość. Enterokoki są mniej wrażliwe na działanie środków biobójczych, niż gronkowce. Nie ma dowodu, że wielooporne szczepy *Enterococcus sp.* są bardziej odporne na działanie środków odkażających niż szczepy wielowrażliwe. (2, 6)

Oporność na środki dezynfekcyjne oraz antyseptyczne może wiązać się z występowaniem plazmidów. Oporność kodowana plazmidowo na środki dezynfekcyjne oraz antyseptyczne jest najlepiej poznana na związki rtęci, srebra, inne kationy i aniony. Obecność plazmidów na współczesne środki antyseptyczne i dezynfekcyjne może łączyć się ze zwiększoną opornością lub tolerancją na chlorhexydynę, IV-rzędowe związki aminiowe, triklosan, diamidyny, akrydyny, bromek etydy. Podwyższony poziom oporności na środki dezynfekcyjne i antyseptyki jest widoczny u opornych na antybiotyki szczepów *S.aureus*. Zaobserwowano, że szczepy *S.aureus* odporne na gentamycynę są mniej wrażliwe na chlorheksydynę, diamidyny, IV-rzędowe związki aminiowe, akrydyny, bromek etydy. Wykazano także korelację między opornością na oksacylinę a zwiększonym poziomem oporności na IV-rzędowe związki aminiowe, chlorheksydynę, chlorek benzalkoniowy czy akryflawiny (4).

W zakażeniach, szczególnie u pacjentów z obniżoną odpornością mogą brać udział bakterie z rodzaju *Corynebacterium*. Stwierdzono, że *Corynebacterium jeikeum*, które charakteryzują się wieloopornością na antybiotyki, toleruje także w większym stopniu środki antyseptyczne. Próbowano ustalić korelację pomiędzy genotypami szczepów wieloopornych a wrażliwością na środki antyseptyczne, lecz takiego związku nie stwierdzono. (5)

Oporność bakterii Gram-ujemnych

Gram-ujemne bakterie są generalnie bardziej odporne na środki dezynfekcyjne oraz antyseptyczne niż nieprzetrwalikujące bakterie Gram-dodatnie (6). Błona zewnętrzna bakterii Gram-ujemnych działa jako bariera chroniąca komórkę bakteryjną przed wieloma środkami przeciwbakteryjnymi.

Bakterie Gram-ujemne o wysokim poziomie oporności na środki dezynfekujące oraz antyseptyczne to: *P. aeruginosa*, *B. cepacia*, *Proteus sp.*, and *P. stuartii* (6). Za wysoką oporność *P.aeruginosa* jest odpowiedzialna błona zewnętrzna. W porównaniu z innymi organizmami

Szpitalne szczepy endemiczne i ich wrażliwość na preparaty antyseptyczne

obserwuje się różnice w składzie LPS oraz w zawartości kationów w błonie zewnętrznej. Wysokie stężenie Mg^{2+} pomaga w tworzeniu silnych wiązań w obrębie lipopolisacharydu, co prowadzi do powstawania bardzo wąskich kanałów porynowych i niskiej przepuszczalności błony. U B. cepacia występowanie wysokiej zawartości arabinozy powiązanej resztami siarczanowymi prowadzi do zmniejszenia się powinowactwa błony zewnętrznej do substancji o charakterze kationowym. Bakterie z rodzaju Proteus są niewrażliwe na chlorheksydyne i mogą wykazywać oporność na inne grupy związków, co może się wiązać z typem ich ściany komórkowej, charakteryzującej się mniej kwasowym charakterem błony zewnętrznej. Niewiele jest wiadomo na temat znaczenia plazmidów w powstawaniu oporności na środki dezynfekcyjne oraz antyseptyczne, natomiast stwierdzono wpływ występowanie selekcji opornych mutantów na skutek długotrwałego kontaktu z tymi substancjami.

Stężenie środków antyseptycznych i dezynfekcyjnych a oporność bakteryjna

Powyższe paragrafy dostarczyły przykładów na możliwość nabywania oporności lub tolerancji na środki antyseptyczne i dezynfekujące. Jednakże są to niskie poziomy oporności czy tolerancji, stanowiące kilkukrotny wzrost wartości MIC. Jednakże możliwość niepowodzenia klinicznego związanego ze wzrostem wartości MIC jest mało prawdopodobna z dwóch przyczyn: (i) stężenia substancji antyseptycznych i dezynfekujących w rutynowo stosowanych preparatach przewyższają wartości MIC kilkaset i więcej razy; (ii) łączy się różne grupy środków antyseptycznych, np. glukonian chlorheksydy jest używany w postaci 0,5% roztworu w 70% alkoholu lub jako 0,75, 2, lub 4% dodatek do mydła.

DOŚWIADCZENIA WŁASNE

Przeprowadzono badanie skuteczności bakteryjnej preparatów

- (1) Betadine (10% preparat gotowy do użycia, firma EGIS PHARMACEUTICALS LTD. BUDAPEST, HUNGARY
- (2) Chlorhexidinum gluconicum (roztwór 20%) produkcji firmy Polfa Łódź
- (3) Octenisept, firma S & M (wobec metycylino-opornych szczepów gronkowców złocistych (MRSA)

WYNIKI

Wyniki badań preparatów Betadine oraz Chlorhexidinum gluconicum przedstawiają Stosowane oznaczenia N1 - liczba badanych izolatów N2 - liczba izolatów zabitych D.B. (+) - pełne działanie bakteriobójcze wobec wszystkich badanych izolatów D.B. (-) - brak pełnego działania bakteriobójczego wobec wszystkich badanych izolatów

Tabela 1. Działanie preparatu Betadine na szpitalne szczepy *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
10%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
1,0%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,5%	15	15	+	15	15	+	15	15	+

Zakażenia szpitalne i posocznice

Tabela 2. Działanie preparatu Chlorhexidinum gluconicum na szczepy *Staphylococcus aureus* (MRSA)

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
0,5%	15	0	-	15	0	-	15	0	-
0,05%	15	0	-	15	0	-	15	0	-
0,02%	15	0	-	15	0	-	15	0	-

Tabela 3 Działanie preparatu Betadine na szpitalne szczepy *Enterococcus faecalis*

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
10%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
1,0%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,5%	15	14	-	15	15	+	15	15	+

Tabela 4. Działanie preparatu Chlorhexidinum gluconicum na szpitalne szczepy *Enterococcus faecalis*

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
0,5%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,05%	15	3	-	15	5	-	15	8	-
0,02%	15	0	-	15	1	-	15	1	-

Tabela 5. Działanie preparatu Betadine na szpitalne szczepy *Enterococcus faecium*

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
10%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
1,0%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,5%	15	12	+	15	14	+	15	15	+

Tabela 6. Działanie preparatu Chlorhexidinum gluconicum na szpitalne szczepy *Enterococcus faecium*

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
0,5%	15	14	-	15	15	+	15	15	+
0,05%	15	2	-	15	3	-	15	5	-
0,02%	15	0	-	15	0	-	15	0	-

Szpitalne szczepy endemiczne i ich wrażliwość na preparaty antyseptyczne

Tabela 7. Działanie preparatu Betadine na szpitalne szczepy *Pseudomonas aeruginosa*

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
10%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
1,0%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,5%	15	14	-	15	15	+	15	15	+

Tabela 8. Działanie preparatu Chlorhexidinum gluconicum na szpitalne szczepy *Pseudomonas aeruginosa*

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
0,5%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,05%	15	15	-	15	15	+	15	15	+
0,02%	15	4	-	15	3	-	15	3	-

Tabela 9. Działanie preparatu Chlorhexidinum gluconicum na szpitalne szczepy *Acinetobacter baumannii*

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
10%	15	13	-	15	15	-	15	15	-
1,0%	15	3	-	15	8	-	15	8	-
0,5%	15	0	-	15	0	-	15	0	-

Tabela 10. Działanie preparatu Betadine na szpitalne szczepy *Acinetobacter baumannii*

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
0,5%	15	13	-	15	15	-	15	15	-
0,05%	15	3	-	15	8	-	15	8	-
0,02%	15	0	-	15	0	-	15	0	-

Tabela 11. Działanie preparatu Betadine na szpitalne szczepy *Enterobacter cloacae*

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
10%	15	13	+	15	15	+	15	15	+
1,0%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,5%	15	12	-	15	15	+	15	15	-

Zakażenia szpitalne i posocznice

Tabela 12. Działanie preparatu Chlorhexidinum gluconicum na szpitalne szczepy *Enterobacter cloacae*

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
0,5%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,05%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,02%	15	0	-	15	2	-	15	6	-

Tabela 13. Działanie preparatu Betadine na szpitalne szczepy *Klebsiella pneumoniae* ESBL (+)

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
10%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
1,0%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,5%	15	15	+	15	1	+	15	15	+

Tabela 14. Działanie preparatu Chlorhexidinum gluconicum na szpitalne szczepy *Klebsiella pneumoniae* ESBL (+)

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
0,5%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,05%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,02%	15	3	-	15	1	-	15	15	-

Tabela 16. Działanie preparatu Betadine na szpitalne szczepy *E.coli*

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
10%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
1,0%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,5%	15	15	+	15	15	+	15	15	+

Tabela 18. Działanie preparatu Chlorhexidinum gluconicum na szpitalne szczepy *E.coli*

Stężenie preparatu	Czas działania								
	1 min.			2 min.			5 min		
	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.	N1	N2	D.B.
0,5%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,05%	15	15	+	15	15	+	15	15	+
0,02%	15	15	-	15	15	-	15	15	-

Wyniki dla preparatu OCTANISEPT

Tabela 1. Wyniki szczegółowe badania działania preparatu bakteriobójczego różnych stężeń preparatu

Stężenie/Czas w min.	100%		50%		25%		10%		5%	
	N1	N2	N1	N2	N1	N2	N1	N2	N1	N2
0,5 min.	30	30	30	30	30	6	30	0	30	0
1,0 min.	30	30	30	30	30	21	30	0	30	0
2,0 min.	30	30	30	30	30	30	30	18	30	3
5,0 min.	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
10,0 min.	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30
15,0 min.	30	30	30	30	30	30	30	30	30	30

Tabela 2 Wyniki zbiorcze działania bakteriobójczego różnych stężeń preparatu OCTANISEPT

Stężenie/Czas w min.	100%	50%	25%	10%	5%
0,5 min.	+	+	-	-	-
1,0 min.	+	+	-	-	-
2,0 min.	+	+	-	-	-
5,0 min.	+	+	+	+	+
10,0 min.	+	+	+	+	+
15,0 min.	+	+	+	+	+

WNIOSKI

PREPARAT BETADINE I CHLOREXIDINUM GLUCONIUM

Preparat Betadine w stężeniu 10% i 1% w czasie 1 min. działania działał bakteriobójczo na wszystkie badane szczepy szpitalne należące do gatunków: *Staphylococcus aureus* (MRSA), *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* (ESBL), *Escherichia coli*. Podobny efekt przy stężeniu 0,5% uzyskano po 2 minutach działania.

Preparat Chlorexidinum gluconicum w stężeniach 0,5% (stężenie robocze) nie działa bakteriobójczo na szczepy *Staphylococcus aureus* MRSA nawet po 5 minutach. Natomiast szczepy należące do gatunków *Enterococcus faecalis*, *Enterococcus faecium*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter cloacae*, *Serratia marcescens*, *Klebsiella pneumoniae* (ESBL), *Escherichia coli* były wrażliwe na stężenie 0,5% i zostały zabite w czasie 1 minuty działania preparatu. Szczepu należące do gatunków *Acinetobacter baumannii* wymagały do zabicia stężenia 0,5% i czasu działania wynoszącego 2 minuty.

Preparat Chlorexidinum gluconicum 0,02% okazał się nieskuteczny w zabijaniu szczepów szpitalnych.

PREPARAT OCTANISEPT

Preparat OCTANISEPT firmy S&M wykazuje pełne działanie bakteriobójcze wobec 30 badanych izolatów MRSA przy zachowaniu określonych stężeń i czasów działania:

- 100% (roztwór użytkowy) – 0,5 min.
- 50% roztworu użytkowego – 0,5 min
- 25% roztworu użytkowego – 2,0 min
- 10% roztworu użytkowego – 5,0 min
- 5% roztworu użytkowego – 5,0 min

PODSUMOWANIE

W antyseptyce podstawowymi elementami jest dobór odpowiedniego środka obejmującego swoim spektrum działania stanowiące w danych warunkach problematyczne drob-

Zakażenia szpitalne i posocznice

noustroje. Najistotniejszym mechanizmem oporności pozostają powłoki otaczające mikroorganizmy, chociaż próbują one adaptować się do nowych środowisk poprzez nabywanie nowych mechanizmów. Ważnym elementem właściwie przeprowadzonej antyseptyki i ewentualnego zapobiegnięcia powstania oporności na środki antyseptyczne jest personel medyczny, który powinien przestrzegać odpowiednich procedur.

LITERATURA

1. Anderson, R.I., Carr, J.H., Bond, W.W. Susceptibility of vancomycin-resistant enterococci to environmental disinfectants. *Infect Control Epidemiol.* 1997; 18: 195-199
2. Alquarshi, A.M., Day, M.J., and Russell. Susceptibility of some strains of enterococci and streptococci to antibiotics and biocides. *J. Antimicrob. Chemother.* 1996; 38: 745
3. Nettelman md., Trilla A., Fredrickson. Assigning responsibility: using feedback to achieve sustained control pf methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*. *Am J Med.* 1991; 91 (suppl 3B): 3B228S-32S
4. Revedy, M.E., Bes, M., Nervi, C. Activity of four antiseptics and of ethidium bromide on 392 strains representing 26 *Staphylococcus* species. *Med Microbiol. Lett.* 1992; 1; 56-63
5. Russell, A.D., and Gould, G.W. Resistance of Enterobacteriaceae to preservatives and disinfectants. *J. Appl. Bacteriol. Symp. Suppl.* 1988; 65: 167S-195S
6. Russell, A.D. 1995. Plasmids and bacterial resistance to antibiotics and biocides. *J. Appl. Microbiol.* 1997; 82; 155-156 Samet, A., Bronk, M., Kur, J. *Clinical Microbiology and Infection.* 2000; 6: 111

Nowe mechanizmy oporności drobnoustrojów a niepowodzenia terapii posocznic

Łukasz Naumiuk, Alfred Samet

Zakład Bakteriologii Klinicznej, Samodzielny Publiczny Szpital Kliniczny Nr 1
AM w Gdańsku

W ostatniej dekadzie zwrócono szczególną uwagę na poznanie mechanizmów oporności drobnoustrojów na antybiotyki z uwagi na rozprzestrzenienie się niektórych gatunków bakterii opornych na jedną lub wiele klas antybiotyków stosowanych w terapii. Zjawisko to dotyczy w największym stopniu pacjentów hospitalizowanych, chociaż coraz częściej można się z nim spotkać u pacjentów ambulatoryjnych.

Bakteriemia i mogące z nich wynikać posocznice należą do zakażeń charakteryzujących się największą śmiertelnością w środowisku szpitalnym. Leczenie pacjentów z bakteriami i towarzyszącymi jej objawami należy do najtrudniejszych pod względem doboru antybiotyków, wymaga szerokiej wiedzy farmakologicznej i mikrobiologicznej. Ta ostatnia powinna obejmować znajomość patogenów i ich mechanizmów oporności, sytuacji epidemiologicznej szpitala bądź oddziału i dostępnej literatury. W tym opracowaniu chcemy zwrócić uwagę na nowe i najczęstsze mechanizmy oporności mogące być przyczyną niepowodzeń terapeutycznych w posocznicy a także na możliwość występowania wielu z tych mechanizmów jednocześnie co dodatkowo komplikuje wybór antybiotyku.

Na początku należy zastanowić się nad czynnikami mającymi wpływ na możliwy rozwój oporności drobnoustrojów podczas terapii. Są to typ infekcji, zakażający drobnoustrój, stosowany antybiotyk, choroba podstawowa pacjenta, rodzaj oddziału szpitalnego, w tym inwazyjne procedury medyczne i typ szpitala [4]. Im stan pacjenta jest cięższy, im wyższy stopień referencyjności szpitala, im częściej hospitalizacja przebiega na oddziale zabiegowym lub IOM, tym większe jest prawdopodobieństwo nabycia oporności przez bakterie w czasie antybiotykoterapii. Bakteriemię, zakażenia wewnątrzbrzuszne i układu moczowego charakteryzują się niższym prawdopodobieństwem narastania oporności w czasie leczenia od zakażeń dolnych dróg oddechowych, powikłań infekcyjnych mukowiscydozy i zapaleń kości [2].

Wśród bakterii Gram ujemnych najwięcej trudności w terapii sprawiają *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp., *Serratia marcescens* oraz *Citrobacter freundii*. *P. aeruginosa* oraz trzy pozostałe pałeczki posiadają indukowalną chromosomalną β -laktamazę AmpC. Jej spektrum substratowe obejmuje prawie wszystkie antybiotyki β -laktamowe (penicyliny, cefalosporyny, monobaktamy – aztreonam) z wyjątkiem karbapenemów, jednak nie jest ona indukowana przez cefalosporyny III generacji i monobaktamy, które pozostają wrażliwe *in vitro*. W czasie terapii cefalosporynami na skutek pojedynczej mutacji może dojść do konstytutywnej ekspresji (derepresji) β -laktamazy AmpC co prowadzi do oporności *in vitro* i *in vivo* na III generację cefalosporyn i aztreonam. Jedynie karbapenemy i cefalosporyny IV generacji zachowują swoją aktywność. Taką sytuację najczęściej spotyka się w bakteriemii *Enterobacter* spp. gdzie prawdopodobieństwo derepresji AmpC podczas terapii cefalosporynami III generacji wynosi 20% [8]. Podobnie jest w przypadku infekcji *C. freundii*, natomiast u *S. marcescens* poziom derepresowanej AmpC a co za tym idzie oporności na III generację cefalosporyn jest około 10 razy niższy niż w poprzednich drobnoustrojach [8]. U *P. aeruginosa* także może dojść do derepresji AmpC wymaga to jednak zajścia kilku mutacji a ekspresja enzymu osiąga różne wartości znajdujące odbicie w poziomie oporności na ureidopenicyliny i cefalosporyny IV generacji [8].

Kolejnym problemem jest rosnąca oporność na karbapenemy u *P. aeruginosa*. W przypadku imipenemu ten fenotyp charakteryzuje się brakiem białek porynowych OprD przy równoczesnej derepresji AmpC, MIC dla imipenemu takich szczepów wynosi około 8–16 ug/ml. W oporności na meropenem (MIC = 8–16ug/ml) bierze udział system aktywnego wypompowywania antybiotyku „efflux” nazwany MexAB-OprM [7]. Szczepy mające oba mechanizmy oporności mogą być odporne tylko na karbapenemy, natomiast wrażliwe na ureidopenicyliny, ceftazydym, aminoglikozydy, ciprofloksacynę. Przypuszcza się, że pewną rolę w selekcji takich mutantów może odgrywać uprzednia terapia ciprofloksacyną [14]. Zdarzają się także szczepy odporne na wszystkie stosowane antybiotyki antypseudomonasowe, charakteryzujące się obecnością conajmniej kilku różnych mechanizmów. Wysoki stopień oporności na oba karbapenemy – MIC > 32–64 oraz wszystkie leki β -laktamowe może być rezultatem nabycia przez *Paeruginosa* enzymu karbapenemazy bądź metallo- β -laktamazy, pojedyncze izolaty uzyskano od pacjentów we Włoszech i Grecji, natomiast w Japonii szczepy te są dość rozpowszechnione [8]. Wśród pałeczek *Enterobacteriaceae* oporność na karbapenemy związana jest albo z produkcją metallo- β -laktamazy IMP-1 lub karbapenemazy SME-1 u *S. marcescens* (Japonia, USA, Wielka Brytania) [8,16] albo połączonym współdziałaniem derepresowanej AmpC i utratą białek porynowych u *Enterobacter* spp. Tego typu oporność może rozwinąć się w czasie terapii imipenemem lub cefalosporynami [1].

Kolejnym mechanizmem oporności, ujawniającym się w czasie terapii jest selekcja *de novo* β -laktamaz o rozszerzonym spektrum działania (ESBL). Gatunkiem o największym prawdopodobieństwie takiego zdarzenia jest *Klebsiella pneumoniae*, posiadająca równocześnie plazmidową β -laktamazę SHV-1, odpowiedzialną za oporność na amino- i ureidopenicyliny oraz I generację cefalosporyn, która na skutek pojedynczej punktowej mutacji może stać się enzymem o rozszerzonym spektrum czyli ESBL [8, 13]. Wszystkie bakterie produkują ESBL dzięki obecności tego genu na plazmidzie i posiadają zdolność inaktywacji większości penicylin, wszystkich cefalosporyn (oprócz cefamycyn) i monobaktamów. Du-

za część szczepów ESBL jest dodatkowo oporna na aminoglikozydy i fluorochinolony. Oprócz najczęstszych *K. pneumoniae* i *E. coli* spotykamy także *Enterobacter* spp., *S. marcescens*, *C. freundii*, *Proteus* spp. i *P. aeruginosa* o tym fenotypie. Do tej pory scharakteryzowano kilkadziesiąt rodzajów ESBL co świadczy o ich olbrzymiej zmienności. Organizmy posiadające ten sam enzym ale o innym poziomie jego ekspresji mogą różnić się znacznie pod względem oporności *in vitro* na cefalosporyny, co nie oznacza jednak zezwolenia na stosowanie tych antybiotyków w terapii. W obecnej sytuacji, gdy pałeczki ESBL są szeroko rozpowszechnione w środowisku szpitalnym, bardziej prawdopodobne wydaje się być jednak nabycie plazmidu kodującego taki enzym od innego gatunku lub szczepu tego samego gatunku niż selekcja *de novo* w czasie antybiotykoterapii.

Innymi antybiotykami często stosowanymi w zakażeniach pałeczkami Gram ujemnymi są aminoglikozydy. Najbardziej rozpowszechnionym i poznanym mechanizmem oporności jest z przekazywanie enzymów modyfikujących aminoglikozydy na plazmidach lub integronach w obrębie rodziny *Enterobacteriaceae*. Ten typ oporności rzadko rozwija się podczas terapii, w przeciwieństwie do zmniejszonej penetracji aminoglikozydów do bakterii połączonej z aktywnym „efflux”, co dotyczy *Paeruginosa*, operon MexXY-OprM [2]. Mechanizm „efflux” daje fenotyp o niskiej oporności na aminoglikozydy, której znaczenie kliniczne jest nadal badane [15].

Fluorochinolony a szczególnie ciprofloksacyna odznaczają się dobrą aktywnością w stosunku do bakterii gram ujemnych i jest często stosowana w terapii posocznicy. Zdarzają się doniesienia o niepowodzeniach terapeutycznych u pacjentów z posocznicami o etiologii *Paeruginosa* i *E.coli* [6]. W obu przypadkach mamy do czynienia ze wspólnym działaniem mutacji w genie gyrazy wraz z różnymi mechanizmami „efflux”: MexAB-OprM, MexCD-OprJ, MexEF-OprN w *Paeruginosa* i AcrAB-TolC u *E.coli* [6]. U innych pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* lepiej poznane są mechanizmy oparte na mutacjach w gyrazie, a rola aktywnego wypompowywania nie jest jeszcze dokładnie określona.

Wśród ziarenkowców Gram dodatnich pojawiła się ostatnio oporność na glikopeptydy i to zarówno u gronkowców jak i enterokoków. Do tej pory rozróżniono kilka fenotypów VRE na podstawie poziomu oporności na wankomycynę i teikoplaninę oraz nabytego (VanA, VanB, VanD, VanE) bądź naturalnego (VanC) charakteru oporności. Geny odpowiedzialne za fenotyp nabyty znajdują się w transpozonach na plazmidach [3,12]. Najczęściej spotykamy fenotyp VanA odznaczający się wysoką opornością na wankomycynę (MIC > 64 ug/ml) i teikoplaninę (MIC > 16 ug/ml). Dzięki działaniu całego zespołu genów oporności na wankomycynę, antybiotyk ten nie wiąże się do prekursorów ściany komórkowej bakterii i nie zaburza syntezy ściany. Najczęstszym gatunkiem VRE w zakażeniach szpitalnych jest *Enterococcus faecium*, prawie zawsze odporny dodatkowo na wszystkie antybiotyki β-laktamowe, aminoglikozydy i fluorochinolony. Gdy pacjent nie jest skolonizowany VRE i środowisku szpitala nie występują te szczepy, prawdopodobieństwo rozwoju oporności na wankomycynę u enterokoków w czasie terapii jest niewielkie.

Pierwsze doniesienia o średniowrażliwych na wankomycynę gronkowcach złocistych (VISA) pochodzą z 1997 roku z Japonii, do tej pory odnotowano już pojedyncze przypadki w USA, Francji i Wielkiej Brytanii, Niemczech [9,10,11]. Ich mechanizm oporności jest odmienny od tych spotykanych u enterokoków i nie do końca wyjaśniony. Oporność rozwija się u pacjentów z infekcjami MRSA długo leczonych wankomycyną [10,11]. U gronkowców koagulazo-ujemnych oporność na glikopeptydy można spotkać częściej niż u gronkowców złocistych [3].

Niepowodzenia terapii zakażeń *Staphylococcus aureus* zanotowano w przypadku stosowania fluorochinolonów. U tego gatunku zidentyfikowano charakterystyczne mutacje w genie topoizomerazy IV *grlA* zwiększające 4–8 razy MIC szczepów wyjściowych, w wielu szczepach dochodzi jeszcze aktywność „efflux” pompy NorA obejmującej w swym spektrum hydrofilowe fluorochinolony jak ciprofloksacyna i norfloksacyna [6] i kolejne mutacje w genie topoizomerazy IV.

Nowe mechanizmy oporności drobnoustrojów a niepowodzenia terapii posocznic

Zwiększające się zużycie różnych klas antybiotyków wraz z coraz większą grupą hospitalizowanych pacjentów o obniżonej odporności i poddawanych inwazyjnym procedurom medycznym, stwarzają bakteriom coraz to nowe warunki sprzyjające wywoływaniu zakażeń i unikaniu działania antybiotyków. Jesteśmy świadkami poznawania kolejnych mechanizmów oporności i dokładnego wyjaśniania zasad działania mechanizmów, wydawałoby się już dawno poznanych. Zrozumienie ich działania pozwala zastosować odpowiednie środki. Do takich metod przeciwdziałających rozwijaniu się oporności bakterii podczas terapii zaliczamy celowaną terapię kombinowaną dwoma lub więcej antybiotykami (np. (3-laktamy z aminoglikozydami lub flu- orochinolonami) oraz stosowanie wysokich dawek antybiotyków celu zmniejszenia ryzyka selekcji opornych mutantów [5]. Chcielibyśmy zwrócić jeszcze raz uwagę na potrzebę wykonania posiewów krwi w odpowiedniej ilości i czasie, co jest warunkiem późniejszej celowanej terapii.

Piśmiennictwo

- 1 DeGheldre Y., N. Maes, F. Rost. 1997. *J. Clin. Microbiol.* 35 (1) 152-160
- 2 Dworkin R.J. 1999. *Drug Resist. Updates* 2: 173-179
- 3 Endtz H.P., N. vanBraak, H.A. Verbrugh, 1999. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 18: 683-690
- 4 Fish D.N., S.C. Piscitelli, L.H. Danziger 1995. *Pharmacotherapy* 15: 279-291
- 5 Gould I.M. 1999. *J. Antimicrob. Chemother* 43: 459-465
- 6 Hooper D.C. 1999. *Drug Resist. Updates* 2: 38-55
- 7 Koehler T., M. Michea-Hamzehpour, S.F.Epp. 1999. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 424—427
- 8 Livermore, D. M. 1995. *Clin. Microbiol. Rev.*, 8, 4: 557-584
- 9 Marchese A, Balistreri G, Tonoli E. 2000. *J. Clin. Microbiol. Feb*; 38(2): 866-9.
- 10 *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1997 Aug 22; 46(33): 765-6.
- 11 *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 1997 Jul 11; 46(27): 624-6.
- 12 Murray B.E. 2000. *N.Eng.J.Med.* March 9, 710-720
- 13 Paterson D.L., V.L. Yu. 1999. *Clin. Inf. Dis.* 29: 1419-22
- 14 Pechere J.C. 1999. 21 International Congress of Chemotherapy, Birmingham, UK
- 15 Ramos A. J., T. Koehler, H.Nikaido. 1999. *Antimicrob. Agents Chemother.* 43: 2624-28
- 16 Troillet N, Y. Carmeli, L. Venkataraman, 1999. *J. Hosp. Infect.* May; 42: 37-43

NEUROINFEKCJE

Neuroinfekcje

Jerzy Janeczko

Klinika Chorób Zakaźnych dla Dorosłych Akademii Medycznej w Warszawie

W Polsce chorobowość z powodu neuroinfekcji ośrodkowego układu nerwowego jest nadal wysoka, ale od 10 lat wykazuje tendencję spadkową (w roku 1990 zarejestrowano 3952, w 1994 - 3149 i w 1999 - 2690 zachorowań*). W tym samym okresie liczba neuroinfekcji bakteryjnych także obniżyła się (w roku 1990 zarejestrowano 2237, w 1994 - 1612 i w 1999 - 1363 przypadków*), ale ze względu na trudności diagnostyczne, zmieniający się profil etiologiczny zakażeń, narastającą antybiotykoporność zarazków, zwykle ciężki przebieg kliniczny choroby, głównie u osób z obniżoną odpornością, długotrwałe i kosztowne leczenie, częste nawroty choroby i następstwa neurologiczne, nierzadko prowadzące do trwałego inwalidztwa, wysoką śmiertelność itp. stanowią one nadal istotny problem kliniczny i społeczny. Doceniono wagę problemu i powołano Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Diagnostyki Zakażeń Ośrodkowego Układu Nerwowego w Centralnym Laboratorium Surowic i Szczepionek w Warszawie i wyposażono go w nowoczesną aparaturę diagnostyczną, pozwalającą na ciągłe śledzenie nie tylko profilu etiologicznego zarazków wywołujących zapalenia, ale i ocenę wrażliwości na chemioterapeutyki izolowanych z pmr szczepów bakteryjnych. Przynosi to już określone efekty. Wydaje mi się, że leczenie neuroinfekcji winno być prowadzone w wyspecjalizowanych oddziałach zakaźnych dysponujących Oddziałami Intensywnej Opieki Medycznej. Wyszkolony i wyspecjalizowany zespół lekarsko-pielęgniarski umożliwi bowiem efektywniejsze leczenie i skrócenie czasu hospitalizacji, a co za tym idzie obniżenie kosztów leczenia i rehabilitacji. Błędy popełniane w początkowym okresie hospitalizacji i leczenia są niekiedy nieodwracalne i w przyszłości będą obciążać nie tylko chorego i jego najbliższą rodzinę, ale i całe społeczeństwo.

* Dane z roczników PZH o zachorowaniach na choroby zakaźne i zatrucia związkami chemicznymi w Polsce.

Zapalenia ośrodkowego układu nerwowego u chorych z obniżoną odpornością

Witold Przyjałkowski, Dariusz Lipowski, Jerzy Janeczko, Zbigniew Olejnik.

Klinika Chorób Zakaźnych dla Dorosłych AM w Warszawie

Zapalenia ośrodkowego układu nerwowego (oun) najczęściej przebiegają pod postacią zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu (zoim). Niekiedy proces infekcyjny ogranicza się wyłącznie do tkanki nerwowej mózgu lub opon mózgowo-rdzeniowych. Zarówno

zaim jak i zapalenia mózgu cechują się z reguły ciężkim przebiegiem klinicznym, wysoką śmiertelnością oraz częstymi trwałymi następstwami neurologicznymi. W ropnych zaim śmiertelność wynosi średnio ok. 20%, a w zapaleniach gruczniczych sięga nawet 30% (1,2,3,4). Wyniki leczenia grzybiczych zapaleń oun są także niekorzystne i często mimo intensywnej terapii dochodzi do nawrotów choroby. Tylko u ok. 50% chorych udaje się opanować proces infekcyjny w trakcie I rzutu choroby, a u kolejnych 10–20% w czasie nawrotu. Aż u 50% wyleczonych obserwuje się poważne następstwa neurologiczne (5,6,7). Stosunkowo najlepsze wyniki leczenia uzyskuje się w wirusowych zapaleniach oun, niemniej nadal często dochodzi w nich do trwałych następstw w postaci niedowładów, porażeń, padaczki, stanów otępiennych czy nawet psychoz.

Do zakażenia oun najczęściej dochodzi na drodze krwiopochodnej. Bakteryjne ropne zaim mogą szerzyć się przez ciągłość z tkanek otaczających, np. w przypadku zapalenia usznopochodnego, czy też u osób po urazach czaszki z ubytkiem kości przedniego dołu czaszki i przerwaniem ciągłości opony twardej. W tych przypadkach, w wyniku kolonizacji błony śluzowej jamy nosowo-gardłowej lub infekcji górnych dróg oddechowych może dojść do zapalenia oun na drodze wstępującej. W zakażeniach wirusowych, poza drogą krwiopochodną, możliwe jest także rozprzestrzenianie się zakażenia wzdłuż nerwów obwodowych lub czaszkowych, po uprzedniej reaktywacji wirusów w zwojach nerwowych.

Gruźlica oun jest z reguły wynikiem rozsiewu krwiopochodnego. W trakcie wysiewu czasami dochodzi do wytworzenia klinicznie niemych gruzełków gruczniczych w oun. Ich reaktywacja i rozpad może nastąpić w różnym czasie i w okresie obniżonej odporności organizmu prowadzić do zaim. Grzybice oun są najczęściej wtórną zmianą narządową w przebiegu zakażeń systemowych, zwłaszcza układu oddechowego i do zaim dochodzi niemal wyłącznie na drodze krwiopochodnej. Niezależnie od drogi szerzenia się zakażenia, odpowiedź obronna organizmu zależy od stanu układu immunologicznego oraz od sposobu namnażania patogenów, który warunkuje określony typ reakcji obronnej.

Ośrodkowy układ nerwowy odgraniczony od pozostałych części organizmu barierami ochronnymi krew – płyn mózgowo-rdzeniowy (k-p) i krew – mózg (k-m), jest ubogi w efektorowe mechanizmy obronne. Dlatego też mózg nazywany jest miejscem „immunologicznie przyzwalającym”, do którego dostęp komórek efektorowych jest ograniczony (8). Płyn mózgowo-rdzeniowy zawiera również w niedostatecznym stopniu komórki immunokompetentne. Składowe komplementu występują w nim tylko w śladowych ilościach, a stężenie immunoglobulin jest ok. 800 razy mniejsze niż w surowicy (2,9). To wszystko powoduje, że patogeny po przedostaniu się do płynu mózgowo-rdzeniowego i/lub do mózgu początkowo nie napotykają reakcji obronnej. Dopiero po uszkodzeniu bariery k – p i/lub k – m oraz po napłynięciu humoralnych i komórkowych mediatorów reakcji odpornościowej z krwi, z opóźnieniem dochodzi do rozwinięcia procesu zapalnego i reakcji obronnej organizmu.

W wyniku zakażenia uruchamiane są mechanizmy mające na celu zlokalizowanie zakażenia w miejscu wtargnięcia drobnoustrojów i ich eliminację oraz neutralizację toksyn. Są to mechanizmy odporności nieswoistej (wrodzonej) i swoistej (nabytej) zależnej od wytwarzania przeciwciał i ekspansji limfocytów T pomocniczych i cytotoksycznych skierowanych przeciwko swoistym antygenom. Odporność wrodzona obejmuje nieswoiste komórkowe i humoralne mechanizmy odpowiedzi immunologicznej. W odporności nieswoistej komórkowej najistotniejszą rolę odgrywają komórki żerne, granulocyty obojętnochłonne, kwasochłonne, monocyty i makrofagi tkankowe biorące udział w fagocytozie. W odporności nieswoistej humoralnej istotne znaczenie odgrywa układ dopełniacza, którego aktywacja prowadzi do opsonizacji patogenów i przez to do wzmocnienia fagocytozy, a także do lizy ściany komórkowej bakterii Gram ujemnych przez końcowy fragment kompleksu układu dopełniacza MAC (membrane attack complex) oraz przez nasilenie odczynu zapalnego.

U osób z niedoborami składowych układu dopełniacza często dochodzi do ropnych zakażeń, w tym również oun. Infekcje te mają charakter nawracający i mogą występować rodzinnie. Niedobory składników klasycznej drogi dopełniacza c1, c2, c4 i c3 sprzyjają na-

wracającym zakażeniom wywołanym przez *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* i *Haemophilus influenzae* (10,11). U osób z niedoborami końcowych składników alternatywnej drogi dopełniacza c5, c6, c7, c8 i c9 dominują natomiast uogólnione zakażenia meningokokowe z zajęciem opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu (10,12).

Inne składniki humoralnej nieswoistej odpowiedzi obronnej to;

- lizozym, enzym występujący w płynach ustrojowych, który rozkłada peptydoglikan ściany komórkowej bakterii Gram dodatnich
- białka ostrej fazy, które nasilają odczyn zapalny i mogą na drodze klasycznej aktywować układ dopełniacza
- interleukiny, cytokiny i czynniki wzrostu min. IL-1, IL-6, TNE, GM-CSF i tzw. cytokiny toksyczne o niskim ciężarze cząsteczkowym, które stymulują odczyn zapalny, działają chemotaktycznie, zwiększają migrację i przyleganie granulocytów obojętnochłonnych i monocytów w miejscu zakażenia oraz zwiększają syntezę białek ostrej fazy
- interferony, syntetyzowane i uwalniane przez komórki w odpowiedzi na zakażenie wirusowe; odgrywają one istotną rolę w odporności przeciwwirusowej.

Odporność swoista nabyta wymaga najczęściej współdziałania odpowiedzi humoralnej i komórkowej. W zależności jednak od sposobu namnażania czynnika patogennego przeważa jeden z typów odpowiedzi. W infekcjach wywołanych przez bakterie namnażające się pozakomórkowo, w odporności swoistej główną rolę odgrywa typ odpowiedzi humoralnej, związanej z wytwarzaniem swoistych immunoglobulin. Komponenty immunogenne ściany komórkowej i otoczki bakterii stymulują komórki B i syntezę swoistych przeciwciał. Końcowymi mechanizmami humoralnej odpowiedzi immunologicznej są:

- fagocytoza immunologiczna z udziałem makrofagów i granulocytów obojętnochłonnych
- aktywacja dopełniacza na drodze klasycznej przez immunoglobuliny klasy IgM i IgG
- bezpośrednia liza ściany komórkowej bakterii Gram ujemnych przez MAC
- opsonizacja, głównie przez IgG, która warunkuje fagocytozę immunologiczną
- wczesna neutralizacja biologicznie czynnych metabolitów bakterii.

W zakażeniach wywołanych przez patogeny namnażające się wewnątrzkomórkowo (wirusy) w odpowiedzi obronnej główną rolę odgrywa swoista odpowiedź komórkowa, ściśle związana z funkcją limfocytów T i makrofagów.

Ryzyko zakażenia ośrodkowego układu nerwowego u osób z obniżoną odpornością jest uzależnione od kilku czynników, przede wszystkim od choroby zasadniczej i stadium jej zaawansowania, przyjmowania leków działających immunosupresyjnie oraz od rodzaju zaburzeń odporności.

U pacjentów z obniżoną odpornością można wyróżnić cztery typy zaburzeń immunologicznych.

I. zaburzenia odporności komórkowej

II. zaburzenia odporności humoralnej

III. zaburzenia związane z liczbą i funkcją granulocytów obojętnochłonnych

IV. zaburzenia odporności związane z dysfunkcją układu siateczkowo-śródbłonkowego w następstwie uszkodzenia śledziony (choroba podstawowa, stan po radioterapii, stan po splenektomii)

Znajomość typu zaburzeń odporności może być bardzo przydatna w ustaleniu etiologii zoonoz u pacjentów z obniżoną odpornością (6,13,14).

Zaburzenia odporności komórkowej obejmują pacjentów po przeszczepach narządów, osoby z chorobami rozrostowymi układu chłonnego, chorych przewlekłe leczonych glikokortykoidami oraz zakażonych wirusem HIV. W tej grupie chorych zapalenia ośrodkowego układu nerwowego są najczęściej wywoływane przez patogeny namnażające się wewnątrzkomórkowo, do których eliminacji niezbędna jest prawidłowa funkcja limfocytów T i makrofagów (6,13,15).

Wśród zakażeń bakteryjnych dominują infekcje ośrodkowego układu nerwowego wywołane przez *Listeria monocytogenes*, rzadziej przez prątki gruźlicy oraz prątki atypowe. Wśród etiologii grzybiczej (tak-

że częściej) zdecydowanie najwięcej zapaleń wywołanych jest przez *Cryptococcus neoformans*, mniej przez *Aspergillus* sp. Do zwiększonej zachorowalności na grzybice oun prowadzi przede wszystkim przewlekła glikokortykoterapia oraz zakażenia wirusem HIV. U tych chorych głęboki deficyt komórek CD4 (szczególnie przy obniżeniu ich poziomu poniżej 100/ul) stanowi poważny czynnik ryzyka zakażenia kryptokokoza, które u chorych nie otrzymujących profilaktyki przeciwgrzybiczej występuje w 6–13% przypadków (5,7,16). Spośród wirusów najczęściej odpowiedzialne za zapalenie oun są wirusy cytomegalii, Epsteina-Barr oraz varicella-zoster. Zakażenia wywołane wirusem opryszczki zwykle są także spostrzegane w tej grupie chorych, ale częstość ich występowania nie jest wyższa niż w grupie chorych bez stwierdzonych zaburzeń odporności (6,17).

Infekcje pasożytnicze oun występują częściej i z reguły są wynikiem zakażeń pasożytami *Toxoplasma gondii*. Choroba może przebiegać jako zoim, zapalenie mózgu z rozsianymi lub ogniskowymi objawami uszkodzenia oun lub też w postaci ropnia mózgu. Do niedawna przypadki toksoplazmozy oun były rozpoznawane sporadycznie i dotyczyły chorych z procesami rozrostowymi układu chłonnego, po przeszczepie narządu i z kolagenozami leczonymi przewlekłe glikokortykoidami. Wraz z epidemią AIDS liczba przypadków tej postaci toksoplazmozy znacząco wzrosła. Spośród pasożytów jelitowych zakażenia oun najczęściej wywołane są przez *Strongyloides stercoralis*. U chorych z depresją odporności komórkowej w wyniku rozsiewu krwiopochodnego może dojść do zajęcia licznych narządów w tym również oun. Zajęciu tkanki nerwowej mózgu często może towarzyszyć zakażenie wywołane przez patogeny Gram ujemne, przenoszone z przewodu pokarmowego do krwi w trakcie rozsiewu pasożytów (6,13).

Badania prowadzone w wielu ośrodkach medycznych wykazały, że u osób z obniżoną odpornością w następstwie zaburzeń odpowiedzi komórkowej najczęściej dochodzi do zapaleń oun w wyniku zakażenia pałeczkami *Listeria monocytogenes* (6,14,18). Patogen ten jest powszechnie rozpowszechniony. W ostatnich latach odnotowywano ogniska epidemiczne listeriozy, obejmujące również przypadki zapaleń oun, do których dochodziło na drodze pokarmowej. Źródłem infekcji były zakażone produkty spożywcze: mleko, sery, surówki, tzw. owoce morza oraz niedogotowane parówki i niewysmażone kurczaki (19). Niemniej, najczęściej listerioza występuje u osób z deficytem odporności. Uznawanymi czynnikami ryzyka u dorosłych są takie choroby jak marskość wątroby, cukrzyca, nowotwory, alkoholizm oraz podeszły wiek (powyżej 75 lat) i przede wszystkim przewlekłe leczenie immunosupresyjne. Do niedawna jeszcze *Listeria monocytogenes* była najczęstszą przyczyną zapaleń oun u chorych po przeszczepie nerki. Wprowadzenie postępowania profilaktycznego w postaci trimetoprimu z sulfametaksazolem znacząco zmniejszyło ilość zachorowań w tej grupie chorych. Listerioza oun przebiega z reguły jako zoim, w niektórych rzadkich przypadkach prowadzi do wytworzenia ropni mózgu (6,18). Przebieg choroby jest najczęściej ciężki, w obrazie klinicznym dominują zaburzenia świadomości, do utraty przytomności włącznie, objawy oponowe, drgawki, niedowład lub porażenia, także porażenia nerwów czaszkowych oraz objawy mózdkowe.

Zmiany w badaniach laboratoryjnych są nietypowe, a obserwowane w płynie mózgowo-rdzeniowym (pmr), pomimo że *Listeria* jest patogenem namnażającym się wewnątrzkomórkowo, mają najczęściej charakter ropny i tylko w nielicznych przypadkach w rozmazie przeważają komórki jednojądrzaste (6).

W rozpoznaniu etiologicznym najbardziej wartościowe są metody bakteriologiczne, a dodatkowo wyniki posiewów z pmr i/lub z krwi dają jednoznaczne potwierdzenie choroby. Niemniej, hodowla i izolacja pałeczek *Listeria monocytogenes* z materiału biologicznego jest trudna i wymaga dłuższej niż zwykle inkubacji oraz stosowania wzbogaconych podłoży. Dlatego też rozpoznawanie listeriozy jest niedostateczne, a podawane w naszym kraju dane statystyczne co do częstości jej występowania nieprzekonywujące. W diagnostyce listeriozy mają zastosowanie również metody serologiczne, ale wyniki tych badań nie zawsze są wiarygodne. Nadzieję na poprawę wyników diagnostycznych należy wiązać z wprowadzeniem

dzaniem nowoczesnych metod, wykorzystujących osiągnięcia biologii molekularnej.

Leczenie przyczynowe listeriozy oun z reguły jest długie i trwa 3–4 tygodnie, a najskuteczniejszym antybiotykiem jest ampicylina w dawce 12,0 g/dobę często stosowana w połączeniu z aminoglikozydem. Cefalosporyny są nieskuteczne i nie powinny być stosowane.

Drugi typ zaburzeń odporności obejmuje chorych z przewlekłą białaczką limfatyczną, szpiczakiem mnogim oraz ziarnicą złośliwą. Niedobory immunologiczne pogłębia u tych pacjentów najczęściej stosowana chemio- i radioterapia. Zaburzenia odporności humoralnej związane z chorobą podstawową i brak możliwości wytwarzania przez organizm dostatecznej ilości swoistych przeciwciał, zwiększa ryzyko infekcji przez patogeny namnażające się pozakomórkowo. Często u tych chorych dochodzi do zapaleń oun wywołanych przez *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* i rzadziej *Neisseria meningitidis*. Przebieg choroby ma zazwyczaj charakter piorunujący i często w czasie kilkunastu godzin kończy się zgonem (6,20).

U chorych z neutropenią, będącą wynikiem ostrej białaczki lub cytotoksycznego działania chemioterapii, ryzyko zakażenia wzrasta gdy liczba granulocytów obojętnochłonnych spada poniżej 1000 w 1 mm³ i staje się bardzo prawdopodobna przy ich liczbie mniejszej niż 100 w 1 mm³. W tej grupie chorych zakażenia oun najczęściej wywołane są przez bakterie: *Pseudomonas aeruginosa* oraz inne pałeczki Gram ujemne należące do rodziny *Enterobacteriaceae* oraz przez patogeny grzybicze z rodziny *Candida* i *Aspergillus*. Zarówno w etiologii bakteryjnej jak i grzybiczej do zakażenia oun dochodzi na drodze krwiopochodnej, często w przebiegu posocznicy. Przebieg choroby może być skąpo objawowy i bez intensywnego leczenia szybko prowadzi do zgonu (6,14).

Zaburzenia odporności związane z dysfunkcją lub brakiem śledziony w następstwie choroby podstawowej, radioterapii czy też zabiegu chirurgicznego, uwarunkowane są wypadnięciem dwóch istotnych mechanizmów obronnych. Jednym z nich jest filtracja i zatrzymywanie bakterii otoczkowych z następową ich fagocytozą w zatokach śledziony. Drugi, to wytwarzanie opsonizujących przeciwciał klasy IgM.

W przypadku uszkodzenia śledziony lub jej braku, niemożliwe jest wychwytywanie patogenów z krwi i ich fagocytoza, co może prowadzić do uogólnionej infekcji przebiegającej z zajęciem oun, uszkodzeniem wielonarządowym i zespołem wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (DIC). Czynnikiem etiologicznym w tych przypadkach często jest *Streptococcus pneumoniae* i *Haemophilus influenzae* (6,20).

Zapalenia oun u chorych z upośledzoną odpornością występują znamienne częściej. U pacjentów po przeszczepie narządu w 5–10% przypadków dochodzi do zoim. Podobny odsetek zakażeń oun spotykany jest u chorych z procesami rozrostowymi układu chłonnego oraz u osób przewlekle leczonych glikokortykoidami. W tej grupie chorych przebieg zapaleń oun jest ciężki, a śmiertelność bardzo wysoka i waha się od ok. 40% do ponad 70%, w zależności od rodzaju i głębokości deficytu odporności (6). Najistotniejsze znaczenie dla poprawy wyników leczenia ma jak najszybsze włączenie prawidłowego leczenia przyczynowego. Dlatego też znajomość typu zaburzeń immunologicznych u pacjentów z obniżoną odpornością jest bardzo pomocna w szybkim ustaleniu etiologii zapalenia i podjęciu właściwej terapii.

Piśmiennictwo.

1. Schlech WF, Ward JI., Band JD.: JAMA, 1985, 253, 1749
2. Tunkel AR., Wispley B., Quaaglarello VJ.: J. Infect. Dis., 1992, 165 (suppl.1), 119
3. Saez-Llorens X., Ramilo O., Mustafa MW.: J. Pediatr., 1990, 116, 671
4. Zuger A., Lowy FD. w: Infections of the Central Nervous System, 2nd ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997, 417
5. Perfect JR., Durach DT. w: Infections of the Central Nervous System, 2nd ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997, 721
6. Rubin RH., Hooper DC.: Med. Clin. North. Am., 1985, 69, 281

7. Sabetta JR., Andriole VT.: Med. Clin. North. Am., 1985; 69: 333
8. Cassady KA, Whitley RJ. w: Infections of the Central Nervous System, 2nd ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997, 7
9. Tunkel AR., Scheld WM.: Clin.Microbiol. Rev., 1993, 6, 118
10. Keitch J., Love C., Chandhuri AKR. w: Immunology of Nervous System Infections, Elsevier Science Publishers, 1983, 69
11. Abbas AK, Lichtman AH., Pober JS. w: Cellular and molecular immunology, WB Saunders Company, 1991, 259
12. Lepow M., Gold R. w: Immunology of human infections. Part I, Plenum Medical Book Company, New York, 1981, 139
13. Tunkel AR., Scheld WM. w: Clinical Approach to Infections in the Compromised Host, 3rd ed. Plenum Medical Book Company, New York, 1994, 163
14. Armstrong D., Wong B: Annu. Rev. Med., 1982, 33, 293
15. Wade JC. w: Clinical Approach to Infections in the Compromised Host, 3rded., Plenum Medical Book Company, 1994, 5
16. Mitchell TG., Perfect.: Clin. Microbiol. Rev., 1995, 8, 515
17. Whitley RJ. w: Infections of the Central Nervous System, 2nd ed. Lippincott-Raven Publishers, Philadelphia, 1997, 73
18. Young LS. w: Clinical Approach to Infections in the Compromised Host, 3rd ed. Plenum Medical Book Company, 1994, 67
19. Schuchat A., Deaver KA., Wenger JW.: JAMA, 1992, 267, 2041
20. Van der Meer JWM. w: Clinical Approach to Infections in the Compromised Host, 3rd ed. Plenum Medical Book Company, New York, 1994, 33

Ropnie mózgu – diagnostyka i leczenie

Dariusz Lipowski, Witold Przyjałkowski, Jerzy Janeczko, Zbigniew Olejnik
Klinika Chorób Zakaźnych dla Dorosłych Akademii Medycznej w Warszawie

Ropień mózgu jest zakażeniem wewnątrzczaszkowym, o ograniczonym, ogniskowym charakterze. Choroba jest znana od dawna, pierwszy jej opis z roku 460 p.n.e, pochodzący z komentarza dotyczącego powikłań zapalenia ucha, zawdzięczamy Hippokratesowi. Ze względu na umiejscowienie, często skryty początek, brak charakterystycznych objawów oraz możliwość groźnych, nawet co do życia, powikłań, ropień mózgu, stanowi nadal poważny problem diagnostyczny i terapeutyczny. Prowadzenie chorego od chwili rozpoznania do zakończenia leczenia wymaga ścisłej współpracy pomiędzy neurochirurgiem, specjalistą chorób zakaźnych i neuroradiologiem.

Do końca dziewiętnastego wieku ropień mózgu był chorobą rozpoznawaną głównie podczas badania sekcyjnego. W roku 1893 MacEwen doniósł o 80% skuteczności leczenia chirurgicznego ropni płata skroniowego (8/10 przypadków). Rozwój technik neurochirurgicznych, wprowadzenie antybiotyków oraz trwający od ok 25 lat stały postęp w dziedzinie diagnostyki obrazowej przyczyniły się do dalszego postępu terapeutycznego.

Najczęstszą przyczyną powstania ropnia mózgu jest szerzenie się infekcji czaszkowej dotyczącej pierwotnie zatok przynosowych, ucha środkowego, zębów lub wyrostka sutkowatego. Może on także być konsekwencją penetrującego urazu czaszki (także pozornie niewinnego, jak w przypadku przebiccia stropu oczodołu u dzieci), bądź operacji neurochirurgicznej. Do powstania ropni mózgu, jako powikłania zakażenia toczącego się w innych na-

Neuroinfekcje

rzędach dochodzi rzadko, głównie w schorzeniach, w których bakterie po dostaniu się do krwiobiegu omijają krążenie płucne: siniczne wady serca, anastomozy tętniczo-żylnie naczyń płucnych, ropień płuca i ropniak opłucnej, rozstrzenie oskrzeli, bakteryjne zapalenie wsierdzia. W 20 - 30% przypadków nie udaje się ustalić źródła zakażenia.

W epoce powszechnej dostępności antybiotyków ropień mózgu jest chorobą rzadką. W krajach rozwiniętych występuje u 1 chorego/1 0000 przyjęć do szpitala, co odpowiada kilku przypadkom hospitalizowanym rocznie w oddziale neurochirurgicznym wieloprofilowego szpitala. Ropnie mózgu spotykane są również w niewielkim odsetku materiału sekcyjnego (od 0.18% do 1.3%). Należy sądzić, że sytuacja epidemiologiczna przedstawia się o wiele gorzej w krajach rozwijających się, co związane jest głównie z niedostatecznym leczeniem zapalenia ucha środkowego i zatok. Zwiększona zapadalność dotyczy pacjentów z odpornością obniżoną zarówno w przebiegu ciężkiej choroby podstawowej (cukrzyca, choroba nowotworowa, wyniszczenie), jak i w wyniku stosowanych intensywnych metod diagnostycznych i leczniczych (immunosupresja, choroby po przeszczepach narządów, chemio- i radioterapia), a także chorych z zespołem nabytego braku odporności (AIDS).

W okresie poprzedzającym wprowadzenie antybiotyków z materiału uzyskanego z ropni mózgu izolowano najczęściej gronkowca złocistego (25-30%) i paciorkowce (30%) oraz rzadziej pałeczki Gram ujemne. W ok. połowie posiewów nie stwierdzano wzrostu bakterii. Obecnie, wraz z poprawą technik mikrobiologicznych oraz zmianami w epidemiologii choroby, bakterie tlenowe izolowane są w ok. 60%, a beztlenowe w ponad 30% hodowli. Według niektórych opracowań, nawet do 60% przypadków, mamy do czynienia z zakażeniem wywołanym florą mieszaną, a odsetek izolacji bakterii beztlenowych waha się od 40

- 100%. Niestety także i dzisiaj wysoki jest udział negatywnych posiewów treści ropnia (tzw. „sterylny ropień”). Najczęściej tłumaczy się to niewłaściwą techniką pobrania i/lub transportu materiału bądź włączoną wcześniej, z powodu leczenia ogniska pierwotnego, antybiotykoterapią.

Paciorkowce tlenowe stanowią ok. 30%, a beztlenowe ok. 10% bakterii wyhodowanych z treści ropni. Najczęściej należą one do grupy *Streptococcus intermedius* (*Streptococcus anginosus*, *Streptococcus constellatus*, *Streptococcus intermedius*). *Streptococcus pneumoniae*, należący do trzech najczęstszych czynników etiologicznych ropnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu, zaledwie w 2 - 3% izolowany jest z treści ropnia. Gronkowiec złocisty jest hodowany z ok. 12 - 15% ropni, często jako pojedynczy patogen. Pozostaje on najczęstszą przyczyną pourazowych ropni mózgu. Kolejną grupą bakterii odpowiedzialną za około 16% izolacji są tlenowe pałeczki Gram ujemne, a najczęstszym patogenem jest *Proteus* sp., szczególnie często izolowany w ropniach uszno-pochodnych i ropniach okresu noworodkowego. Mniej często spotykamy *Escherichia coli*, *Klebsiella* sp., *Enterobacter* sp. i *Pseudomonas* sp. Spośród *Haemophilus* sp. (około 5% przypadków) najczęściej izolowany jest *Haemophilus aphrophilus*, rzadko, będący często przyczyną zapalenia opon u dzieci *H. influenzae*. Wśród bakterii beztlenowych hodowanych z treści ropni najczęstsze, poza paciorkowcami, to *Bacteroides* sp. i *Prevotella* sp. obecne w ok. 11% izolacji, często jako składnik flory mieszanej. Pozostałe beztlenowce należące głównie do rodzajów: *Fusobacterium*, *Clostridium* i *Actinomyces* występują w kolejnych 12% hodowli.

Rośnie znaczenie ropni grzybiczych. Schorzenie dotyczy prawie wyłącznie osób z obniżoną odpornością. Najczęstszymi patogenami w tej grupie są: *Candida* sp. i *Aspergillus* sp., rzadziej *Cryptococcus neoformans*, *Pseudallescheria boydii*, *Cladosporium trichoides*, *Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides immitis*, *Histoplasma capsulatum*, *Trichoderma* sp. i inne.

Pierwotniaki i pasożyty jelitowe mogą także być przyczyną ropni mózgu. Toksoplazmoza jest najczęstszym zakażeniem pasożytniczym mózgu wśród chorych z AIDS. W tej grupie chorych rośnie znaczenie zakażeń *Acanthamoeba* sp. Inwazje *Strongyloides stercoralis* u osób z obniżoną odpornością mogą również szerzyć się na ośrodkowy układ nerwowy (OUN). W krajach rozwijających się duże znaczenie ma cysticerkoza, inwazje Entamo-

eba histolytica i *Schistosoma japonicum*. Sporadycznie do zmian w ośrodkowym układzie nerwowym dochodzić może w ekinokozie, włośnicy, paragonimozie, sparganozie oraz w zakażeniach *Angiostrongylus cantonensis*.

Obraz kliniczny ropnia mózgu nie jest charakterystyczny i zależy w dużym stopniu od takich czynników jak: wielkość i lokalizacja ropnia, stan odporności pacjenta, zjadliwość wywołującej zakażenia bakterii, obecność lub brak powikłań takich jak zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych lub przebiecie ropnia do komór oraz od obecności objawów z miejsca pierwotnego zakażenia (zapalenie ucha, zatok itp.). Przebieg choroby od pierwszych objawów do pełnego rozpoznania może być zarówno powolny, jak i piorunujący, trwać od kilku do 120 dni, średnio ok. dwóch tygodni.

Klasyczna triada objawów: gorączka, ból głowy i objawy ogniskowego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego występuje u mniej niż połowy chorych. Najczęstszym i wiodącym objawem jest, różnie nasilony, od umiarkowanego do bardzo silnego, ból głowy, który występuje u ok. 75% chorych (praktycznie u wszystkich, u których możemy zebrać wywiad). Nie ma on cech charakterystycznych, najczęściej jest tępy, rozlany, trudny do lokalizacji. Często towarzyszą mu inne objawy wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego: nudności i wymioty (22 – 50% przypadków), bradykardia, wzmożone napięcie mięśniowe, zaburzenia odruchów źrenicznych oraz zaburzenia świadomości. Drgawki, najczęściej uogólnione, występują w 25 – 45% przypadków. Zaskakująco rzadko, gdyż tylko u ok. 25% chorych stwierdzany jest obrzęk tarczy nerwu wzrokowego. Gorączkę obserwuje się zaledwie u 40 – 50% pacjentów, stąd jej brak nie pozwala na wykluczenie podejrzenia ropnia mózgu. Objawy ogniskowego uszkodzenia ośrodkowego układu nerwowego występują u ok. połowy chorych. Najczęściej stwierdzany jest niedowład połowiczny, rzadziej niedowłady nerwów czaszkowych, niedowidzenie połowiczne, zespół mózdkowy. W przypadkach gdy ropień zlokalizowany jest w półkuli dominującej dochodzić może do zaburzeń mowy. Nagłe pogorszenie stanu chorego, poprzedzone silnym bólem głowy, do którego w krótkim czasie dołącza się zespół oponowy to symptomatologia typowa dla przebiecia ropnia do światła komory. Powikłanie takie obarczone jest 80 – 100% śmiertelnością.

Podobnie jak w obrazie klinicznym, nie ma także badań laboratoryjnych, które byłyby charakterystyczne dla ropnia mózgu, a u niektórych chorych nie występują nawet podstawowe markery infekcji bakteryjnej, zarówno we krwi, jak i w płynie mózgowo-rdzeniowym. Tylko u ok. 10% chorych liczba leukocytów we krwi obwodowej przekracza 20000 w mm³, a u około 40% pozostaje prawidłowa. Odczyn opadania krwinek jest z reguły miernie przyspieszony (średnie wartości 45 – 55 mm po 1 godzinie), u części chorych jest prawidłowy. Białko C-reaktywne (CRP) jest najczęściej podwyższone, ale również istnieją choroby z ropniem mózgu i prawidłowym stężeniem CRP. Posiewy krwi, które powinny być pobrane w każdym przypadku podejrzenia ropnia mózgu, są dodatnie tylko u ok. 10% chorych. U niektórych możemy zaobserwować hiponatremię będącą objawem zespołu niewłaściwego wydzielania hormonu antydiuretycznego.

Nakłucie łądźwiowe nie powinno być wykonywane u chorego z podejrzeniem ropnia mózgu przynajmniej do czasu wykonania tomografii komputerowej i oceny dna oka. Badanie ogólne i posiew płynu mózgowo-rdzeniowego (pmr) z reguły niewiele wnoszą do rozpoznania, a zabieg jest niebezpieczny dla chorego z powodu zwiększonego ryzyka wklonowania mózgu. Cytoza najczęściej tylko nieznacznie odbiega od normy lub jest prawidłowa. W przypadkach przebiegających z podwyższoną cytozą u części chorych w rozmazie przeważają komórki jednojądrzaste, a u części granulocyty obojętnochłonne. Podobnie niediagnostyczne jest stężenie białka w pmr, które bywa nieznacznie podwyższone, bądź prawidłowe i stężenie glukozy, które jest obniżone u mniej niż 25% chorych. Posiewy pmr są pozytywne w mniej niż 10% przypadków.

Diagnostyka mikrobiologiczna przynosi najlepsze wyniki gdy posiew treści ropnia wykonany jest podczas zabiegu neurochirurgicznego. Posiew taki powinien być wykonany zawsze, ze zwróceniem szczególnej uwagi na właściwe pobieranie materiału, wysiew na od-

powiednie podłoża (w tym podłoże w kierunku beztlenowców) oraz transport do laboratorium. U pacjentów w relatywnie dobrym stanie ogólnym antybiotykoterapia powinna być włączona dopiero po pobraniu materiału na posiew. Materiał biologiczny uzyskany od chorego, także w czasie leczenia, powinien być pobierany na posiew do momentu ustalenia etiologii ropnia.

Wprowadzenie do diagnostyki medycznej w drugiej połowie lat siedemdziesiątych tomografii komputerowej (TK) zrewolucjonizowało zarówno diagnostykę, jak leczenie i prowadzenie chorych z ropniami mózgu. Umożliwiło ono uwidocznienie ropnia już od fazy nacieku zapalnego (cerebritis) widocznego jako obszar hypodensyjny, ulegający wzmocnieniu po podaniu kontrastu. W ramach dalszej ewolucji ropień jest widoczny jako ognisko hypodensyjne (strefa nacieku zapalnego i martwicy) otoczone cienkościennej, wzmacniającą się po podaniu kontrastu torebką, na zewnątrz której rozciąga się kolejna strefa hypodensyjna – strefa obrzęku mózgu. Bardzo ważne jest aby chorzy z podejrzeniem ropnia mózgu mieli wykonywane badanie TK z użyciem kontrastu, gdyż uniemożliwia to przeoczenie wczesnych, nieobecnych w badaniu standardowym zmian zapalnych.

Kolejny krok naprzód w diagnostyce obrazowej dokonał się z chwilą wprowadzenia rezonansu magnetycznego (RM). Badanie to cechuje możliwość wielopłaszczyznowego obrazowania struktur mózgu, lepszy kontrast pomiędzy substancją szarą i białą oraz brak artefaktów wywołanych przez kości, co jest szczególnie istotne w diagnostyce zmian wywodzących się z tylnego dołu czaszki. Jest ono bardziej czułe niż TK we wczesnym wykrywaniu nacieku zapalnego (cerebritis) oraz strefy obrzęku mózgu towarzyszącej temu naciekowi. Rezonans magnetyczny może wcześniej wykryć zmiany satelitarne do pierwotnego ropnia – wpływając w ten sposób na decyzje terapeutyczne. Jest również badaniem lepiej różnicującym martwicę rozplywną wewnątrz ropnia od innych kolekcji płynu w obrębie oun, co ma znaczenie przy różnicowaniu ropni z torbielami i nowotworami oun. Pojawienie się treści ropnia w pmr komór (w przypadku przebiccia ropnia) jest także widoczne w RM, jako hiperintensywny w stosunku do pmr sygnał.

Oba badania obrazowe mają podstawowe znaczenie nie tylko w rozpoznawaniu, ale także w monitorowaniu skuteczności leczenia ropni mózgu. W tym celu powinny być wykonywane wielokrotnie, na początku, w ostrym okresie choroby w odstępach jedno- dwutygodniowych, co ma na celu także pomoc w decyzji o ewentualnym rozpoczęciu leczenia chirurgicznego, w tym o reewakuacji ropnia. Po zakończeniu leczenia badania te powinny być wykonywane co 1 – 3 miesiące przez okres od pół roku do roku, a czasem nawet dłużej.

Leczenie ropni mózgu jest zadaniem dla zespołu, w skład którego obok specjalisty chorób zakaźnych, wchodzić powinien neurochirurg, neurolog i neuroradiolog. W procesie terapeutycznym można wyróżnić: leczenie zachowawcze, leczenie operacyjne oraz leczenie wspomagające (przeciwzapalne, przeciwobrzękowe i przeciwdrgawkowe). U większości chorych optymalne wydaje się połączenie diagnostycznej i odbarczającej aspiracji treści ropnia z przedłużoną antybiotykoterapią, która w takich przypadkach może być najczęściej terapią celowaną, opartą o wynik badania mikrobiologicznego.

Próbie leczenia zachowawczego ropnia mózgu możemy podjąć, gdy chory jest stabilny klinicznie, nie występuje zagrożenie życia lub gdy mamy do czynienia z przeciwwskazaniami do leczenia operacyjnego. Możemy również ją podjąć gdy mamy do czynienia z trudnym dostępem chirurgicznym lub ropniami mnogimi, gdy ropień jest mały (< 2 cm), położony w dobrze unaczynionym regionie oun lub dotyczy wczesnej fazy ropnia, gdy jest on ograniczony do nacieku zapalnego. Pamiętać musimy, że zawsze w takich sytuacjach jesteśmy skazani na antybiotykoterapię empiryczną oraz zwiększone ryzyko nagłego pogorszenia stanu pacjenta np. w wyniku przebiccia ropnia do światła komory.

Wybór metody leczenia chirurgicznego zależy od przebiegu klinicznego, wielkości i lokalizacji ropnia. W użyciu są dwa sposoby postępowania zabiegowego: aspiracja i wycięcie ropnia. Aspiracja jako zabieg mniej obciążający, wykonywana jest częściej u cho-

rych w ciężkim stanie, z głębokimi deficytami neurologicznymi. W związku z zastosowaniem techniki stereotaktycznej, aspiracja jest procedurą wykonywaną z wyboru celem zdrenowania trudno dostępnych ropni, zlokalizowanych w pniu mózgu, wzgórzu bądź zwojach podstawy. Do wad aspiracji należą ponowne nagromadzenie treści ropnej, niekompletne zdrenowanie ropnia oraz ryzyko, że wielokrotne zabiegi spowodują większe uszkodzenie mózgu i przedłużą czas hospitalizacji. U większości chorych wykonuje się jeden lub dwa zabiegi. Wycięcie ropnia jest metodą usuwającą w całości zmianę chorobową. Zabieg ten jako bardziej obciążający wykonywany jest głównie u chorych w dobrym stanie neurologicznym. Jest metodą z wyboru w leczeniu ropni grzybiczych i tylnego dołu czaszki.

Antybiotykoterapia wstępna, niezależnie od tego czy stosujemy ją łącznie z leczeniem zabiegowym, powinna obejmować patogeny będące najczęstszą przyczyną ropni mózgu. Nie do przecenienia jest tutaj wiedza o etiologii zakażenia będącego ogniskiem pierwotnym dla infekcji wewnątrzczaszkowej. Wybrane antybiotyki powinny dobrze penetrować do ropnia. Pamiętać należy, że dobra penetracja do pnr nie jest jednoznaczna z penetracją do jamy ropnia oraz o możliwości dezaktywacji leku przez ropę. Oczywiście jest także, że trzeba wybierać leki pozbawione neurotoksyczności, a w szczególności nie obniżające progów drgawkowego. W praktyce najczęściej stosowane są zestawy 2 lub 3 antybiotyków wybierane spośród następującej grupy leków: penicylina krystaliczna, metronidazol, cefotaksym, ceftazydym i wankomycyna. Prawidłowa antybiotykoterapia (potwierdzona poprawą stanu neurologicznego, ustąpieniem w badaniu przedmiotowym i badaniach dodatkowych cech stanu zapalnego i poprawą w zakresie TK lub RM) powinna trwać od 6 do 8 tygodni. Według rekomendacji wielu ośrodków chory przez kolejne 2-3 miesiące powinien otrzymywać chemioterapeutyki doustne, celem całkowitej eradykacji zakażenia. W każdym przypadku decyzja o długości trwania antybiotykoterapii powinna być podejmowana indywidualnie, w oparciu o lekowrażliwość bakterii, wielkość ropnia, skuteczność zabiegu odbarczającego i odpowiedź pacjenta na zastosowane leczenie.

Podsumowując należy stwierdzić, że ropień mózgu jest nadal chorobą o ciężkim przebiegu klinicznym, często zagrażającym życiu pacjenta. Wdrożenie antybiotyków spowodowało obniżenie śmiertelności towarzyszącej temu schorzeniu do 20-40%. Kolejnym krokiem poprawiającym wyniki leczenia okazała się, przeżywająca dynamiczny rozwój do chwili obecnej diagnostyka obrazowa. Jej zastosowanie w połączeniu z nowymi technikami neurochirurgicznymi pozwala na obniżenie śmiertelności do 0-25%. Niestety nadal wysoki jest odsetek następstw neurologicznych, które występują u 30-55% chorych. Wczesna diagnostyka pozostaje kluczowa dla wyników leczenia, ponieważ głębokość deficytów neurologicznych zależy w większym stopniu od stanu chorego przed włączeniem leczenia niż od rodzaju zastosowanej terapii.

PIŚMIENNICTWO:

- Theophilo F, Markakis E, Theophilo L: Childs. Nerv. Syst., 1985, 1, 324-328
 2- Nicolosi A, Hauser WA, Musicco M: Neuroepidemiology, 1991, 10, 122-131 de
 Louvois J: J. Antimicrob. Chemother., 1978, 4, 395-413 Mampalam TJ,
 Rosenblum ML: Neurosurgery, 1988, 23, 451-458 Davidson MD, Steiner RE: AJNR,
 1985, 6, 499-504 Apuzzo MLJ, Sabshin JK: Neurosurgery, 1983, 12, 277-285
 • Canale DJ: J. Neurosurg. 1996, 84, 133-142
 • Woods CR Jr: Adv. Pediatr. Infect. Dis., 1995, 10, 41-79
 • Zeidman SM, Geisler FH, Olivi A: Neurosurgery, 1995, 36, 189-193
 - Holm S, Kourtopoulos H: Scand. J. Infect. Dis., 1985, 44, 68-70
 1- Lunardi P, Acqui M, Ferrante L: Neurosurg. Rev., 1993, 16, 189-196
 2- Takeshita M, Kagawa M, Yonetani H.: Neurol. Med. Chir.,
 1992, 32, 667¹³- Boom WH, Tuazon CU: Rev. Infect. Dis., 1985, 7, 189-199

Leczenie ropnych zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu

Jerzy Janeczko, Zbigniew Olejnik, Witold Przyłkowski i Dariusz Lipowski.

Klinika Chorób Zakaźnych dla Dorosłych Akademii Medycznej w Warszawie

Wśród bakteryjnych neuroinfekcji ośrodkowego układu nerwowego ponad 90% stanowią ropne zapalenia opon mózgowo – rdzeniowych i mózgu (rzoim). Są one chorobą pierwotną, ograniczoną wyłącznie do ośrodkowego układu nerwowego (oun) lub wtórną zmianą narządową rozwijającą się w przebiegu posocznicy. Rozwijają się z reguły w wyniku uaktywnienia się wewnątrzustrojowego źródła zakażenia (zakażenia endogenne) u osób z obniżoną odpornością immunologiczną miejscową i ogólną, głównie humoralną. Pierwotne ognisko zlokalizowane jest najczęściej w zmienionych zapalnie migdałkach podniebieniowych, w zatokach obocznych nosa, w uchu środkowym, w zatoce jamistej, w zębach, na zastawkach serca itp. Rzadziej rozwijają się w następstwie kolonizacji jamy nosowo – gardłowej, bądź innego odcinka górnych dróg oddechowych, przez bakterie Gram dodatnie, posiadające białka powierzchniowe o właściwościach adhezyjnych, umożliwiające im przyleganie do receptorów komórek błony śluzowej lub Gram ujemne, wyposażone w strzępki (fimbrie) i włoski (pili). Dużą rolę przypisuje się wytwarzanym przez niektóre bakterie np. *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* itp. enzymom proteolitycznym rozkładającym IgA¹ oraz otocze polisacharydowej uczestniczącej nie tylko w procesie kolonizacji, ale i w szerzeniu się zakażenia. Wielocukry otoczki zmieniają strukturę składowej C³d dopełniacza i w ten sposób hamują aktywację klasycznej drogi komplementu, a co za tym idzie fagocytozę bakterii. Drobnoustroje, które nie zostały zniszczone przez lokalne mechanizmy obronne, po sforsowaniu nabłonka przedostają się do łożyska naczyniowego i w okresie bakteriemii mogą dotrzeć do różnych narządów i układów, w tym także do splotów naczyniowych i przestrzeni płynowych oun. Sprzyja temu wyjątkowo wysoki przepływ naczyniowy tej okolicy wynoszący ok. 200 ml/g tkanki/ min. W przestrzeni podpajęczynówkowej miejscowe mechanizmy obronne nie są już w stanie zapobiec rozwojowi reakcji zapalnej, głównie z powodu niskiego stężenia immunoglobulin i niedostatecznej aktywności dopełniacza w płynie mózgowo – rdzeniowym (pmr) (9,10). Rzadko rzoim rozwija się w wyniku przedostania się zarazków do jamy czaszki bezpośrednio przez blaszkę sitowia. Sprzyjają zapaleniu nieprawidłowe połączenia przestrzeni oponowej z jamą nosowo – gardłową, zatokami bocznymi nosa itp. Sporadycznie może rozwinąć się w wyniku bezpośredniego wniknięcia zarazków do krwi np. w czasie zabiegu neurochirurgicznego, diagnostycznego, po złamaniu podstawy czaszki w przednim dole z przerwaniem ciągłości opon itp.

W zakażeniach bakteriami Gram dodatnimi proces zapalny inicjowany jest przez składniki błony komórkowej rozpadających się bakterii (peptydoglikan, kwas teichoowy), a w zakażeniach bakteriami Gram ujemnymi przez liposacharydy (endotoksyny). Powodują one aktywację komórek śródbłonna naczyń i zapoczątkowują kaskadowy proces uwalniania cytokin, głównie interleukiny 1 (IL-1) i kachektyny, czynnika martwicy nowotworów (TNF). Aktywacja cząstek adhezyjnych powoduje przyleganie, a następnie diapedezę coraz to większej liczby granulocytów obojętnochłonnych do pmr. Pobudzone granulocyty obojętnochłonne uwalniają wolne rodniki tlenowe i inne mediatory reakcji zapalnej. Są to: interleukina 6 i 8 (IL-6 i IL-8), czynnik aktywujący płytki (PAF), czynnik pobudzający tworzenie kolonii granulocytów (G-GSF), produkty rozpadu kwasu arachidonowego – prostaglandyny (głównie PG²) i leukotrieny (głównie B⁴), białka ostrej fazy, a wśród nich białko C reaktywne (CRP) itp. Produkty reakcji zapalnej są największym niebezpieczeństwem dla bardzo delikatnej struktury komórek oun. Wywołują one między innymi uszkodzenie śródbłonna na-

czyn włośowatych i aktywację układu krzepnięcia prowadząc do zakrzepicy, upośledzonego przepływu krwi, zmiany przepuszczalności naczyń włośowatych podpajęczynówkowych, zmienionej dynamiki przepływu pmr, utrudnienia resorpcji pmr i wzrostu ciśnienia śródczaszkowego, spadku mózgowego ciśnienia perfuzyjnego, niedotlenienia, wymuszającego metabolizm beztlenowy i prowadzącego do wzrostu stężenia mleczanów i obniżenia stężenia glukozy w pmr oraz utraty zdolności autoregulacyjnych oun (15). Wzrost ciśnienia śródczaszkowego spowodowany jest obrzękiem mózgu pochodzenia naczyniowego, cytotoksycznego i śródmiaższowego. Obrzęk naczynioruchowy wywołany jest zwiększoną przepuszczalnością naczyń, przenikaniem z osocza do przestrzeni pozakomórkowej tkanki nerwowej wody i elektrolitów (głównie sodu) oraz białek osocza. Obrzęk cytotoksyczny spowodowany jest uszkodzeniem komórek oun przez czynniki toksyczne uwalniane z granulocytów obojętnochłonnych, metabolity kwasu arachidonowego i innych wielonienasyconych kwasów tłuszczowych oraz wolne rodniki tlenowe. Może on być nasilony przez nadmiernie wydzielanie hormonu antydiuretycznego (ADH). Obrzęk śródmiaższowy jest wyrazem upośledzenia odpływu pmr, co w konsekwencji prowadzi do gromadzenia się wody i sodu w przestrzeni wewnątrz i pozakomórkowej. Te wszystkie złożone procesy mogą doprowadzić do nieodwracalnych zmian w oun.

W leczeniu rzoim należy uwzględnić nie tylko czynnik etiologiczny wywołujący chorobę, ale i wszystkie ogniwa patogenetyczne złożonego procesu chorobowego.

Po wykonaniu nakłucia lędźwiowego i ustaleniu ropnego charakteru pmr, nie czekając na identyfikację czynnika etiologicznego, należy niezwłocznie rozpocząć empiryczne leczenie antybiotykami wykazującymi zdolność przenikania do pmr. Należy je podawać dożylnie i w dużych dawkach przez cały czas leczenia, ponieważ nawet w stanie zapalnym, w którym dochodzi do uszkodzenia fizjologicznej bariery krew – pmr, stężenie antybiotyków w pmr jest o wiele niższe niż w surowicy i wynosi np. dla cefepimu (cefalosporyna IV generacji) do 65%, dla cefotaksymu i ceftazydymu (cefalosporyny III generacji) odpowiednio do 25% i 20%, dla amikacyny (aminoglikozyd) do 20%, dla cefoperazonu (cefalosporyna III generacji) zaledwie do 3% i dlatego też ten ostatni antybiotyk nie jest zalecony w leczeniu rzoim (1,2,6,17).

Leczenie przeciwbakteryjne może skutecznie wyeliminować zarazki, ale nie może zahamować reakcji zapalnej toczącej się już w oponach. W wyniku gwałtownego rozpadu bakterii i uwalniania czynnych substancji np. endotoksyn, nierzadko dochodzi nawet do nasilenia reakcji zapalnej, objawiającej się pogorszeniem stanu ogólnego i pojawieniem się lub pogłębieniem już istniejących zaburzeń świadomości, drgawek itp. Objawy te można złagodzić podając glikokortykosterydy, które hamują proces zapalny praktycznie na każdym jego etapie poprzez hamowanie syntezy i działania wielu mediatorów zapalnych, a ponadto zmniejszając częstość występowania trwałych powikłań (4,10,14). Warunkiem skuteczności działania glikokortykosterydów jest podanie pierwszej dawki przed zastosowaniem antybiotyku lub najpóźniej jednocześnie z nim. Podaje się je zwykle dożylnie przez pierwsze 2 – 3 dni leczenia np. deksametazon w dawce 0,6 – 0,8 mg/kg mc/24 h (40 – 60 mg) w 3 – 4 dawkach. Niektórzy zalecają podawanie pentoksyfiliny, niesterydowych leków przeciwzapalnych, niektórych przeciwciał np. anty CD18, anty TNF, anty IL-1 itp. (4)

W Polsce ok. 80 % wszystkich rzoim. wywołują *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* i *Haemophilus influenzae* (4,7,18). Ok. 90 % szczepów *Neisseria meningitidis*, ok. 80 % *Streptococcus pneumoniae* i ok. 70 % *Haemophilus influenzae* wykazuje w dalszym ciągu wrażliwość na penicyliny i w nieznacznie większym odsetku na cefalosporyny III i IV generacji (5,7,13). Dlatego też empiryczne leczenie rzoim należy rozpoczynać od podania cefotaksymu (Biotaksym) – 1,5 – 2, 0 g co 6 h lub ceftriaksonu (Biotrakson) – 1,0 – 1,5 g co 12 h w dożylnym wlewie kroplowym i benzylopenicyliny (Penicillin G) – 4 – 6 mln. j. co 6h. w długotrwałym dożylnym wlewie kroplowym. U chorych, u których stan ogólny ulega poprawie, leczenie to należy kontynuować przez 10 – 14 dni, a u tych, u których uzyskano bardzo dobry efekt terapeutyczny i ustalono czynnik etiologiczny wrażli-

wy na dotychczas stosowane antybiotyki, po tygodniowym leczeniu, ze względów ekonomicznych, można rozważyć celowość ewentualnego ograniczenia leczenia do jednego antybiotyku.

U chorych, u których uzyskano weryfikację czynnika etiologicznego, ale nie otrzymano jeszcze antybiogramu i u których stan ogólny i neurologiczny po 2 dniowym leczeniu nie uległ poprawie, a nawet pogorszył się, należy wziąć pod uwagę możliwość zakażenia szczepami opornymi na dotychczas stosowane antybiotyki i nie czekając na antybiogram przerwać dotychczasowe leczenie i podać antybiotyk z grupy karbapenemów np. Meronem w dawce 2,0 g co 8 h w dożylnym wlewie kroplowym i ewentualnie aminoglikozyd np. Amikin w dawce 1,0 – 1,5 g co 24 h w dożylnym wlewie kroplowym, gdyż oporność bakterii na aminoglikozydy w ciągu ostatnich 10 lat nie uległa istotnym zmianom (3, 8). Monoterapię karbapenemem należy kontynuować przez ok. 14 dni, natomiast złożoną terapię nieco krócej ze względu na zmniejszające się z dnia na dzień przenikanie Amikinu do pmr i na powszechnie znane jego działanie niepożądane (3).

Jeżeli czynnikiem etiologicznym rzoim jest *Streptococcus pneumoniae* wykazujący niewielką wrażliwość na penicylinę, a 4-dniowe leczenie penicyliną i cefalosporyną III generacji nie przyniosło pożądanych efektów terapeutycznych, należy zaprzestać podawania penicyliny i do cefalosporyny dołączyć antybiotyk glikopeptydowy np. Vancocin w dawce 1,0 – 2,0 g co 12 h w dożylnym wlewie kroplowym i tego typu leczenie kontynuować przez 10 – 14 dni (11), albo też zaprzestać dotychczas stosowane leczenie i podać Meronem w skojarzeniu z Amikinem.

U chorych u których nie uzyskano weryfikacji bakteriologicznej i u których stan kliniczny po 3 – 4 dniowym leczeniu nie uległ poprawie, a nawet pogorszył się, należy pomyśleć o innych drobnoustrojach rzadziej wywołujących rzoim np. *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus vulgaris*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter* itp. i zmodyfikować dotychczasowe leczenie podając równocześnie 3 lub 4 leki np. cefalosporynę III generacji, aminoglikozyd, karboksypenicylinę i metronidazol wg schematu:

- ceftazydym (Fortum) 2,0 g co 6 h lub ceftriakson (Biotrakson) 2,0 g co 6 h w dożylnym wlewie kroplowym
 - aminoglikozyd (Amikin) 1,0 – 1,5 g co 24 h, rzadko Netromycin 0,3 – 0,4 g co 24 h w dożylnym wlewie kroplowym
 - karboksypenicylinę (Carbenicillin) 5,0 – 6,0 g co 6 h, rzadko Timentin 4,0 – 5,0 co 6 h w dożylnym wlewie kroplowym
 - metronidazol (Metronidazol) 0,5 g co 8 h w dożylnym wlewie kroplowym
- Leczenie tymi antybiotykami należy kontynuować przez 10 – 14 dni

W zakażeniach tlenowymi pałeczkami Gram ujemnymi, florą mieszaną i gronkowcami (z wyjątkiem szczepów metacyliinoopornych), zaleca się podawanie karbapenemów, fluorochinolonów i monobaktamów, mimo nienajlepszego ich przenikania do pmr (2,16) Meropenem podaje się w dawce 2,0 g co 6 h, cyprofloksacynę (Ciprobay) 0,4 g co 12 h, a monobaktan (Azactan) 2,0 g co 6 – 8 h w dożylnym wlewie kroplowym pamiętając, że monobaktamy są aktywne wyłącznie w stosunku do tlenowych bakterii Gram ujemnych. Karbapenemy i chinolony można stosować w monoterapii lub w skojarzeniu z aminoglikozydami w dawce powszechnie stosowanej. Karbapenemów nie należy stosować łącznie z cefalosporynami.

Bardzo dobre efekty terapeutyczne uzyskano w leczeniu rzoim wywołanych przez *Neisseria meningitidis* stosując trowafloksacynę – fluorochinolon IV generacji. Antybiotyk ten aktywny jest wobec bakterii Gram ujemnych, Gram dodatnich i beztlenowych, w tym także szczepów *Streptococcus pneumoniae* opornych na penicylinę i cefalosporyny. Został on zarejestrowany w Polsce, ale dotychczas nie wprowadzono go na rynek. Ostatnio zarejestrowano w kraju jeszcze jeden fluorochinolon IV generacji – moksyfloksacynę, aktywną wobec szczepów *Streptococcus pneumoniae* (w tym szczepów opornych na penicylinę), Sta-

Staphylococcus aureus (także szczepów opornych na metycyliny), *Enterococcus* (w tym szczepów opornych na glikopeptydy) oraz innych pałeczek Gram ujemnych z rodziny *Enterobacteriaceae*, źle penetrujący jednak do pmr. Być może w niedalekiej przyszłości antybiotyki z tej grupy znajdą zastosowanie w leczeniu rzoim.

W leczeniu rzoim wywołanych przez gronkowce metycylinowrażliwe i pałeczkę ropy błękitnej zaleca się podawanie ceftazydymu (Fortum) lub ceftriaksonu (Biotrakson) i aminoglikozydu (Amikin) w dożylnym wlewie kroplowym. W leczeniu rzoim wywołanych przez gronkowce metycylinooporne antybiotykiem z wyboru jest glikopeptyd (Vancocin) w dawce 1,0 – 2,0 g co 12 h w dożylnym wlewie kroplowym w monoterapii lub w skojarzeniu z aminoglikozydami, rzadziej z fluorochinolonami i bardzo rzadko z rifampicyną.

W związku z wprowadzeniem antybiotyków nowej generacji dobrze przenikających do pmr wyjątkowo rzadko zachodzi konieczność dokanałowego ich podawania. W zakażeniach pałeczkami Gram ujemnymi tlenowymi i beztlenowymi można podać karbenicylinę w jednorazowej dawce 75 – 100 mg lub amikacynę 25 mg, a w zakażeniach gronkowcami – wankomycynę 5–20 mg. Antybiotyki te podaje się po uprzednim rozcieńczeniu w ok. 2 ml 0,9% roztworu NaCl lub wody podwójnie destylowanej stosując technikę barbotażu.

Leczenie przyczynowe ostrej fazy rzoim wywołanego przez *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* i *Streptococcus pneumoniae* trwa przeciętnie ok. 2 tygodni. Nie wymagają dalszego leczenia przyczynowego choroby, u których stan ogólny i neurologiczny powrócił do stanu prawidłowego i u których w pmr nie stwierdza się zmian zapalnych lub są one niewielkie. U chorych, u których w stanie ogólnym i neurologicznym uzyskano znaczną poprawę, a w pmr wyraźne zmniejszenie odczynu zapalnego, z konwersją w składzie odsetkowym krwinek białych (przewaga limfocytów), należy odstawić dotychczas stosowane antybiotyki i podać doustnie Biseptol 4802 tabl. co 8 h – 12 h przez okres 10 – 14 dni.

W rzoim wywołanym przez pałeczki tlenowe Gram ujemne, florę mieszaną lub gronkowce, przebieg choroby jest najczęściej cięższy i dlatego też leczenie przyczynowe trwa dłużej, przeciętnie 2–3 tygodnie i w razie braku poprawy modyfikowane w oparciu o stan ogólny i neurologiczny chorego, badanie ogólne pmr, posiewy i aktualne antybiogramy. Chorem tym po zaprzestaniu dotychczas stosowanego leczenia podaje się najczęściej doustnie Biseptol 4802 tabl. co 8 h przez 10–14 dni, rzadziej chloramfenikol (Paraxim) 1,0 g co 8 – 12h w dożylnym wlewie kroplowym lub Chlorocid 1,0 g co 8h domięśniowo przez 7–14 dni.

Jeżeli w czasie antybiotykoterapii uzyskano poprawę stanu ogólnego, neurologicznego i zmniejszenie zmian zapalnych w pmr, ale po kilku dniach doszło do pogorszenia się stanu ogólnego, neurologicznego i nasilenia zmian zapalnych w pmr, należy przerwać dotychczas stosowane leczenie i podać chloramfenikol (Paraxim) 1,0 g co 8h w dożylnym wlewie kroplowym. Przyczyną niepowodzenia terapii jest najprawdopodobniej zła penetracja antybiotyków do oun, spowodowana poprawą bariery krew-pmr, w wyniku dotychczas stosowanej antybiotykoterapii, a chloramfenikol penetruje dobrze do oun także przy nieuszkodzonej barierze naczyniowej. Jeżeli w kilka dni po zaprzestaniu antybiotykoterapii dochodzi do nawrotu choroby to także należy podać chloramfenikol.

Chorem o najcięższym przebiegu rzoim, niezależnie od czynnika etiologicznego je wywołującego, ze względu na lub bezwzględny, całkowity lub selektywny niedobór immunoglobulin, z posocznicą, schorzeniami autoimmunologicznymi (trombocytopenia, neutropenia) itp. wskazana jest immunoterapia bierna. Podaje się np. Bioglobulinę w dawce 0,2 – 0,3 g/kg mc, Gamma-Veninę 0,1 – 0,2 g/kg mc, Sandoglobulinę 0,2 – 0,5 g/kg mc, Weinoglobulinę 0,1 – 0,4 g/kg mc itp. z reguły w powolnym dożylnym wlewie kroplowym, co najmniej dwukrotnie (pierwsza dawka jak najwcześniej). Sporadycznie można zastosować immunoglobulinę dokanałowo.

U wszystkich chorych z rzoim stosuje się leczenie objawowe. Wobec tego, że u zdecydowanej większości chorych występuje mniej lub bardziej nasilony obrzęk mózgu stosuje się leczenie przeciwobrzękowe. Najczęściej podaje się 20% roztwór mannitolu 250 ml w dożylnym wlewie kroplowym 1–4 razy w ciągu doby, rzadziej deksametazon (Decadron)

8 mg co 8 h dożylnie lub domięśniowo oraz furosemid 20–40 mg dożylnie pod koniec pierwszej kroplówki z mannitolu. Jeżeli objawy obrzęku mózgu nie ustępują, a nawet nasilają się, o czym świadczy utrata przytomności lub jej pogłębienie, zwolniony i nieregularny rytm oddychania, bradykardia, tarcza zastoinowa nerwu wzrokowego itp. to należy zwiększyć dawkę Dekadronu i podawać go np. wg schematu: 16 mg dożylnie, po 2–4 h dalsze 8 mg, a następnie 4–8 mg co 6–8 h oraz furosemid 20 mg pod koniec każdej kroplówki aż do ustąpienia obrzęku mózgu. Jeżeli leczenie to nie przynosi pożądanych efektów to w Oddziale Intensywnej Opieki Medycznej można zastosować hiperwentylację, nie obniżając jednak ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla poniżej 25 mmHg.

Istotny wpływ bezpośredni na wyniki leczenia mają działania poprawiające przepływ mózgowy i utlenowanie tkanki nerwowej. Do działań takich zalicza się leczenie niewydolności krążenia, uzupełnienie objętości krwi krążącej we wstrząsie, leczenie substytucyjnej krwi u osób z ciężką niedokrwistością, podawanie optymalnej ilości płynów elektrolitowych i koloidowych zapewniających optymalną lepkość krwi, leczenie niewydolności oddechowej (tlenoterapia, intubacja i tlenoterapia lub podłączenie chorego do respiratora), obniżenie podwyższonej ciepłoty ciała oraz profilaktykę przeciwdrgawkową, ponieważ u ok. 30% chorych występują napady drgawek. Chorym z drgawkami podaje się diazepam (Relanium) 10–20–30 mg dożylnie i luminal 0,2 g domięśniowo oraz klonazepam 1 mg co 8 h domięśniowo, a stan drgawkowy przerywa się zwiotczeniem chorego przy pomocy pawulononu lub arduanu (0,04–0,08 mg/kg mc dożylnie), po uprzednim zaintubowaniu w włączeniu sztucznej wentylacji respiratorem. Po wyprowadzeniu ze stanu drgawkowego należy stosować farmakoterapię przeciwdrgawkową i podawać 0,2 g luminalu domięśniowo co 24 h i 1,0 mg klonazepamu dożylnie co 8 h. Po wyprowadzeniu chorego z ostrego okresu choroby, w II fazie leczenia poprawę przepływu mózgowego i utlenowania tkanki nerwowej uzyskuje się podając Cavinton, Nootropil, Recervin itp. W tym okresie u niektórych chorych można już rozpocząć wczesną rehabilitację ruchową.

Chorych z ostrą niewydolnością oddechową należy zaintubować, podłączyć do respiratora i stosować tlenoterapię pod kontrolą pCO_2 , stężenie którego nie powinno być niższe od 25 mm Hg.

Leczenie ostrej lewokomorowej niewydolności krążenia jest indywidualne i sprowadza się do podawania dekstranu niskocząsteczkowego 500–1000 ml co 24 h w dożylnym wlewie kroplowym trwającym ok. 2 h, dopaminy 2–15 mg/min lub dobutaminy 2–20 mg/min dożylnie, adrenaliny dożylnie lub dosercowo, kardioselektywnego β bloкера np. beloku, leku arytmicznego np. kordaronu oraz atropiny, fentanylu, morfiny itp. według indywidualnych wskazań. Niekiedy należy zastosować defibrylację lub czasową elektrostymulację serca.

U chorych z wewnątrznaczyniowym wykrzepianiem i zespołem Waterhouse-Friderichsena leczenie sprowadza się do hamowania tego procesu i uzupełniania czynników krzepnięcia. Stosuje się heparynę, środki antyfibrynolityczne, osocze, albuminy, świeżą krew itp. według indywidualnych wskazań. Osobom pobudzonym psychoruchowo podaje się środki uspokajające np. benzodwiazepiny (Dormicum) 5–10 mg domięśniowo lub więcej według indywidualnych wskazań.

Chorym z moczówką prostą podaje się wazopresynę (Pitressin) 10j domięśniowo lub podskórnie w pierwszej dobie leczenia, a następnie w dawkach uzależnionych od dobowej diurezy. Chorym z zespołem niewłaściwego wydzielania ADH (SIADH), nazywanym także zespołem Schwartz-Barttera, którego najbardziej typowymi objawami są: zwiększenie masy ciała, spadek osmolarności moczu i hiponatremia, ogranicza się podawanie płynów, z wyjątkiem chorych z niedociśnieniem tętniczym i hipowolemią, oraz wywołuje diurezę osmotyczną podając 20% roztwór mannitolu i 10% roztwór NaCl według indywidualnych wskazań, zwiększa dawki deksametazonu i podaje enkortolon np. Ultrakorten H wykazujący silne działanie przeciwzapalne w dawce 300 mg lub więcej dożylnie w ciągu 24 h.

Chorzy, u których występują zaburzenia w odpływie pmr, wytworzyło się wodogłowie pozapalne, ropień mózgu itp. wymagają leczenia neurochirurgicznego.

Leczenie ogólne rzoim sprowadza się do bardzo troskliwej pielęgnacji chorych, dostarczenia im wysokokalorycznego pożywienia (osobom nieprzytomym przez zgłębnik), niekiedy żywienia pozajelitowego oraz leczenia bilansowo-wyrównawczego opartego na wielokierunkowych badaniach biochemicznych wykonywanych na bieżąco. Chorym nieprzytomym należy założyć do pęcherza moczowego na stałe cewnik Foley'a.

Niezależnie od czynnika etiologicznego wywołującego rzoim, rokowanie jest poważne ze względu na wysoką śmiertelność, wynoszącą ok. 20%, (największa w zakażeniach wywołanych przez *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus*, mniejsza w zakażeniach wywołanych przez *Streptococcus pneumoniae* i najmniejsza w zakażeniach wywołanych przez *Neisseria meningitidis* i *Haemophilus influenzae*), następstwa neurologiczne występujące u ok. 7,5% chorych (niedowłady spastyczne lub porażenia, afazja ruchowa, czuciowa, mieszana, padaczka, zaburzenia słuchu czuciowo-ruchowe, ropnie mózgu, zaburzenia mózdkowe, zaburzenia osobowości, trudności w nauce itp.) oraz nawroty choroby występujące u ok. 3–5% chorych (7, 12).

Zapobieganie rzoim polega na wczesnym wykrywaniu zakażeń, izolacji chorych i ich skutecznym leczeniu oraz usuwaniu czynników sprzyjających zakażeniu. Na terenach endemicznych rzoim wywołanych przez *Neisseria meningitidis* np. w Ameryce Południowej z dobrym skutkiem stosuje się masowe szczepienia ochronne. Nie ma potrzeby ich stosowania w Polsce, ale w kraju można szczepić wybrane grupy ludności. Dostępne są szczepionki monowalentne (A lub C), biwalentne (A + C) i poliwalentne (A + C + W 135 + Y). W wielu krajach zachodnich powszechnie są stosowane szczepienia przeciw *Haemophilus influenzae* typ lb np. ACT HIB, TETRA HIB, PRO-OMP itp., które np. w USA doprowadziły do znacznego zmniejszenia częstości występowania chorób wywołanych tą bakterią. W grupach zwiększonego ryzyka można stosować szczepienia przeciw *Streptococcus pneumoniae* szczepionką poliwalentną zawierającą antygeny polisacharydowe otoczkowe 14–23 serotypów paciorkowca np. Pneumovax, Imovax Pneumo 23 itd. U osób mających bliski kontakt z chorymi na rzoim wywołane przez *Haemophilus influenzae* lub *Neisseria meningitidis* można podawać profilaktycznie doustnie Rifampicynę 0,3 g co 12 h przez 2–4 dni, z wyjątkiem kobiet ciężarnych, niekiedy Ceftriaxon 250 mg co 12 h lub Ciprofloksacynę, która skutecznie eliminuje nosicielstwo *Neisseria meningitidis*, ale nie powinna być stosowana u osób poniżej 18 roku życia.

Piśmiennictwo

1. Briedis D.J., Robson H.G.: *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 1978, 13, 1042–1043
2. Dzierżanowska D.: „Antybiotyki cefalosporynowe”. *Medycyna Praktyczna*, 1999, II wydanie, 46–51
3. Edson R.S., Terrell C.L.: *Mayo Clinic Proceedings*, 1999, 74, 519–528
4. Konior R.: *Medycyna Praktyczna*, 1997, 5, 111–116
5. Lipowski D., Olejnik Z., Janeczko J. i wsp.: *Terapia*, 1997, 1, 43, 3–10
6. Marshall W.F., Blair E.: *Mayo Clinic Proceedings*, 1999, 74, 187–195
7. Olejnik Z., Lipowski D., Przyjałkowski W. i wsp.: *Pol. Tyg. Lek.*, 1994, 49, 459–461
8. Peetermans W.E., Bobbaers H.J.: *J. Chemother.*, 1996, 8, 17–24
9. Philips J.E., Simor A.E.: *Postgrad. Med.*, 1998, 103, 102–117
10. Quangiarello V.J., Scheld W.M.: *New. Engl. J. Med.*, 1992, 327, 864–872
11. Quangiarello V.J., Scheld W.M.: *New. Engl. J. Med.*, 1997, 336, 708–716
12. Schuchat A., Robinson K., Wenger J.D.: *New. Eng. J. Med.*, 1997, 337, 970–976
13. Skoczyńska A., Puławska-Żak Z., Hryniewicz W.: *Pediatrics Polska*, 1998, 73, 361–367
14. Townsend G.C., Scheld W.M.: *J. Antimicrob. Chemother.*, 1996, 37, 1051–1061
15. Tunkel A.R., Scheld W.M.: *Clin. Microbiol. Rev.*, 1993, 6, 118–136
16. Walker R.C.: *Mayo Clinic Proceedings*, 1999, 74, 1030–1037
17. Wright A.J.: *Mayo Clinic Proceedings*, 1999, 74, 290–307
18. Wrodycki W., Kuydowicz J., Krakowiak M. i wsp.: *Pol. Tyg. Lek.*, 1994, 49, 462–464

Neuroinfekcje

8 mg co 8 h dożylnie lub domięśniowo oraz furosemid 20–40 mg dożylnie pod koniec pierwszej kroplówki z mannitolu. Jeżeli objawy obrzęku mózgu nie ustępują, a nawet nasilają się, o czym świadczy utrata przytomności lub jej pogłębienie, zwolniony i nieregularny rytm oddychania, bradykardia, tarcza zastoinowa nerwu wzrokowego itp. to należy zwiększyć dawkę Dekadronu i podawać go np. wg schematu: 16 mg dożylnie, po 2–4 h dalsze 8 mg, a następnie 4 – 8 mg co 6–8 h oraz furosemid 20 mg pod koniec każdej kroplówki aż do ustąpienia obrzęku mózgu. Jeżeli leczenie to nie przynosi pożądanych efektów to w Oddziale Intensywnej Opieki Medycznej można zastosować hiperwentylację, nie obniżając jednak ciśnienia parcjalnego dwutlenku węgla poniżej 25 mmHg.

Istotny wpływ bezpośredni na wyniki leczenia mają działania poprawiające przepływ mózgowy i utlenowanie tkanki nerwowej. Do działań takich zalicza się leczenie niewydolności krążenia, uzupełnienie objętości krwi krążącej we wstrząsie, leczenie substytucyjne krwią u osób z ciężką niedokrwistością, podawanie optymalnej ilości płynów elektrolitowych i koloidowych zapewniających optymalną lepkość krwi, leczenie niewydolności oddechowej (tlenoterapia, intubacja i tlenoterapia lub podłączenie chorego do respiratora), obniżenie podwyższonej ciepłoty ciała oraz profilaktykę przeciwdrgawkową, ponieważ u ok. 30% chorych występują napady drgawek. Chorym z drgawkami podaje się diazepam (Relanium) 10–20–30 mg dożylnie i luminal 0,2 g domięśniowo oraz klonazepam 1 mg co 8 h domięśniowo, a stan drgawkowy przerywa się zwiotczeniem chorego przy pomocy pawulonolu lub arduanu (0,04 – 0,08 mg/kg mc dożylnie), po uprzednim zaintubowaniu w włączeniu sztucznej wentylacji respiratorem. Po wyprowadzeniu ze stanu drgawkowego należy stosować farmakoterapię przeciwdrgawkową i podawać 0,2 g luminalu domięśniowo co 24 h i 1,0 mg klonazepam dożylnie co 8 h. Po wyprowadzeniu chorego z ostrego okresu choroby, w II fazie leczenia poprawę przepływu mózgowego i utlenowania tkanki nerwowej uzyskuje się podając Cavinton, Nootropil, Recervin itp. W tym okresie u niektórych chorych można już rozpocząć wczesną rehabilitację ruchową.

Chorych z ostrą niewydolnością oddechową należy zaintubować, podłączyć do respiratora i stosować tlenoterapię pod kontrolą pCO_2 , stężenie którego nie powinno być niższe od 25 mm Hg.

Leczenie ostrej lewokomorowej niewydolności krążenia jest indywidualne i sprowadza się do podawania dekstranu niskocząsteczkowego 500–1000 ml co 24 h w dożylnym wlewie kroplowym trwającym ok. 2 h, dopaminy 2–15 mg/min lub dobutaminy 2–20 mg/min dożylnie, adrenaliny dożylnie lub dosercowo, kardioselektywnego β blokera np. beloku, leku arytmicznego np. kordaronu oraz atropiny, fentanylu, morfiny itp. według indywidualnych wskazań. Niekiedy należy zastosować defibrylację lub czasową elektrostymulację serca.

U chorych z wewnątrznaczyniowym wykrzepianiem i zespołem Waterhouse-Friderichsena leczenie sprowadza się do hamowania tego procesu i uzupełniania czynników krzepnięcia. Stosuje się heparynę, środki antyfibrynolityczne, osocze, albuminy, świeżą krew itp. według indywidualnych wskazań. Osobom pobudzonym psychoruchowo podaje się środki uspokajające np. benzodwazepiny (Dormicum) 5–10 mg domięśniowo lub więcej według indywidualnych wskazań.

Chorym z moczówką prostą podaje się wazopresynę (Pitressin) 10j domięśniowo lub podskórnie w pierwszej dobie leczenia, a następnie w dawkach uzależnionych od dobowej diurezy. Chorym z zespołem niewłaściwego wydzielania ADH (SIADH), nazywanym także zespołem Schwartz-Barttera, którego najbardziej typowymi objawami są: zwiększenie masy ciała, spadek osmolarności moczu i hiponatremia, ogranicza się podawanie płynów, z wyjątkiem chorych z niedociśnieniem tętniczym i hipowolemią, oraz wywołuje diurezę osmotyczną podając 20% roztwór mannitolu i 10% roztwór NaCl według indywidualnych wskazań, zwiększa dawki deksametazonu i podaje enkortolon np. Ultrakorten H wykazujący silne działanie przeciwzapalne w dawce 300 mg lub więcej dożylnie w ciągu 24 h.

Chorzy, u których występują zaburzenia w odpływie pmr, wytworzyło się wodogłowie pozapalne, ropień mózgu itp. wymagają leczenia neurochirurgicznego.

Leczenie ogólne rzoim sprowadza się do bardzo troskliwej pielęgnacji chorych, dostarczenia im wysokokalorycznego pożywienia (osobom nieprzytomym przez zgłębnik), niekiedy żywienia pozajelitowego oraz leczenia bilansowo-wyrównawczego opartego na wielokierunkowych badaniach biochemicznych wykonywanych na bieżąco. Chorym nieprzytomym należy założyć do pęcherza moczowego na stałe cewnik Foley'a.

Niezależnie od czynnika etiologicznego wywołującego rzoim, rokowanie jest poważne ze względu na wysoką śmiertelność, wynoszącą ok. 20%, (największa w zakażeniach wywołanych przez *Pseudomonas aeruginosa*, *Staphylococcus aureus*, *Escherichia coli*, *Proteus*, mniejsza w zakażeniach wywołanych przez *Streptococcus pneumoniae* i najmniejsza w zakażeniach wywołanych przez *Neisseria meningitidis* i *Haemophilus influenzae*), następstwa neurologiczne występujące u ok. 7,5% chorych (niedowładny spastyczny lub porażenia, afazja ruchowa, czuciowa, mieszana, padaczka, zaburzenia słuchu czuciowo-ruchowe, ropnie mózgu, zaburzenia mózdkowe, zaburzenia osobowości, trudności w nauce itp.) oraz nawroty choroby występujące u ok. 3–5% chorych (7, 12).

Zapobieganie rzoim polega na wczesnym wykrywaniu zakażeń, izolacji chorych i ich skutecznym leczeniu oraz usuwaniu czynników sprzyjających zakażeniu. Na terenach endemicznych rzoim wywoływanych przez *Neisseria meningitidis* np. w Ameryce Południowej z dobrym skutkiem stosuje się masowe szczepienia ochronne. Nie ma potrzeby ich stosowania w Polsce, ale w kraju można szczepić wybrane grupy ludności. Dostępne są szczepionki monowalentne (A lub C), biwalentne (A + C) i poliwalentne (A + C + W 135 + Y). W wielu krajach zachodnich powszechnie są stosowane szczepienia przeciw *Haemophilus influenzae* typ 1b np. ACT HIB, TETRA HIB, PRO-OMP itp., które np. w USA doprowadziły do znacznego zmniejszenia częstości występowania chorób wywołanych tą bakterią. W grupach zwiększonego ryzyka można stosować szczepienia przeciw *Streptococcus pneumoniae* szczepionką poliwalentną zawierającą antygeny polisacharydowe otoczkowe 14–23 serotypów paciorkowca np. Pneumovax, Imovax Pneumo 23 itd. U osób mających bliski kontakt z chorymi na rzoim wywołane przez *Haemophilus influenzae* lub *Neisseria meningitidis* można podawać profilaktycznie doustnie Rifampicynę 0,3 g co 12 h przez 2–4 dni, z wyjątkiem kobiet ciężarnych, niekiedy Ceftriakson 250 mg co 12 h lub Ciprofloksacyne, która skutecznie eliminuje nosicielstwo *Neisseria meningitidis*, ale nie powinna być stosowana u osób poniżej 18 roku życia.

Piśmiennictwo

1. Briedis D.J., Robson H.G.: *Antimicrob. Agents. Chemother.*, 1978, 13, 1042–1043
2. Dzierżanowska D.: „Antybiotyki cefalosporynowe”. *Medycyna Praktyczna*, 1999, II wydanie, 46–51
3. Edson R.S., Terrell C.L.: *Mayo Clinic Proceedings*, 1999, 74, 519–528
4. Konior R.: *Medycyna Praktyczna*, 1997, 5, 111–116
5. Lipowski D., Olejnik Z., Janeczko J. i wsp.: *Terapia*, 1997, 1, 43, 3–10
6. Marshall W.F., Blair E.: *Mayo Clinic Proceedings*, 1999, 74, 187–195
7. Olejnik Z., Lipowski D., Przyjałkowski W. i wsp.: *Pol. Tyg. Lek.*, 1994, 49, 459–461
8. Peetermans W.E., Bobbaers H.J.: *J. Chemother.*, 1996, 8, 17–24
9. Philips J.E., Simor A.E.: *Postgrad. Med.*, 1998, 103, 102–117
10. Quangiarello V.J., Scheld W.M.: *New. Engl. J. Med.*, 1992, 327, 864–872
11. Quangiarello V.J., Scheld W.M.: *New. Engl. J. Med.*, 1997, 336, 708–716
12. Schuchat A., Robinson K., Wenger J.D.: *New. Eng. J. Med.*, 1997, 337, 970–976
13. Skoczyńska A., Puławska-Żak Z., Hryniewicz W.: *Pediatrics Polska*, 1998, 73, 361–367
14. Townsend G.C., Scheld W.M.: *J. Antimicrob. Chemother.*, 1996, 37, 1051–1061
15. Tunkel A.R., Scheld W.M.: *Clin. Microbiol. Rev.*, 1993, 6, 118–136
16. Walker R.C.: *Mayo Clinic Proceedings*, 1999, 74, 1030–1037
17. Wright A.J.: *Mayo Clinic Proceedings*, 1999, 74, 290–307
18. Wrodycki W., Kuydowicz J., Krakowiak M. i wsp.: *Pol. Tyg. Lek.*, 1994, 49, 462–464

Gruźlica ośrodkowego układu nerwowego

Zbigniew Olejnik, Jerzy Janeczko, Dariusz Lipowski, Witold Przyjałkowski

Klinika Chorób Zakaźnych dla Dorosłych Akademii Medycznej w Warszawie

Bakteryjne zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu ze względu na charakter zmian zapalnych w płynie mózgowo-rdzeniowym (pmr) dzielimy na ropne i nieropne.

W Polsce zapalenia nieropne wywoływane są przez:

- a) prątki Kocha
- b) krętki
- c) pałeczki *Listeria monocytogenes*

Ze względu na ciężkość przebiegu choroby, wysoką śmiertelność oraz następstwa mózgowo, prowadzące nawet do trwałego inwalidztwa, wiodąca rola wśród tych neuroinfekcji przypada zapaleniom opon mózgowo-rdzeniowych, mózgu i rdzenia kręgowego etiologii gruźliczej.

Gruźlica występuje na wszystkich kontynentach i we wszystkich strefach klimatycznych naszego globu. Najczęściej jednak jej ofiarami są mieszkańcy krajów trzeciego świata, a więc ludzie niedożywieni i żyjący w złych warunkach sanitarno-higienicznych. Szacuje się, iż w każdym roku zapada na gruźlicę ok. 7–10 milionów osób, a połowę wśród nich stanowią chorzy obficie prątkujący, stanowiący zagrożenie dla otoczenia. W ostatnich latach stwierdza się jednak również wzrost zachorowalności na gruźlicę w krajach o bardzo wysokim stopniu rozwoju, między innymi w USA (1). I tak w końcu XX wieku *Mycobacterium tuberculosis* zajęły pierwsze miejsce na liście bakterii patogennych dla człowieka (17). Zapadalność na tę chorobę stawia Polskę na jednym z najgorszych miejsc w Europie; za nami plasują się tylko: Portugalia, Albania, Grecja i republiki dawnej Jugosławii.

Prognozy na najbliższą przyszłość wcale nie są optymistyczne. Z przewidywań epidemiologów wynika, że gruźlica w Polsce jeszcze przez wiele lat pozostanie ważnym problemem społecznym, wymagającym ciągłego i konsekwentnego działania całej służby zdrowia. I nie chodzi tu tylko o najczęstszą postać gruźlicy narządowej – gruźlicę płuc, ale także o jej najbardziej niebezpieczną postać kliniczną, jaką jest gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu (gzo i m) oraz rdzenia kręgowego. Niestety, znaczenie tego problemu jest na ogół niedoceniane, gdyż prawie powszechnie panuje wśród lekarzy przekonanie, że gruźlica ośrodkowego układu nerwowego (oun) występuje w kraju wyjątkowo rzadko. Pogląd ten zdają się uzasadniać stosunkowo niewielkie i od co najmniej kilkunastu lat stabilne liczby rejestrowanych w Polsce nowych zachorowań na gzo i m wśród dzieci, młodzieży i dorosłych. W roku 1985 zarejestrowano 30 przypadków, w 1990 – 25, w 1995 – 24 i w 1999 – 22 (dane z Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie). Z pełną odpowiedzialnością należy jednak stwierdzić, że podane wyżej liczby chorych nie są wiernym odbiciem stanu epidemiologicznego w tym zakresie. Bardzo dużo nie rozpoznanych za życia przypadków gzo i m umyka rejestracji, a i po śmierci nie są one weryfikowane, ponieważ w Polsce nie prowadzi się analizy statystycznej opartej na protokołach sekcji zwłok, a również bardzo często nie wykonuje się badań neuropatologicznych.

Gruźlica oun jest z reguły gruźlicą popierwotną, tzn. wtórną do istniejącego poza oun ogniska zakażenia. W warunkach depresji immunologicznej, głównie komórkowej, prątki przenoszone są drogą krwi z już istniejących w organizmie ognisk gruźlicy do opon miękkich, następnie do mózgu, a niekiedy również do rdzenia kręgowego. Ognisko, z którego następuje wtórne zakażenie zwykle umiejscowione jest w płucach i w węzłach okołoskrzelowych, znacznie rzadziej w nerkach, nadnerczach, jądrze, najądrzu, przydatkach i wyjątkowo w kościach (6, 8, 9). Niekiedy gzo i m rozwijać się może w przebiegu posocznicy gruź-

liczej, towarzyszącej już zakażeniu pierwotnemu. W tych przypadkach rozsiewem chorobowym zajęte są zwykle, poza ośrodkiem, także inne liczne narządy, jak np.: płuca, wątroba, śledziona, nerki, nadnercza, opłucna, otrzewna itd. W sporadycznych przypadkach proces gruźliczy może szerzyć się bezpośrednio z ognisk znajdujących się w kościach czaszki lub kręgow, najpierw do opony twardej mózgu lub rdzenia kręgowego i dalej już przez ciągłość względnie poprzez płyn mózgowo-rdzeniowy (pmr) może obejmować kolejno opony miękkie, mózg i rdzeń kręgowy.

U ok. 80% chorych choroba ma charakter pierwotnie przewlekły (10, 11). Rozpoczyna się objawami grypopodobnymi: stanami podgorączkowymi lub gorączką do 38°C – 39°C, niewielkimi dreszczami, bólami mięśniowymi i stawowymi, bólami głowy, utratą łaknienia, postępującym osłabieniem i potami – najczęściej nocnymi. W niektórych przypadkach występuje suchy, męczący kaszel. Objawy te mogą utrzymywać się ok. tygodnia, niekiedy nawet kilka tygodni i dopiero po tym okresie pojawiają się zaburzenia psychoneurologiczne. Rzadziej objawy te poprzedzone są dolegliwościami ze strony narządów, w których znajduje się czynne ognisko zakażenia i utrzymują się długo, niekiedy nawet przez wiele tygodni. Mogą to być np. zaburzenia w oddawaniu moczu i krwimocz, bóle jądra i najądrza, przydatków, bóle i ograniczenie ruchomości dużych stawów, postępujące osłabienie słuchu, nie mówiąc już o objawach związanych z czynną gruźlicą płuc.

U ok. 20% osób choroba ma początek ostry, wyrażający się intensywnymi dreszczami, wysoką – do ok. 40°C lub nawet wyższą ciepłotą ciała, adynamią. Objawy ze strony ośrodkowego układu nerwowego pojawiają się wcześniej, tzn. już w drugim, trzecim dniu choroby. Jeżeli uda się utrzymać chorego przy życiu w tym krytycznym, ostrym okresie, to w dalszym przebiegu proces chorobowy przybiera również postać przewlekłą. (10, 11). Niezależnie jednak od tego, czy początek choroby jest powolny czy ostry, pierwszymi objawami wskazującymi na zajęcie ośrodkowego układu nerwowego są objawy oponowe, a wtórnie do nich dołączają objawy mózgowo-rdzeniowe i w dalszej kolejności, u nielicznych chorych rdzeniowe (10, 11).

Na zespół oponowy składają się: rozpierające czaszkę bóle głowy, nudności, wymioty, sztywność karku o różnym nasileniu, aż do maksymalnego odgięcia ku tyłowi głowy i dodatnie objawy: Kerniga, Flatau, Brudzińskiego i Hermana. Objawy mózgowo-rdzeniowe charakteryzują się zaburzeniami świadomości (głównie ilościowymi), do utraty przytomności włącznie i pobudzeniem psychoruchowym. Wcześniej mogą wystąpić niedowłady lub porażenia kończyn, porażenie połowicze o charakterze spastycznym oraz inne objawy uszkodzenia dróg piramidowych: zniesienie odruchów brzusznych, wygórowanie odruchów ścięgniętych, klonusy i objawy: Babińskiego i Rossolimo. Niekiedy obserwuje się afazję i zaburzenia mózdkowe. Znacznie rzadziej, niż u chorych z ropnymi zapaleniami opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu spostrzega się drgawki uogólnione lub ogniskowe (typu Jacksona); nie obserwuje się natomiast objawów pozapiramidowych. Ze względu na dominującą lokalizację zmian zapalnych na podstawie mózgu, w niektórych przypadkach dochodzi do uszkodzenia licznych nerwów czaszkowych. (4, 8, 9, 14, 15).

W zaawansowanym (późniejszym) okresie choroby do objawów oponowych i mózgowo-rdzeniowych u ok. 8% chorych dołączają się objawy rdzeniowe: symetryczne porażenia spastyczne kończyn (niekiedy nawet tetraplegia), zniesienie czucia powierzchniowego i głębokiego oraz zaburzenia czynności zwieraczy. (11).

Poza objawami ze strony ośrodkowego układu nerwowego u około 25% chorych spostrzega się ostrą niewydolność oddechową, u 15% ostrą niewydolność krążenia i u 8% – ostrą niewydolność nerek (11).

Płyn mózgowo-rdzeniowy pobrany z nakłucia lędźwiowego w pierwszej – drugiej dobie istnienia zespołu oponowego wykazuje już zmiany zapalne. Biorąc pod uwagę liczbę komórek, ich skład odsetkowy, stężenie białka, glukozy i chloru (Cl⁻) można wyróżnić trzy typy zmian charakterystycznych dla tej choroby. Wspólną ich cechą jest to, że płyn jest wodojasny, czasami lekko opalizujący, a wśród jego białek znajduje się fibrynogen.

1. U ok. 60% chorych, w pmr stwierdza się mierne zwiększenie liczby komórek, nie

przekraczające zwykle 500 w 1 mm³, z wyraźną odsetkową przewagą komórek jednojądrowych, ale i z pokaźnym odsetkiem komórek wielojądrowych (30–40%), zwiększenie stężenia białka ponad 2 g/l (> 200 mg%) i zmniejszenie stężenia glukozy < 45 mg% i anionu chlorowego Cl⁻ < 116 mmol/l.

2. U ok. 20% chorych zmiany w pmr są bardzo podobne, z wyjątkiem stężenia białka, które jest tylko nieznacznie zwiększone, przy czym częściej niższe, rzadko nieco wyższe od 1 g/l (> 100 mg%) – tak jak w zakażeniach wirusowych.
3. U ok. 20% chorych liczba komórek jest taka jak w obu poprzednich opisanych typach zaburzeń, ale w rozmazach stwierdza się zdecydowaną przewagę (>85%) komórek jednojądrowych – jak w zakażeniach wirusowych, stężenie białka oscyluje między 1 g/l (100 mg%) a 2 g/l (200 mg%); stężenie glukozy i anionu chlorowego jest obniżone (czasami tylko jednego z tych dwóch parametrów) (10,11).

W składzie morfologicznym krwi obwodowej stwierdza się najczęściej normocytozę lub nieznaczną leukocytozę, limfocytopenię, brak ziarnistości toksycznych w cytoplazmie granulocytów obojętnochłonnych, a szybkość opadania krwinek (OB) jest zwykle tylko miernie przyspieszona. Próba tuberkulinowa jest najczęściej ujemna (10,11).

Dynamika zmian psychoneurologicznych podczas skutecznego leczenia jest z reguły bardzo powolna. Najpierw wraca przytomność, następnie ustępują zaburzenia świadomości oraz porażenia i afazja; dłużej utrzymują się objawy oponowe i porażenia nerwów czaszkowych, a w przypadkach z objawami rdzeniowymi, te ustępują najpóźniej.

Zmiany zapalne w pmr cofają się również bardzo wolno. Pełną normalizację płynu w większości przypadków udaje się osiągnąć dopiero po 4–5 miesiącach intensywnego leczenia, sporadycznie już po 5–6 tygodniach, rzadko po 10–12 miesiącach, a wyjątkowo dopiero po 2 latach ciągłego leczenia etiotropowego (10,11).

Jeżeli zmiany zapalne w pmr już przy pierwszym badaniu sugerują etiologię gruźliczą, wykonuje się z osadu komórek preparat barwiony metodą Ziehl-Neelsena, a z płynu posiew. Od wielu już lat prowadzone są badania zmierzające do usprawnienia długiej i trudnej mikrobiologicznej diagnostyki gruźlicy poprzez skrócenie czasu oczekiwania na wzrost hodowli prątków, oraz uzyskania informacji o gatunku i wrażliwości szczepu. Cel ten w dużym stopniu osiągnięto przy użyciu systemu Bactec 480 TB. Dzięki jego zastosowaniu czas oczekiwania na wynik posiewu uległ skróceniu z 8–10 do ok. 2 tygodni i ponadto częściej udaje się ustalić etiologię choroby niż przy użyciu metod tradycyjnych. System Bactec jest powszechnie używany w USA i w wielu krajach Europy, a w opinii specjalistów czułość jego jest wyższa niż w próbie biologicznej na zwierzętach doświadczalnych (16). Inne, nowoczesne metody stosowane w diagnostyce mikrobiologicznej gruźlicy nie są u nas jeszcze ogólnie dostępne; chodzi tu o techniki bazujące na chemicznej budowie genomu bakterii (takie jak np.: sondy genetyczne i PCR) (2,16). Z metod immunologicznych umożliwiających weryfikację etiologiczną g.z.o i m. należy wymienić wykrywanie obecności swoistych przeciwciał w płynie mózgowo-rdzeniowym (wykonuje Pracownia Instytutu Gruźlicy).

Mimo niewątpliwych postępów w diagnostyce mikrobiologicznej gruźlicy narządowej, w wielu przypadkach, a w szczególności w g.z.o i m. (ze względu na skąpoprątkowy materiał jakim jest płyn mózgowo-rdzeniowy) wcale nierzadko jesteśmy zmuszeni (głównie ze względów ekonomicznych) do użycia metod „archaicznych” i do rozpoznawania choroby w oparciu o kryteria kliniczne.

Z analizy symptomatologii klinicznej spostrzeganej u > 100 chorych hospitalizowanych w naszej Klinice wiemy, że za gruźlicą oun przemawiają:

1. Bardzo częsty (u ok. 80% przypadków), pierwotnie przewlekły przebieg choroby
2. Współistnienie gruźliczego ogniska zakażenia, poza oun
3. Odmienna symptomatologia psychoneurologiczna od spotykanej w etiologii zarówno bakteryjnej i wirusowej zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu, korespondująca z dominującym na podstawie mózgu procesem zapalnym (porażenie licznych ner-

- wów czaszkowych, brak objawów pozapiramidowych, bardzo rzadko drgawki),
4. Dołączenie się do zespołu oponowego i objawów mózgowych symptomatologii rdzeniowej,
 5. Typowe zmiany w płynie mózgowo-rdzeniowym i bardzo powolna ich dynamika (mimo prawidłowego leczenia),
 6. Długotrwałość przebiegu choroby i pozytywne wyniki leczenia przeciwprątkowego,
 7. Wynik testu tuberkulinowego (u zdecydowanej większości chorych wypada on ujemnie, ze względu na załamanie odporności komórkowej). Należy jednak pamiętać, że w niektórych ciężkich zakażeniach wirusowych przebiegających z zajęciem opon i mózgu test ten może być także ujemny. U chorych od początku hospitalizacji leczonych glikokortykosteroidami wykonywanie testu jest niecelowe.
 8. Pomocne w ustaleniu rozpoznania może być badanie mikroskopowe biopsjatu lub w całości pobranego węzła chłonny
 9. Śródoperacyjne potwierdzenie rozpoznania klinicznego (np. gruźlica otrzewnej, nerek, przydatków, jąder, najądrzy itp. – towarzyszące gzo i m)

U osób zmarłych badaniem neuropatologicznym (makroskopowo) stwierdza się obecność – głównie na podstawie mózgu – obfitego, bogatego we włókna wysięku i poszerzenie komór. Pod mikroskopem widoczne są w ziarninie gruźliczej komórki nabłonkowe, pojedyncze komórki olbrzymie typu Langhansa i limfocyty (Zdjęcia Nr 8 i 8a).

W rozpoznawaniu różnicowym w każdym przypadku należy na pierwszym miejscu uwzględnić etiologię wirusową choroby, następnie grzybicę oraz rozsiew nowotworowy do opon i ograniczony proces ropny podstawy mózgu, płatów skroniowych i potylicznego.

Duże trudności diagnostyczne, zwłaszcza na początku hospitalizacji, mogą sprawiać przypadki o ostrym przebiegu choroby i ze zmianami w pmr zbliżonymi do spotykanych w wirusowych zapaleniach opon mózgowo-rdzeniowych, mózgu i rdzenia kręgowego (2 i 3 typ zmian). Za etiologią wirusową przemawiają wówczas: dwufazowy przebieg choroby, drgawki uogólnione lub ogniskowe, objawy pozapiramidowe, wegetatywne, objawy uszkodzenia pnia mózgu, uszkodzenia nielicznych nerwów czaszkowych (prawie wyłącznie: II, VII, VI i VIII) oraz szybkie ustępowanie zaburzeń psychoneurologicznych i zmian zapalnych w pmr bez leczenia przeciwprątkowego, wreszcie dodatnie wyniki badań serologicznych – wirusologicznych w pmr i w surowicy krwi. Bardzo pomocne w różnicowaniu między gzo i m, a neuroinfekcją wirusową jest równoczesne oznaczenie stężenia mleczanów w pmr i białka C – reaktywnego (CRP) w surowicy krwi. Z naszego doświadczenia wynika, że stężenie mleczanów powyżej 3,7 mmol/l świadczy o bakteryjnym (gruźliczym) charakterze zakażenia i wyklucza etiologię wirusową oraz, iż w zapaleniach opon i mózgu etiologii wirusowej nie występuje wzrost stężenia CRP (lub jest on nieznaczny, nie przekraczający z reguły 0,02 g/l), a w zapaleniach bakteryjnych (także w gruźlicy) od kilku do kilkudziesięciu razy przekracza wartości prawidłowe (i to już na samym początku choroby) (12,13).

Duże trudności może sprawiać również różnicowanie pomiędzy g.z.o. i m., a grzybicą opon, najczęściej wywołaną przez *Cryptococcus neoformans* i *Candida albicans*. Obraz kliniczny, przebieg choroby i wynik badania pmr mogą być bardzo podobne, a ponadto, wcale nierzadko grzybica może towarzyszyć gruźlicy. Rozstrzygające w tych przypadkach znaczenie mają wielokierunkowe badania mykologiczne polegające na wykonaniu preparatu bezpośredniego z osadu pmr, posiewy płynu na specjalnych podłożach, często z wykorzystaniem systemu Bactec. Istotne znaczenie mają również testy serologiczne wykonywane równocześnie w pmr i w surowicy, wykrywające obecność antygenów lub przeciwciał antygenów grzybów (3,13).Rozsiew nowotworowy do opon i ograniczone zmiany ropne rozpoznajemy obecnie przy pomocy tomografii komputerowej i przede wszystkim rezonansu magnetycznego (5,7). W każdym przypadku zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu, w którym istnieje uzasadnione podejrzenie o etiologię gruźliczą, po pobraniu płynu mózgowo-rdzeniowego na posiew prątków, preparat bezpośredni i próbę biologiczną należy zastosować intensywne leczenie etiotropowe. Pragniemy podkreślić, że włączenie te-

Neuroinfekcje

rapii swoistej u chorych z inną niż gruźlicza etiologią (np. wirusową) nie jest błędem, gdyż nie pogarsza przebiegu choroby, podczas gdy nie podanie leków przeciwprątkowych choremu z gruźlicą ośrodkową w wczesnym okresie hospitalizacji, znacznie zmniejsza szansę uzyskania pomyślnego wyniku leczenia.

W doborze leków trzeba uwzględnić ich zdolność pokonywania bariery naczyniowej krew/mózg i krew/płyn mózgowo-rdzeniowy oraz ich aktywność tuberkulostatyczną. Hydryzyd (INH) dobrze przenika do pmr i osiąga w nim stężenie zbliżone do stężenia w surowicy krwi. Rifampicyna (RMP) osiąga w warunkach fizjologicznych stężenie wynoszące do 20% poziomu w surowicy, ale w stanie zapalnym znacznie większe; najmniejsze stężenie hamujące (MIC) dla większości szczepów wynosi ok. 0,5 ig/ml. Stężenie przekraczające kilkakrotnie MIC w pmr osiąga się stosując u dorosłych 0,6 - 0,9 RMP co 24h. Pyrazinamid (PZA) dobrze wchłania się z przewodu pokarmowego i łatwo przenika do tkanek, w tym także do pmr, oraz razem z INH i RMP wywiera silne działanie przeciwprątkowe. Etambutol (EMB) jest słabszym lekiem przeciwprątkowym niż trzy poprzednio wymienione i z tego względu jest rzadko stosowany u chorych z gruźlicą ośrodkową oraz ze względu na jego działanie uboczne; zaburzenia wzroku polegające na zmniejszeniu poczucia barw koloru czerwonego, a zwłaszcza zielonego, ograniczenia pola widzenia i obecności mroczka centralnego. Na początku leczenia dna oka jest niezmiennione, a ocena stanu narządu wzroku oparta jest wyłącznie na subiektywnych odczuciach chorego. W przypadku zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu z powodu zaburzeń świadomości ocena ta jest niemiarodajna i nie może być brana pod uwagę.

Pełna terapia przyczynowa powinna trwać co najmniej 12 miesięcy i wyróżnia się w niej 3 okresy:

1. w fazie I, chemioterapii intensywnej, trwającej nie krócej niż 3 miesiące, należy podawać INH 5 mg/kg m.c. (300-400 mg), RMP 600 mg i PZA 3 x 500 mg u osób z masą ciała poniżej 60 kg i 4 x 500 mg u osób z większą masą ciała. INH i RMP podaje się razem 1 x dziennie przed śniadaniem, a PZA po posiłkach;
2. w fazie II, trwającej zwykle również 3 miesiące, INH i RMP stosuje się w takich samych dawkach jak w I fazie choroby, rezygnuje się natomiast z podawania PZA (i EMB jeżeli stosowany był w I fazie leczenia zamiast PZA).
3. w III fazie leczenia, tzn. już w drugim półroczu, INH podaje się w dawce podwójnej, tj. 10 mg/kg m.c. co 24h, RMP nadal - 600 mg co 24h, przy czym leki te stosuje się tylko 2 x w tygodniu.

Decyzja o zakończeniu leczenia przyczynowego winna być oparta na kompleksowej ocenie kryteriów wskazujących na „wygaszenie” stanu zapalnego w zakresie ośrodkowego układu nerwowego i ogniska gruźliczego umiejscowionego poza nim. Do kryteriów tych zaliczamy:

1. ustąpienie zespołu oponowego, objawów mózgowych i rdzeniowych
2. ustąpienie zmian zapalnych w płynie mózgowo-rdzeniowym
3. likwidację ogniska gruźliczego będącego źródłem zakażenia ośrodkowego układu nerwowego
4. normalizację wykładników klinicznych i laboratoryjnych korespondujących z czynnym procesem chorobowym (OB, składu morfologicznego krwi obwodowej, stężenia białek surowicy krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego, prawidłowej reaktywności immunologicznej itp.)

Z doświadczenia wiemy, że choć cel jaki sobie stawiamy przystępując do leczenia etiologicznego w większości przypadków udaje się osiągnąć już po 4-5 miesiącach, to jednak uważamy, że chemioterapia przeciwprątkowa nie powinna trwać krócej niż 6 miesięcy, nawet u chorych w najkorzystniejszym przebiegu choroby. W wybranych przypadkach rozważamy możliwość skrócenia czasu, ale taką decyzję może podjąć tylko zespół bardzo doświadczonych w tej dziedzinie lekarzy i wyłącznie w warunkach szpitalnych.

Gruźlica ośrodkowego układu nerwowego

U chorych o najcięższym przebiegu choroby mogą być wskazania do leczenia glikokortykosteroidami w dawkach powszechnie stosowanych.

Leczenie objawowe nie odbiega od leczenia ropnych zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu.

Rokowanie w gruźliczym zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych, mózgu i rdzenia kręgowego, mimo wyraźnych postępów w leczeniu tej choroby, jest nadal bardzo poważne, zarówno ze względu na dużą śmiertelność i zagrożenia trwałymi uszkodzeniami oun. Gdy schorzenie ma przebieg pierwotnie przewlekły, rokowanie jest nieco lepsze niż gdy początek jest bardzo ostry. Niezależnie jednak od tego jak się choroba zaczyna, kluczowe znaczenie zarówno dla ratowania życia, jak i zapobiegania trwałym neurologicznym następstwom, ma wczesne jej rozpoznanie i co się z tym ściśle wiąże - wczesne zastosowanie leczenia przeciwprątkowego.

GRUŻLICZAK MÓZGU

Gruźliczak mózgu (tuberculoma cerebri) powstaje, podobnie jak gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu, w wyniku przeniesienia prątków drogą krwionośną do oun z istniejącego w organizmie czynnego ogniska zakażenia, najczęściej umiejscowionego w układzie oddechowym. Może on występować samodzielnie lub też towarzyszyć gruźliczemu zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu. Jest to najczęściej guz pojedynczy (tuberculoma solitare) wielkości od pestki wiśni do małego jabłka, przeważnie umiejscowiony w pniu mózgu i mózdzku, rzadko w rdzeniu kręgowym.

Gruźliczak (guz serowaty) mózgu i rdzenia charakteryzuje się centralnym serowaceniem, otoczonym ziarniną złożoną z komórek nabłonkowatych, plazmatycznych i olbrzymich; na obwodzie znajdują się liczne limfocyty z niewielką liczbą granulocytów i makrofagów. Stare gruźliczaki są otoczone torebką łącznotkankową i często odkładają się w nich sole wapnia.

Obraz kliniczny choroby zależy od tego, czy gruźliczak powstał z przebiegu toczącego się już gruźliczego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu czy też występuje samodzielnie, oraz jaka jest jego wielkość i lokalizacja.

W przypadku pierwszym do objawów gruźliczego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu dołączają się, najczęściej już w zaawansowanym okresie choroby, objawy rosnącego guza. W przypadku drugim dominują od początku objawy wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego oraz objawy ogniskowe, bez współistnienia całej symptomatologii psychoneurologicznej, towarzyszącej swoistemu procesowi zapalnemu, i bez zmian zapalnych w płynie mózgowo-rdzeniowym.

Objawy występujące w gruźliczaku można podzielić na ogólne i ogniskowe.

I- Objawy ogólne gruźliczaka zależne są nie tylko od jego wielkości, lecz w dużym stopniu także od towarzyszącego mu obrzęku mózgu.

Należą do nich:

- 1 • Bóle głowy, które są najbardziej stałym objawem wszystkich guzów mózgu i występują ok. 90% chorych. Początkowo bóle są napadowe i pojawiają się w odstępach kilku, a nawet kilkunastodniowych, lecz w miarę upływu czasu stają się coraz częstsze i wreszcie mają charakter stały. Z reguły określane są jako rozsadzające czaszkę, ale mogą też występować tylko w określonej okolicy głowy.
2. Nudności i wymioty, częsty i wczesny objaw związany ze wzmożonym ciśnieniem wewnątrzczaszkowym, pojawiają się zwykle wraz z bólami głowy i nie zależą od przyjmowania pokarmów. Niekiedy wymioty mogą być nagłe, chlustające, nie poprzedzone nudnościami.
3. Zwolnienie częstości tętna u chorych nie gorączkujących i względna bradykardia u chorych z podwyższoną temperaturą ciała. Objawy te zależą przede wszystkim od narastającego obrzęku mózgu.
4. Zwolniony i nieregularny oddech, związany głównie z obrzękiem mózgu.
5. Obrzęk tarczy nerwu wzrokowego niezwykle ważny objaw nadciśnienia

Neuroinfekcje

wewnątrzczaszkowego, choć jego brak nie wyklucza możliwości istnienia guza. We wczesnych okresach nadciśnienia występuje najpierw przekrwienie żyłne, a w miarę powiększania się zastojów wyraźne dotychczas granice tarczy nerwu wzrokowego ulegają zatarciu, najwcześniej od góry, później od strony nosa i skroni, a w końcu granice stają się zupełnie niewidoczne.

II. Objawy ogniskowe gruźliczaka:

1. Guz serowaty umiejscowiony w pniu mózgu (rdzeniu przedłużonym, moście, śródmózgowiu) powoduje porażenia lub niedowłady naprzemiennie (hemiplegia alterna), charakteryzujące się objawami uszkodzenia jednego lub kilku nerwów czaszkowych po jednej stronie i niedowładem połowicznym po stronie drugiej. Wśród nerwów czaszkowych najczęściej uszkodzeniu ulega nerw III,
2. Gruźliczak umiejscowiony w mózdzku, w sąsiedztwie dróg odpływowych płynu mózgowo-rdzeniowego, powoduje bardzo szybki wzrost ciśnienia wewnątrzczaszkowego (wodogłowie wewnętrzne). Uszkodzenie półkul mózdzku charakteryzuje się: zaburzeniami koordynacji ruchów, adiadochokinezą, drżeniem zamiarowym, oczopląsem, zaburzeniami mowy (np. mowa skandowana), obniżeniem napięcia mięśni, a uszkodzenie robaka wywołuje bardzo znaczne trudności utrzymania równowagi ciała.
3. Gruźliczak rdzenia kręgowego powoduje objawy ucisku rdzenia, tzn. narastający stopniowo niedowład spastyczny kończyn dolnych, do którego dołączają się zaburzenia czucia o charakterze poprzecznym oraz zaburzenia w oddawaniu moczu i stolca. W pmr znajdujemy zespół zastoinowy, wyrażający się patologiczną próbą Queckenstedta, bardzo znacznym wzrostem stężenia białka i zażółceniem płynu, prawidłową cytozą i, ze względu na obecność fibrynogenu, skłonnością do szybkiego krzepnięcia (zespół Froina).

Rozpoznanie gruźliczaka mózgu czy rdzenia opiera się na ogólnie przyjętych kryteriach rozpoznawania guzów (objawy kliniczne, tomografia komputerowa i rezonans magnetyczny). Stwierdzenie czynnej gruźlicy ułatwia rozpoznanie, lecz nie jest pewnym dowodem, iż guz jest gruźliczakiem. Dopiero wynik badania histopatologicznego usuniętego operacyjnie guza jest rozpoznaniem nie budzącym wątpliwości.

Leczenie polega na operacyjnym usunięciu guza pod osłoną leków przeciwprątkowych. Rokowanie jest zawsze niepewne i zależy w głównej mierze od umiejscowienia gruźliczaka

Piśmiennictwo

1. Ali J.: Medycyna po Dyplomie, 1997, 6, 1, 157-163
2. De Cresce R., Lipshitz M.S.: Mikrobiologia Medycyna, 1994, 1, 1, 13-18
3. Halweg H., Afek-Kamińska M., Olejnik Z. i wsp.: Pneum.Pol., 1987, 55, 419 - 427
4. Kępa L.: Pol.Tyg.Lek., 1993, 48, 727-730
5. Korniluk S., Olejnik Z., Strzelecki R. i wsp.: Pneum.Pol., 1984, 52, 273-278
6. Olejnik Z., Gina A, Korniluk S. i wsp.: Pneum.Pol., 1983, 51, 537-545
7. Olejnik Z., Korniluk S., Strzelecki R. i wsp.: Pneum.Pol., 1984, 52, 347-351
8. Olejnik Z.: Gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu w „Gruźlica i Choroby Płuc” pod red. E.Rowińskiej-Zakrzewskiej i H.Niewiadomskiej, PZWL, Warszawa, 1985, 59-62
9. Olejnik Z.: Gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu w „Gruźlica” pod red. P.Krakówki i E.Rowińskiej-Zakrzewskiej, PZWL, Warszawa, 1988, 140-149
10. Olejnik Z.: Gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu w „Diagnostyka i Leczenie w Neurologii”, pod redakcją A. Członkowskiej i A.Członkowskiego, Warszawa, 1992, 67-84
11. Olejnik Z., Przyjałkowski W., Lipowski D. i wsp.: Terapia, 1997, 1, 43, 17-21

Gruźlica ośrodkowego układu nerwowego

12. Przyjałkowski W., Lipowski D., Kolasa T. i wsp.: Neur.Neurochir.Pol., 1995, 29, 687
13. Przyjałkowski W., Lipowski D.: Terapia, 1998, 7, 63,9-1 2 14.Snarska-Furła I.: Neur.Neurochirur.Pol., 1996, 30, 369 15.Snarska-Furła I.: Nowa Medycyna, 1997, 4, 11, 20-22
16. Zwolska-Kwiek Z.: Pneum.Alerg.Pol., 1993, 61, 5-6, 304-310

ZAKAZENIA OKOŁOPORODOWE

Bakteryjne zakażenia okołoporodowe jako czynnik ryzyka w perinatologii

Andrzej Zdziennicki

Instytut Ginekologii i Położnictwa Akademii Medycznej w Łodzi

Bakteryjne zakażenia okołoporodowe wiążą się głównie z problematyką porodu przedwczesnego, przedwczesnym pęknięciem błon płodowych, zakażeniem wewnątrzowodniowym. Zajmują jedną z pierwszoplanowych przyczyn zachorowalności i umieralności noworodków oraz zgonów wewnątrzmacicznych płodów (2, 7, 8, 9, 10).

Zakażenie (kolonizacja organizmu przez bakterie i odpowiedź ustroju na infekcje) jest złożonym procesem biologicznym zależnym od:

- rodzaju, ilości i patogenności bakterii oraz dróg zakażenia
- mechanizmów obronnych organizmu matki i jaja płodowego (humoralnych i komórkowych)
- okresu ciąży w którym dochodzi do zakażenia

Bakterie (działanie bezpośrednie) oraz wytwarzane przez nie toksyny (działanie „na odległość”), w okresie okołoporodowym, mogą być odpowiedzialne za wystąpienie wewnątrzmacicznej infekcji płodu, powstanie defektów metabolicznych a nawet jego śmierci. Infekcje bakteryjne u matki mogą bezpośrednio nie dotyczyć płodu i noworodka a jedynie pośrednio wpływać na jego stan wystąpieniem porodu przedwczesnego czy hipotrofii płodu (2, 7, 8, 10).

Do zakażenia wewnątrzowodniowego może dojść poprzez (10):

1. inwazję drogą krwionośną
2. zakażenie drogą wstępującą (szczególnie w stanach zapalnych pochwy i szyjki macicy)
3. zakażenie drogą zstępującą z jamy brzusznej poprzez jajowody
4. inne, rzadko występujące (amniocenteza, kordoceteza, fetoskopia...)

Aktualnie nie dzielimy już bakterii na chorobotwórcze i saprofityczne – wszystkie mogą być przyczyną nawet uogólnionego zakażenia (szczególnie groźne mogą być bakterie izolowane ze środowisk szpitalnych). Wszystkie poznane bakterie mogą w określonych warunkach wywołać infekcję u dziecka zarówno w okresie ciąży, w czasie porodu, jak i po porodzie. Zależy to od takich czynników jak: choroby współistniejące, leczenie, warunki socjalno-bytowe, klimat (10). Najczęstszą przyczyną zakażeń perinatalnych są (8, 10):

- wśród bakterii tlenowych – Streptococcus, Staphylococcus, Escherichia coli, Gardnerella vaginalis
- wśród beztlenowców – Mobilunculis, Clostridium barati, Bacteroides fragilis, Prevotella bivia, Fusobacterium nucleatum

Kolonizują one głównie pochwę (bacterial vaginosis), drogi moczowe czy wybrane od-cinki przewodu pokarmowego. Natomiast szyjkę macicy – Chlamydia trachomatis. Bacterial vaginosis dotyczy 20 – 40% populacji kobiet ciężarnych z czego u 50% przebiega bezobjawowo. Wg Peterka jest schorzeniem autogennym, wynikającym ze zmiany sto-

Bakteryjne zakażenia okołoporodowe jako czynnik ryzyka w perinatologii

sunków ilościowych i jakościowych własnej flory bakteryjnej pochwy (5). Zakażenie Chla- mydia może dochodzić nawet do około 40% populacji kobiet ciężarnych (9, 10).

Do zakażenia płodu dochodzi najczęściej drogą wstępującą lub podczas przejścia dziecka przez kanał rodny w czasie porodu powodując wystąpienie ropnego zapalenia spojówek, wrodzonych pneumonii czy neuroinfekcji. Rzadziej natomiast dochodzi do zakażenia drogą zstępującą lub krwionośną. Zakażenie płodu ma przebieg skapoobjawowy, szczególnie w początkowym jego okresie. Objawy kliniczne występują stosunkowo późno a kryteria rozpoznania nie są ani czułe ani specyficzne (4, 8) Do objawów zakażenia wewnątrzowodniowego zaliczamy:

- ciepłota ciała matki > 37,5°C
- brak objawów infekcji w innych narządach
- tachykardia ciężarnej > 100/min
- tachykardia płodu > 160/min
- wzmożone napięcie i/lub tkliwość uciskowa macicy
- cuchnący płyn owodniowy
- leukocytoza > 15,0 G/l wraz z odmłodzeniem obrazu białokrwinkowego
- wzrost poziomu CRP (białko C-reaktywne) - wyprzedza objawy kliniczne infekcji o kilka do kilkunastu godzin. Wysoki poziom CRP w krwi pępowinowej świadczy o zakażeniu płodu (CRP nie przechodzi przez łożysko)

Najczulszym aktualnie testem wykrywającym zakażenie wewnątrzowodniowe jest wzrost stężenia Interleukiny 6 (IL-6) - wyprzedza o kilkadziesiąt godzin wzrost poziomu CRP i co ma kolosalne znaczenie dla wczesnego wdrożenia leczenia (8).

Do dnia dzisiejszego nie wypracowano jednoznacznych zasad postępowania w ciążyach powikłanych zakażeniem wewnątrzowodniowym. Ogólnie przyjmuje się, że rozpoznanie zakażenia wymaga natychmiastowego wdrożenia antybiotykoterapii i ukończenia ciąży (8). Należy stosować terapię skojarzoną.

Słomko przedstawił propozycje leczenia grupami antybiotyków (8):

- | | |
|------------------------------------|------------------------------------|
| I. Leki pierwszego rzutu: | 1. Ampicilina z Sulbactamem |
| | 2. Klindamycyna z Gentamycyną |
| | 3. Amoksycylina z kw. klawulonowym |
| | 4. Cefuroxim |
| | 5. Cefazolina z Gentamycyną |
| | 6. Ampicilina z Gentamycyną |
| II. Leki drugiego rzutu: | 1. Mezlocilina |
| | 2. Cefoxytyna |
| | 3. Erytromycyna |
| III. dla uczulonych na penicylinę: | 1. Klindamycyna z Gentamycyną |
| | 2. Cefuroxim |
| | 3. Cefazolina z Gentamycyną |

Zalecane też jest dodatkowe leczenie miejscowe metronidazolem (5, 9).

W większości przypadków, tam gdzie płód jest zdolny do życia, ciężarna rozwiązywana jest cięciem cesarskim.

Następne zagadnienie związane z zakażeniem okołoporodowym to – poród przedwczesny. Toksyny takich bakterii, jak: Salmonella, Shigella, Escherichia coli, Bacteroides, Mycoplasma, paciorkowce B, powodują wystąpienie czynności skurczowej macicy i to niezależnie od wieku ciążowego. Wiele zakażeń układowych kobiet ciężarnych (zakażenia układu moczowego, pochwy, zapalenie płuc, dur plamisty, zakażenie jaja płodowego) odpowiedzialnych jest za wystąpienie porodu przed czasem (3, 5, 6, 8).

Bakterie te syntetyzują między innymi fosfolipazę A² i fosfolipazę C. Fosfolipaza A² jest enzymem inicjującym powstawanie prostaglandyn z kwasu arachidynowego, znaj-

Zakażenia okołoporodowe

dującego się w postaci estrów w błonach fosfolipidowych owodni i komórek doczesnej. Znajdująca się w toksynach bakteryjnych fosfolipaza C, działając bezpośrednio na komórki owodni, powoduje ich rozpad i następowe uwalnianie się dużych ilości kwasu arachidynowego. To prowadzi do wzrostu poziomu prostaglandyn, które z kolei wywołują czynność skurczową mięśnia macicy (3, 6, 8, 9). Osłabione przez proces zapalny błony płodowe ulegają łatwo rozerwaniu przyspieszając tym samym wystąpienie porodu.

Poród przedwczesny, obok osobistej tragedii rodziców, to ogromny problem terapeutyczny - kosztowne leczenie i rehabilitacja ciągnące się często przez całe życie. Przedwczesne urodzenia są główną przyczyną umieralności okołoporodowej płodów i noworodków (70 - 90% wszystkich zgonów), wrodzonych uszkodzeń CUN, defektów metabolicznych, opóźnionego rozwoju psychofizycznego (6, 10).

W leczeniu stosujemy głównie antybiotykoterapię, leki tokolityczne (hamujące czynność skurczową mięśnia macicy) w tym nie sterydowe środki przeciwzapalne - antagoniści prostaglandyn (8).

Powikłaniem nierozpoznanego, źle lub zbyt późno leczonego zakażenia okołoporodowego u matek mogą być: płożowe zapalenie błony śluzowej macicy, stany zapalne w obrębie miednicy małej aż do wystąpienia posocznicy bakteryjnej i wstrząsu septycznego mogącego zakończyć się zgonem ciężarnej lub położnicy (9, 10).

Bardzo ważnym elementem w leczeniu zakażeń okołoporodowych jest wczesne i właściwe rozpoznanie, odpowiednie dobranie leków i moment ich zastosowania. Ważniejszym jednak zagadnieniem jest zapobieganie a jego podstawowe elementy to (4, 8, 10):

- przestrzeganie podstawowych nawyków higienicznych oraz unikanie wszelkich zakażeń
- zakaz wykonywania ciężkiej pracy (wywołującej zmęczenie)
- wyeliminowanie palenia tytoniu, picia alkoholu, zażywania narkotyków i innych nalogów
- ochrona ciężarnej przed sytuacjami stresującymi
- prawidłowe żywienie wraz z promocją karmienia piersią niemowląt
- systematyczna (od początku ciąży) opieka lekarska.

Na zakończenie chciałbym przypomnieć o "wieloczynnikowym modelu przyczynowym" (10) - w rzeczywistości klinicznej nigdy nie mamy do czynienia z tzw. „czystymi przypadkami”. Analizując zaistniały stan chorobowy u ciężarnej, rodzącej czy położnicy, musimy uzmysłowić sobie, iż na jego powstanie miało wpływ wiele czynników zagrożenia - znanych i nieznanych. Im więcej czynników wykryjemy - tym nasze postępowanie diagnostyczne i terapeutyczne będzie pełniejsze i skuteczniejsze.

Piśmiennictwo:

1. Baggia S. i wsp.: J.Soc.Gynecol.Invest., 1996, 3, 121,
2. Cates W., Wasserheit J.N.: Am.J.Obstet.Gynecol., 1991, 164, 1771,
3. Golenberg S. i wsp.: Am.J.Obstet.Gynecol., 1997, 177, 8,
4. Long S.S., Katz S.L.: Perspectives on Emergence and Control of Infections Diseases Worldwide., w: Principles and Practice of Pediatric Infections Diseases; red.: S.S. Long i wsp., New York 1997, 2,
5. Peterek J.: Nowa Medycyna, 1999, 6, 36,
6. Pietrzak B., Kawka J.: Nowa Medycyna, 1999, 6, 19,
7. Słomko Z., Bręborowicz G., Drews K.: Przegląd Epidemiol., 1994, XLVIII, 4, 362,
8. Słomko Z., Drews K.; Klin.Perinat.Ginekol., 1998, XXV, I, 169,
9. Wasiela M., Wojtczak K., Kalinka J.: Ginekol.Prakt., 1999, 2(35), 33,
10. Zdziennicki A.: Czynniki zagrożenia w perinatologii. Łódź 1997, (praca hab.).

Wirusowe zakażenia wertykalne

Małgorzata Pawłowska

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej w Bydgoszczy

W 1941 roku australijski okulista N. Mc Alister Gregg wykazał związek przechorowania przez matkę różyczki w czasie ciąży z wystąpieniem zaćmy wrodzonej, wad serca i opóźnienia wzrostu wewnątrzmacicznego u noworodka (1). Rozwój technik hodowli tkankowej w latach 50-tych umożliwił ustalenie działania teratogennego innych wirusów i pierwotniaków. W latach 70-tych wprowadzono powszechnie badania serologiczne w kierunku zakażeń wywoływanych drobnoustrojami z grupy TORCH (toksoplazmoza, inne zakażenia w tym kiła, różyczka, cytomegalia, zakażenie wirusami herpes). Wraz z postępem w zakresie medycyny perinatalnej oraz rozwojem technik laboratoryjnych stała się możliwa wewnątrzmaciczna diagnostyka wielu zakażeń wirusowych jak i wywoływanych przez nie chorób. Nadal niewyjaśnionym pozostaje prawdopodobieństwo wystąpienia choroby u noworodka przy ujemnym wyniku hodowli i dodatnich wynikach badań technikami molekularnymi, zwłaszcza przy prawidłowym badaniu USG płodu.

Zakażenie matki nie musi nieuchronnie prowadzić do zakażenia produktywnego płodu i jego uszkodzeń. Obserwuje się zakażenie płodu bez jego uszkodzeń jak też poronienia, poród martwego płodu, opóźnienie rozwoju wewnątrzmacicznego czy wady rozwojowe.

Wrażliwość na czynniki teratogenne zależy od wieku ciążowego, dlatego moment ekspozycji często determinuje ciężkość i rodzaj uszkodzenia zarodka i płodu. Zakażenia w okresie organogenezy (między 3 a 8 tygodniem ciąży) najczęściej prowadzą do uszkodzeń morfologicznych zarodka i w efekcie wad rozwojowych, po 12 tygodniu ciąży wywołują nieprawidłowości narządowe.

Zakażenia perinatalne, które stanowią przyczynę 3% wad wrodzonych, mogą być bezobjawowe i ujawnić się w późniejszym okresie prowadząc do ciężkich uogólnionych schorzeń.

W krajach rozwiniętych kobiety ciężarne są najczęściej zakażone wirusem cytomegalii, następnie różyczki, parwowirusem B19, HSV, VZV, HBV, HCV, HIV i HPV. Wirusy zapalenia wątroby typu E, japońskiego zapalenia mózgu, dengi, czy gorączki Lassa stanowią duże zagrożenie dla ciężarnych i płodów w krajach rozwijających się. HEV jest tam najczęstszą przyczyną żółtaczki w czasie ciąży, a przezłożyskowa jego transmisja odpowiada za znaczną śmiertelność perinatalną (2). Zachorowanie na dengę w okresie okołoporodowym może wywołać ciężkie przypadki dengi noworodków (3). Badania na zwierzętach wykazały, że zakażenie wirusem japońskiego zapalenia mózgu w II i III trymestrze ciąży często prowadzi do śmierci płodu i poronienia (4). Zakażenie wirusem gorączki Lassa powoduje w około 75% obumarciu płodu, a jeżeli występuje w III trymestrze zwiększa śmiertelność matki i płodu do około 90% (5).

Jako znane teratogeny wymienia się wirusy różyczki, CMV, ospy wietrznej i półpaśca, opryszczki zwykłej oraz wenezuelskiego końskiego zapalenia mózgu. Działanie teratogenne przypisuje się też enterowirusom, wirusowi HIV, grypy, świnki oraz zapalenia wątroby typu B i C.

Łagodne wirusowe choroby wieku dziecięcego mogą być niebezpieczne dla kobiet ciężarnych zwłaszcza w I trymestrze ciąży. Różyczka przebyta w tym okresie wiąże się z 35–45% ryzykiem embriopatii. Odra, szczególnie powikłana zapaleniem płuc, a także świnka czy grypa u matki mogą wywołać poronienia samoistne lub wewnątrzmaciczne obumarciu płodu. Ospa wietrzna komplikuje przebieg ciąży u 1–5/10.000 pacjentek. 1/3 kobiet ciężarnych jest wrażliwa na zakażenie parwowirusem B19 i często przechodzi zakażenie bezobjawowe. Około 80% dzieci matek nim zakażonych rodzi się zdrowych, o czasie pomimo udowodnionej ponad 30% transmisji przezłożyskowej tego wirusa.

Cytomegalia

Wirus cytomegalii stanowi najczęstszą przyczynę wrodzonych zakażeń u ludzi. Stwierdza się je u 0,2–2,4% wszystkich noworodków (6). Około 10% zakażonych noworodków demonstrowuje objawy choroby przy urodzeniu. 20–30% z nich umiera lub rozwija ciężkie następstwa kliniczne obejmujące opóźnienie rozwoju wewnątrzmacicznego, wodogłowie, zapalenie siatkówki i naczyńówki, atrofię nerwu wzrokowego, małocze, zwapnienia w mózgu oraz głuchotę. U ponad połowy pacjentów z zapaleniem siatkówki i naczyńówki czy zanikiem nerwu wzrokowego dochodzi do upośledzenia widzenia obuocznego. Spośród 85–90% zakażonych noworodków, które w momencie urodzenia nie manifestują objawów choroby 10–20% rozwija dyskretne upośledzenie umysłowe (IQ < 70), zaburzenia wzroku i słuchu. W populacji, w której większość kobiet ma przeciwciała anty-CMV częściej występują wrodzone zakażenia bezobjawowe. Większość z nich związana jest z reaktywacją zakażeń u matki, a przeciwciała matczyne, które nie chronią przed zakażeniem płodu najczęściej zapobiegają jego chorobie. Objawowe wrodzone zakażenia CMV i ich późne następstwa kliniczne są głównie wynikiem pierwotnego zakażenia CMV kobiety ciężarnej, a jego transmisję szacuje się na około 40%. Pomimo, że pierwotne zakażenie CMV u kobiet ciężarnych stanowi duży problem zdrowotny żaden kraj nie wdrożył dotąd obowiązkowych badań przesiewowych w tym kierunku.

Według Fowlera immunizacja prekonceptyjna chroni przez wrodzonym zakażeniem CMV obniżając jego ryzyko w 90% (7,8).

Różyczka

Ostatnią pandemię różyczki notowano w latach 1964–1965. W USA zachorowało wtedy 12,5 mln ludzi, stwierdzono ok. 11.000 poronień i cięż obumarłych oraz 20.000 przypadków różyczki wrodzonej (9). W 1969 zarejestrowano szczepionkę p/różyczce. Od tego czasu istotnie zmalała częstość występowania choroby, aczkolwiek wg Freij pomimo powszechnych szczepień 20% kobiet w wieku rozrodczym w USA jest seronegatywnych (10). Ryzyko zakażenia płodu zależy od wieku ciążowego w momencie infekcji u matki. Zakażenie wrodzone stwierdzono u 81% noworodków, których matki chorowały przed upływem 12 tygodnia ciąży, u 54% jeśli różyczka u matki wystąpiła między 13 a 16 tygodniem ciąży, 60% noworodków matek zakażonych między 31 a 36 i wszystkich noworodków, których matki chorowały na różyczkę po 36 tygodniu ciąży. Tzw. zespół różyczki wrodzonej (congenital rubella syndrome – CRS) obejmuje zaćmę, głuchotę i wady serca. Występuje on u noworodków zakażonych przed 12 tygodniem życia płodowego. Ryzyko wystąpienia wad wrodzonych po 12 tygodniu obniża się do 30%, aczkolwiek pewna grupa noworodków w późniejszym okresie rozwija zaburzenia słuchu, wzroku, niedorozwój psychiczny, choroby autoimmunologiczne czy endokrynopatie (np. cukrzycę, choroby tarczycy). Ważne jest określenie czasu pierwotnego zakażenia różyczką kobiety ciężarnej, do tej pory bowiem nie istnieje skuteczne leczenie przeciwwirusowe zapobiegające wirerii u matki i rozwojowi różyczki wrodzonej.

Ospa wietrzna

Ospa wietrzna u kobiety ciężarnej może być przyczyną wielu powikłań zarówno dla matki jak i płodu. W badaniach wykazano, że wrażliwych na zakażenie VZV jest około 5% kobiet w wieku rozrodczym, a ryzyko przeniesienia zakażenia na płód wynosi 25%.

Pierwszy opis wad wrodzonych etiologii VZV przedstawił Laforet i Lynch w 1947 (11). Dotyczył on noworodka zakażonego w I trymestrze ciąży, u którego wystąpiły liczne przebarwienia skóry, niedorozwój kończyn dolnych, zapalenie siatkówki i naczyńówki, zanik nerwu wzrokowego oraz upośledzenie rozwoju. Obecnie wiadomo, że ospa wrodzona dotyczy około 12% płodów zakażonych w I trymestrze. Częstość występowania ospy wrodzonej szacuje się na 2,2%. Około 25% chorych noworodków ginie w I miesiącu życia. Podobny wskaźnik śmiertelności charakteryzuje noworodki zakażone VZV w okresie okołoporodowym. Leczeniem z wyboru jest podanie swoistej immunoglobuliny oraz acyklowiru.

Parwowirus B19

Ludzki parwowirus B¹⁹ został wykryty w 1975r przez Cossorta podczas badania antygenu HBV. Pierwsze doniesienie dotyczące wpływu zakażenia parwowirusem B¹⁹ na przebieg ciąży, opisujące uogólniony obrzęk płodu i obumarcie płodu ukazało się w 1984 (12). Zakażenie parwowirusem B¹⁹ może być przyczyną niepowodzeń ciążowych, przebiega jako infekcja bezobjawowa, różyczkopodobna lub artropatie. Źródłem zakażenia dla kobiet ciężarnych są wspólnie zamieszkujące dzieci szczególnie w wieku szkolnym. Uważa się obecnie, że zakażenie płodu parwowirusem B¹⁹ jest jedną z przyczyn nieimmunologicznego uogólnionego obrzęku płodu. W badaniach prospektywnych prowadzonych wśród kobiet, które w I połowie ciąży przebyły objawowe zakażenie parwowirusem B¹⁹ ryzyko związanej z tym śmierci płodu szacowano na 5–9%. Transmisję przezłożyskową wirusa B¹⁹ szacuje się na 53%, komplikacje występują u 30% zakażonych płodów, a ryzyko rozwoju nieimmunologicznego uogólnionego obrzęku płodu jest niższe niż ryzyko poronienia.

Wirus opryszczki zwykłej

Zakażenie wirusem opryszczki narządów rodnych (HSV-2) kobiety seronegatywnej podczas ciąży może prowadzić do zakażenia płodu, a w okresie okołoporodowym wywołać chorobę noworodka. Przekazane przezłożyskowo IgG nawet w niskich mianach wydają się mieć działanie ochronne dla płodu. Grupą wysokiego ryzyka są kobiety, które nabyły w ciąży zakażenie HSV-2 i nie dokonały serokonwersji do czasu porodu (13). Opryszczkowe zakażenie narządów płciowych matki może być związane ze zwiększonym ryzykiem poronień samoistnych, wewnątrzmacicznego opóźnienia wzrostu i porodu przedwczesnego. 85–90% przypadków opryszczki noworodków jest wynikiem zakażenia okołoporodowego, opisywane są także nieliczne przypadki zakażenia wewnątrzmacicznego. 50–80% noworodków zakażonych HSV pochodzi z matek nieświadomych przebycia lub istnienia opryszczki narządów płciowych. Największe ryzyko opryszczki noworodków występuje jeśli matka przechodzi zakażenie w okresie okołoporodowym. Objawy kliniczne są niecharakterystyczne, pojawiają się między 6 a 12 dniem życia, w postaci: zakażenia skóry, oczu i ust (15%), zakażeń OUN (15%), zakażenia uogólnionego (70%). Śmiertelność w postaci uogólnionej wynosi około 50%.

Zakażenia wirusami HBV i HCV

Zakażenie HBV dotyczy około 5–10% populacji. Nie wykazano działania teratogennego HBV, najczęściej do zakażeń wertykalnych dochodzi okołoporodowo. Ryzyko zakażenia wertykalnego HBV zależy od stanu serologicznego ciężarnej oraz poziomu wirēmii. Przy obecnych w surowicy antygenach HBs i HBe ryzyko transmisji wynosi 70–90%, przy wykrywalnej replikacji (HBV-DNA) osiąga 100%. (14) Zgodnie z historią naturalną tych zakażeń wertykalne zakażenie HBV prowadzi w ponad 90% do przewlekłego zapalenia wątroby. Wykazano, że u dorosłych mężczyzn zakażonych wertykalnie HBV częściej występuje marskość i rak pierwotny wątroby. Dotyczy to szczególnie rejonów o wysokiej częstości występowania endemicznych zakażeń HBV. Interesujący jest problem tolerancji płodu na antygeny HBV. Prawdopodobnie jest ona związana z przechodzeniem przez łożysko HBeAg i w konsekwencji brakiem HBV-swoistych klonów limfocytów T. Obserwuje się tolerancję limfocytów Th na antygeny HBe i HBc. Istnieje również koncepcja maskowania przez anty-HBe IgG antygeny HBc wbudowanego w błony komórkowe hepatocytów (15). Jakkolwiek wykryto obecność HBV w mleku kobiecym, nie udowodniono zakażenia dziecka drogą karmienia naturalnego. Zakażenie HBV nie stanowi przeciwwskazań do karmienia naturalnego.

Dane dotyczące transmisji matczyno-płodowej zakażeń HCV są kontrowersyjne. Zanetti na podstawie badań transmisji wertykalnej tego zakażenia u 291 dzieci matek zakażonych HCV, wśród których 40 było dodatkowo zakażonych HIV wykazał zakażenie u 3,2% noworodków (w koinfekcji z HIV u 22,5%). Uważa on, że immunodepresja wtórna do zakażenia HIV ułatwia transmisję wertykalną HCV. Wysoki poziom HCV-RNA korelował do-

Zakażenia okołoporodowe

datnio z transmisją zakażenia na płód (16). Uważa się, że kobiety zakażone bezobjawowo mogą karmić, natomiast karmiące matki z objawami wzw i wysoką wiremią mogą stwarzać ryzyko przeniesienia zakażenia na dziecko. Według Ogasawara i Hsu zakażenie HCV nie przenosi się z mlekiem matki (17,18).

Zakażenie HIV

Częstość zakażeń HIV wśród kobiet ciężarnych jest zróżnicowana geograficznie. W Afryce szacuje się je na ponad 30%, w Europie około 0,4%. Nadal wzrasta liczba zakażonych HIV kobiet w wieku rozrodczym. W latach 1995 - 1999 najczęściej nowych przypadków zakażeń HIV drogą wertykalną zarejestrowano w Europie na Ukrainie, we Włoszech, Wielkiej Brytanii, Niemczech, Rumunii, Szwajcarii i Federacji Rosyjskiej (dane skumulowane). Od 1995 roku zaznacza się tendencja niżkowa w odniesieniu do nowo rejestrowanych wertykalnych zakażeń HIV w Europie. We wspomnianych latach najczęściej przypadków AIDS u dzieci zakażonych wertykalnie zgłoszono w Hiszpanii, Włoszech, Francji i Rumunii (dane skumulowane) (19, 20). Droga wertykalnego zakażenia HIV jest głównie okołoporodowa, aczkolwiek w krajach rozwijających się duże znaczenie ma karmienie piersią, ze względu na problem głodu. Prowadzony program ACTG 076 pozwala wg autorów amerykańskich i francuskich minimalizować ryzyko przeniesienia zakażenia HIV z matki na dziecko do poniżej 1%.

Piśmiennictwo:

1. Gregg N.M.: Congenital cataract following German measles in the mother. *Trans.Ophtalmol.Soc.Aust.* 1941, 3: 35.
2. Knuroo M.S., Kamili S., Jameel S.: Vertical transmission of hepatitis E virus. *Lancet* 1995, 345: 1025-1026.
3. Poli L., Clungue E., Sonlignac O.: Dengue maternofoetale, a propos de 5 cas observes pedant l'epidemie a Tahiti (1989). *Bull. Soc. Pathol.Exot.* 1991, 84: 513-521.
4. Mathur A., Avone K.L., Rawat S.: Japanese encephalitis virus latency following congenital infection in mice. *J.Gen. Virol.* 1986, 67: 945-947.
5. Price M.E., Fisher-Hoch S.P., Craven R.B.: A prospective study of maternal and fetal outcome in acute Lassa fever infection during pregnancy. *BMJ* 1988, 297: 584-587.
6. Ivarsson S.A., Lernmark B, Svanberg L.: Ten-year clinical, developmental and intellectual follow-up of children with congenital cytomegalovirus infection without neurologic symptoms at one year of age. *Pediatrics* 1997, 99800-803.
7. Fowler K.B., Stagno S., Pass R.F.: Congenital cytomegalovirus (CMV) infection risk in future pregnancies and maternal CMV immunity. 6th International **Cytomegalovirus** Workshop, Perdido Beach Resort 1997.
8. Lazarotto T., Spezzacatena P., Prodelli P., Abate D.A., Gabrielli L.: Cytomegalovirus infection in pregnancy: a still complicated diagnostic problem. *Intervirolgy* 1998, 41: 149-157.
9. Bart K.J., Orenstein W.A., Preblud S.R. et al.: Universal immunization to interrupt rubella. *Rev.Infect.Dis.* 1985, 7: 177-184.
10. Freij B.J., South M.A., Sever J.L.: Maternal rubella and the congenital rubella syndrome. *Clin. Perinatol.* 1988, 15: 247-257.
11. Laforet E.G., Lynch C.L.: Multiple congenital defects following maternal varicella: report of a case. *N.Engl.J.Med.* 1947, 236: 534-547.
12. Brown T., Anand A., Ritchie L.D.: Intrauterine parvovirus infection associated with hydrops fetalis. *Lancet* 1984, 2: 1033.
13. Arvin A.M., Probor C.G.: Herpes simplex virus type-2. A persistent problem (editorial). *N.Eng.J.Med.* 1997, 337: 509-515.
14. Lee S.D., Lo K.J., Wu J.C. et al.: Prevention of maternal-infant hepatitis B virus transmission by immunization: the role of serum hepatitis B virus DNA. *Hepatology* 1986, 6: 369-372.

15. Milich D.R.: Immune response to the hepatitis B virus: infection, animal models, vaccination. *Viral Hepatitis Rev.* 1997, 3: 63-72.
16. Zanetti A.R., Tanzi E., Ramono L., Zuin G et al.: A prospective study on mother-to-infant transmission of hepatitis C virus. *Intervirology* 1998, 41: 208-212.
17. Ogasawara S., Kage M., Kasai K. et al.: Hepatitis C virus RNA in saliva and breast milk of hepatitis C carrier mothers. *Lancet* 1993, 341: 561-564.
18. Hsu H.H., Wright T.K., Luba D et al.: Failure to detect hepatitis C virus genome in human secretions with the polymerase chain reaction. *Hepatology* 1991, 14: 763-766.
19. Pawłowska M.: Zakażenia HIV i AIDS u matki i dziecka w „Zakażenia HIV i AIDS w praktyce lekarskiej” pod redakcją W. Haloty, Ottonianum, Szczecin 1998: 128-134.

CHOROBY ODZ WIERZĘ CE I PASOŻYTNICZE

Zakażenie *Helicobacter pylori* – choroba odzwierzęca

Tomasz Mach

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych CM UJ w Krakowie

Odkrycie *Helicobacter pylori* (*H. pylori*) zrewolucjonizowało nasze poglądy na etiopatogenezę chorób górnego odcinka przewodu pokarmowego, w szczególności choroby wrzodowej, i zmieniło podejście do ich leczenia. Choć przed blisko dwudziestu laty prawie nikt nie domyślał się o istnieniu *H. pylori* w żołądku, obecnie infekcja ta uważana jest za najczęstsze, przewlekłe zakażenie u człowieka. Po ukazaniu się w 1983 r. pierwszego artykułu Marshalla i Warrena na temat *H. pylori*, zaczęły pojawiać się prace dotyczące roli tej bakterii w rozwoju wrzodów trawiennych żołądka lub dwunastnicy, zapalenia błony śluzowej żołądka, a nawet raka tego narządu (23).

H. pylori należy do spiralnych, Gram-ujemnych, mikroaerofilnych pałeczek, posiadających zdolność kolonizacji i namnażania się na nabłonku typu żołądkowego. Bakterie te wytwarzają liczne enzymy, które umożliwiają im zarówno przetrwanie w kwaśnym środowisku żołądka, jak i inwazyjność (23).

Nie u wszystkich zakażonych *H. pylori* dochodzi do rozwoju choroby. Zarówno cechy nosiciela, jak i samej bakterii odgrywają bowiem rolę w patogenezie chorób przewodu pokarmowego. Wymienia się także szereg czynników środowiskowych, jak palenie tytoniu, dieta i cechy genetyczne. Również zjadliwość *H. pylori* zależy od różnych czynników, w tym także warunkowanych genetycznie. Jest wśród nich zdolność wytwarzania ureazy, czy cytokin inicjujących stan zapalny, związanych z cytotoxycnością (*cagA*) czy wakuolizowaniem komórek (*vacA*), a także aktywacja systemu odpornościowego w błonie śluzowej żołądka (23).

Coraz powszechniejsza stała się ostatnio tendencja do stosowania eradykacji w przypadku każdego pacjenta zakażonego *H. pylori*. Chcąc uściślić wskazania, opracowano wytyczne o charakterze międzynarodowym, jak np. zalecenia Narodowego Instytutu Zdrowia USA, czy ustalenia podjęte dla Europy w Maastricht. Nowe metody leczenia zakażenia *H. pylori* w zasadniczy sposób zmieniły podejście do terapii choroby wrzodowej.

Choć infekcja *H. pylori* jest rozpowszechniona w populacji całego świata, odsetek osób zakażonych jest największy w krajach rozwijających się, w których częstość infekcji wśród dzieci przed ukończeniem 5 roku życia sięga nawet 50%, a w populacji osób młodych przekracza 80% (17, 18, 20). W krajach rozwiniętych częstość występowania *H. pylori* rośnie z wiekiem, osiągając wśród 70-latków ok. 70% (23). Infekcję stwierdza się u 60–80% mieszkańców krajów Europy Środkowej, w tym w Polsce, u 30–40% w Europie Zachodniej, zaś do 90% w krajach rozwijających się.

Poza wiekiem niezwykle istotnym czynnikiem ryzyka infekcji *H. pylori* są złe warunki socjo-ekonomiczne, do których zaliczamy przeludnienie, niewłaściwe warunki mieszkaniowe, sypianie we wspólnym łóżku, duża liczebność rodzin czy zanieczyszczenie wody. Infekcji sprzyja również pobyt w zamkniętych grupach, jak ośrodki dla osób upośledzonych umysłowo, szpitale dla przewlekle chorych czy domy dziecka (23).

Zakażenie *H. pylori* rozpoczyna się we wczesnym dzieciństwie i jako proces przewlekły zwykle trwa przez całe życie (18, 20). Ustąpić może po zastosowaniu leczenia antybiotykowego lub w razie takiego zaawansowania procesu zanikowego błony śluzowej żołądka, który spowoduje, że bakteria zostanie pozbawiona swojego naturalnego kwaśnego środowiska. Należy wreszcie dodać, że w krajach rozwiniętych odsetek ponownych zakażeń (reinfekcji) po skutecznej eradykacji jest niewielki i najczęściej nie przekracza 1% rocznie, natomiast w krajach rozwijających się, gdzie populacja w większości jest zainfekowana, sięga kilkunastu procent rocznie.

Jak dotąd sposoby przenoszenia się infekcji *H. pylori* nie zostały do końca poznane. Dane epidemiologiczne wskazują na drogę fekalno-oralną (kałowo-pokarmową) i gastro-oralną (ustno-pokarmową) (23). Ta druga polega na przenoszeniu się zakażenia poprzez kontakt z wymiocinami zawierającymi zakażony śluz (23). Możliwa jest również droga jatrogena, poprzez nieprawidłowo odkażony sprzęt diagnostyczny, np. gastroskopy.

Przeprowadzono znaczną ilość badań nad czynnikami patofizjologicznymi zakażenia *H. pylori* i wirulencją bakterii, jednak nadal nie wiadomo w jaki sposób rozwija się infekcja. Niewątpliwa zależność między występowaniem zakażenia w niektórych populacjach a warunkami socjo-ekonomicznymi przemawia za przeniesieniem bakterii z człowieka na człowieka. Powszechnie przyjmuje się, że właśnie człowiek jest głównym jej rezerwuarem (23). Z drugiej zaś strony wielu autorów próbuje wykazać zależność między obecnością *H. pylori* w żołądku niektórych zwierząt, szczególnie bytujących w otoczeniu człowieka, w gospodarstwie domowym, a ewentualnym przeniesieniem zakażenia na człowieka. Pomimo wielu badań, nadal pozostaje sprawą otwartą, czy zakażenie *H. pylori* można uznać za zoonozę. W wielu pracach potwierdzono występowanie *H. pylori* w żołądku zwierząt, ale brak jest jak dotąd przekonujących dowodów aby ta bakteria pierwotnie, nie pochodząc od pokarmu zakażonego przez człowieka, kolonizowała błonę śluzową żołądka i wywoływała u tych zwierząt schorzenia żołądka. Należy w końcu podkreślić, że pogląd dotyczący transmisji *H. pylori* ze zwierzęcia na człowieka ma zarówno wielu zwolenników, jak i przeciwników.

H. pylori jest powszechnie spotykany, występuje endemicznie. Nie jest wykluczone, że zanieczyszcza środowisko, w tym także zbiorniki wodne (14, 18, 19). Zwierzęta mogą zakażać się pijąc wodę zawierającą *H. pylori*. Zanieczyszczenie środowiska przez *H. pylori* potwierdziły badania przeprowadzone w niektórych krajach przy pomocy polimerazowej reakcji łańcuchowej (PCR) (20). Natomiast badania przeprowadzone w Chinach nad wirusowym zapaleniem wątroby typu A i zakażeniem *H. pylori* przemawiają przeciwko koncepcji skażenia środowiska drogą kału przez te bakterie (18).

Szereg prac zakłada hipotezę, że zakażenie *H. pylori* jest zoonozą (26). Niektórzy autorzy wykazali, że *H. pylori* może być przenoszony w formie przetrwalnikowej, zwanej kokoidalną, przez wektory, którymi mogą być zwierzęta domowe lub muchy. Problem ten nie został ostatecznie rozwiązany (11, 18). Kelly i inni badacze wykazali metodami hodowlanymi i PCR obecność *H. pylori* w stolcu człowieka (17, 30). Fox i wsp. potwierdzili te obserwacje także u kotów (7). Według innych badań *H. pylori* nie podtrzymuje swojego metabolizmu w warunkach przetrwalnikowych, w wydalanej z kałem formie kokoidalnej, z której nie udało się bakterii wyhodować (19, 20, 25). Natomiast *H. pylori* może przeżyć w wodzie i pozostać aktywny metabolicznie nawet przez kilka dni (2, 20). Tak więc, w świetle tych spostrzeżeń, transmisja fekalno-oralna jest mało prawdopodobna, a najbardziej ostatnio uznawana jest droga przenoszenia oralno-oralna, z człowieka na człowieka (19).

H. pylori uważany jest za patogen ludzki, jednak izolacja z żołądka zwierząt sugeruje inne rezerwuary. Liczni badacze wyizolowali *H. pylori* od małp człekokształtnych (4, 24). Ze względu na brak bezpośredniego kontaktu między nimi a człowiekiem, mało jest prawdopodobne aby bakteria mogła być przenoszona na człowieka. Możliwe jest zakażenie równoległe i niezależne u ludzi i małp. Poza małpami hodowanymi w laboratoriach, z których izolowano *H. pylori*, zwierzęta żyjące w swym naturalnym środowisku mają również możliwość zakażenia tą bakterią. Badaczom japońskim udało się w warunkach doświadczalnych zainfekować małpę *rhesus* i makaki japońskie (28).

Euler, Newell i inni wyhodowali z żołądka małpy *rhesus* i *Macaca mulatta* *H. pylori*, które były *cag-A* pozytywne (6, 24). Badania genotypowe przeprowadzone przez Drazeka i wsp. ujawniły, że bakterie występujące u małp są wysoce heterogenne (5). Także inne badania wskazują na to, że małpy człokształtne mogą być rezerwuarem *H. pylori* (3). Może to mieć znaczenie w niektórych krajach, gdzie zwierzęta te żyją w pobliżu wiosek i zakażając pokarmy i źródła wodne mogą wywoływać zoonozę.

Inne rezerwuary zwierzęce *H. pylori* są brane pod uwagę. Dwie niezależne grupy badaczy wykazały zwiększony poziom w surowicy przeciwciał przeciw tej bakterii u pracowników narażonych na kontakt z zwierzętami hodowlanymi w porównaniu do grupy kontrolnej (15, 31). Vaira i wsp. potwierdzając większą częstość zakażenia *H. pylori* u pracowników rzeźni w Bolonii sugerował, że transmisja bakterii może przebiegać z zwierzęcia na człowieka, jak w innych zoonozach (31). Badania te są kwestionowane, gdyż pracownicy rzeźni nie byli porównani z ludźmi pochodzącymi z innych grup społeczno-zawodowych, co jak wiadomo ma znaczenie, gdyż warunki ekonomiczne, przeludnienie i zła higiena zwiększają ryzyko zakażenia.

Jones i Eldridge wyizolowali *H. pylori* z żołądka świni laboratoryjnej (16). Zwierzę to mogło być jednak zakażone pokarmem skażonym przez bakterie pochodzące od ludzi. Inne badania potwierdziły obecność Gram-ujemnych spiralnych bakterii w błonie śluzowej żołądka świni, lecz bakterie te zostały scharakteryzowane, jako należące do *Campylobacter* *genus* (18). W innych badaniach *H. pylori* izolowane od świń zostały zidentyfikowane przy pomocy wysoce czulej metody sekwencjonowania 16SrRNA jako odmienne od *H. pylori* spotykanych u ludzi (21). Nie ma więc przekonujących dowodów na to, że świni są rezerwuarem tej bakterii.

Bakterie spiralne, później zidentyfikowane jako *H. felis* i *H. heilmannii* (poprzednio zwane *Gastrospirillum hominis*), obserwowano w żołądku psów i kotów od kilkudziesięciu lat (8, 25). Ich obecność była jednak ignorowana i uważano je wręcz za komensale. Ogromne zainteresowanie zakażeniem *H. pylori*, jako chorobą odzwierzęcą, spowodowało rozwój dalszych badań nad bakteriami żołądka zwierząt i ich rolą w patogenezie zmian zapalnych. Interesujące prace dotyczą *H. pylori* u gnotobiotycznych, wolnych od patogenów świń lub psów, pewnych gatunków makaków i u mysz pozbawionych grasicy lub z wyjąłowanym przewodem pokarmowym (25).

Po raz pierwszy Handt i wsp. wyizolował *H. pylori* od kota domowego w 1994 r. i sugerował, że poza małpami człokształtnymi rezerwuarem bakterii może być kot (12). Również Fox i wsp. opisał obecność *H. pylori* w ślinie, soku żołądkowym i kale kotów podkreślając, że bakteria może być patogenem przenoszonym z zwierzęcia na człowieka (9). Badania u pracowników rolnych mających kontakt z kotami wykazały wyższe miano przeciwciał przeciw *H. pylori* i większą częstość ich występowania w porównaniu z grupą kontrolną (18, 29). Inne badania przeprowadzone u właścicieli kotów w porównaniu z osobami nie mającymi z nimi styczności nie potwierdziły tych zależności (1, 33). Trwają nadal dyskusje, czy posiadanie tego zwierzęcia w warunkach domowych jest ryzykiem istotnie zwiększającym możliwość zakażenia człowieka (20, 32, 33).

Perkins i wsp. hodował szczepy *H. pylori cagA*-ujemne pochodzące od kotów spotykanych w laboratoriach badawczych i kotów doświadczalnie zakażonych *H. pylori* (25). Bakterie te izolowano z zmienionej zapalnie błony śluzowej żołądka wszystkich badanych zwierząt. Izolowane organizmy potwierdzono badaniami morfologicznymi, biochemicznymi i analizą sekwencji 15SrRNA (25). Również używając specyficznych prymarów genów dla ludzkiego *H. pylori*, autorzy byli w stanie namnożyć identyczny materiał genetyczny z *H. pylori* pochodzących od kotów (13). W innych badaniach Perkins i wsp. zakażał ludzkimi, wirulentnymi szczepami *H. pylori cagA*-dodatnimi koty wolne od infekcji i udowodnił rozwój zakażenia i w konsekwencji zapalenie błony śluzowej żołądka tych zwierząt (25). Inne badania potwierdziły kolonizację żołądka kotów spiralnymi bakteriami podobnymi do *H. pylori*, a mianowicie *Gastrospirillum hominis*

(obecna nazwa *H. heilmannii*) typ 2 i *H. felis*. Zakażenia wywoływane przez nie i tzw. *Gastrospirillum hominis* typ 1 pochodzącymi od świń, są uważane za zoonozy. Występują stosunkowo rzadko, bo zaledwie u mniej niż 1% przyp., lecz są brane pod uwagę jako patogen żołądka ludzkiego (22).

Bakterie identyfikowane z żołądka kotów i psów bywają nazywane organizmami podobnymi do *H. pylori* (*H. pylori-like organism*; GHLO) (25). Kocie szczepy bakterii spiralnych różnią się od innych *H. pylori*. Autorzy z Huston udowodnili, że w żołądku kota bytują podobne do *H. pylori* inwazyjne bakterie, wspomniane wyżej *H. felis* i *H. heilmannii*, które odpowiadają za zmiany zapalne błony śluzowej żołądka (27). Istotne jest, że badania te były przeprowadzone na kotach karmionych sztucznym pokarmem i przebywały w izolacji, a więc nie miały kontaktu z człowiekiem, jako głównym rezerwuarem *H. pylori*. Również i te badania poddano krytyce, bowiem koty żyjące nawet w takich warunkach mogą być bardziej podatne na zakażenie ludzkimi szczepami *H. pylori* (25). Perkins i wsp. wykazał bowiem, że *H. pylori* izolowanymi od ludzi można łatwo zakazić kota (25). Również Webb i inni autorzy angielscy uważają, że *H. pylori* nie jest przenoszona od kotów domowych (33). Posiadanie tych zwierząt nie stanowi ich zdaniem zagrożenia infekcją i kategorycznie zaprzeczają hipotezie, że zakażenie *H. pylori* jest zoonozą (33). Należy dodać, że możliwa jest też kolonizacja żołądka myszy szczepami, które zakażają kota; brany jest więc pod uwagę ten sposób transmisji *H. pylori* w warunkach środowiska naturalnego. Nie jest znana rola człowieka w tym łańcuchu zakażeń.

Inne badania populacyjne nad ekspozycją zwierząt domowych na *H. pylori* są nieliczne. Doświadczenia z umieszczeniem psa w pobliżu zabawek dziecięcych zakażonych *H. pylori* i następnie stwierdzeniem jego zainfekowania mogą wskazywać na taką drogę transmisji. Psy i koty zakażają się GHLO, które w żołądku zawsze doprowadza do zmian zapalnych błony śluzowej z typowymi grudkami chłonnymi (25).

Goodman badając mieszkańców Kolumbii wykazał, że kontakt z świnkami morskimi i owcami stanowi czynnik ryzyka zakażenia *H. pylori* u dzieci wiejskich (10). Zwierzęta te są bowiem pokarmem Kolumbijczyków, zaś sposób przygotowania z nich posiłków umożliwia zakażenie go kałem zwierzęcym. Połknięty pokarm zawierający bakterie może zakazić człowieka. Nie jest jednak pewne, czy *H. pylori* wywołuje zapalenie żołądka u świnki morskiej lub owcy. Dość należy, że dzieci kąpiące się w rzekach Kolumbii są częściej zakażane od innych (10).

Poza wymienionymi zwierzętami, nie należy pominąć także innych, które mogą uczestniczyć w przenoszeniu zakażenia *H. pylori* na człowieka. Pomimo sprzecznych opinii na ten temat, niektórzy autorzy uważają, że *H. pylori* może być wydalana przez zakażonego człowieka z kałem, skąd niektóre gatunki much, bytujących w środowisku człowieka, mogą ją spożywać i przenosić w swoim przewodzie pokarmowym. Grubel i wsp. z Bostonu na podstawie badań mikrobiologicznych i histologicznych udowodnili, że w przewodzie pokarmowym muchy domowej (*Musca domestica*) obecne są żywe *H. pylori*, które są wydalane z ekskrementami (11). Wspomniani autorzy uważają, że muchy domowe mogą być istotnym rezerwuarem *H. pylori* i wektorem, kontaminującym środowisko i człowieka, szczególnie w krajach biednych, rozwijających się, gdzie warunki bytowe i sanitarne nie są właściwe (11).

W podsumowaniu należy stwierdzić, że mimo szeregu badań przeprowadzonych na zwierzętach domowych i małpach człekokształtnych, nie zostało jasno sprecyzowane stanowisko, czy zakażenie *H. pylori* można zaliczyć do zoonoz. Z jednej strony wydaje się to oczywiste, szczególnie w odniesieniu do małp, z drugiej zaś nie udaje się potwierdzić związku występowania *H. pylori* u zwierząt z zakażeniem ludzi. Uwzględniając wiele prac wskazujących na kolonizację *H. pylori* żołądka i wirulencję tych szczepów bakterii wywołujących zapalenie błony śluzowej żołądka u niektórych zwierząt domowych lub żyjących w swoim naturalnym środowisku, a także much domowych, można by przyjąć, że zakażenie *H. pylori* jest zoonozą. Należy jednak wyraźnie podkreślić, że jest wielu autorów, którzy nie akceptują tego stanowiska, gdyż nie byli w stanie jednoznacznie udowodnić aby rodzaje *H. pylori* identyczne z ludzkimi kolonizowały żołądek zwierzęcy i wywoływały

Choroby odzwierzęce i pasożytnicze

w nim zmiany zapalne, a formy żywe tej bakterii były obecne w kale ludzkim lub zwierzęcym. Takie stanowisko niewątpliwie podważa hipotezę o zakażeniu *H. pylori* jako zoo- nozie (19, 33). Jeśli zainteresowanie świata nauki tą bakterią nadal będzie tak znaczne, być może omawiany problem zostanie ostatecznie zweryfikowany.

Piśmiennictwo

1. Ansorg R., Vonheinegg E.H., Vonrecklinghausen G.: Int. J. Med. Microbiol. Virol. Parasitol. Infect. Dis. 1995, 283: 122-126.
2. Bode G., Mauch F., Maltfertheiner P.: Epidemiol. Infect. 1993, 111: 483-490.
3. Bowry S.C., Chhuttani P.N., Chakravarti R.N. i wsp.: J. Assoc. Phys. India 1966, 14: 23.S-8.
4. Bronsdon M.A., Schoenknecht F.C.: J. Clin. Microbiol. 1988, 6: 1725-28.
5. Drazek E.S., Dubois A., Holmes R.D.: J. Clin. Microbiol., 1994, 32: 1799-1804.
6. Euler A.R., Zurenko G.E., Moe J.B. i wsp.: J. Clin. Microbiol. 1990, 28: 228.S-90.
7. Fox S.G., Perkins S., Yan L. i wsp.: Gut 1995, 37: A10.
8. Fox J.G.: W: Hunt R.I., Tytgat G.N.J., Red. Helicobacter pylori: Basic Mechanisms to Clinical Cure. Dordrecht, Netherlands: Kluwer Academic Publishers, 1994, 3-27.
9. Fox J.G., Perkins S., Yan L. i wsp.: Gut 1995, 37: A10.
10. Goodman K.J.: Helicobacter pylori infection of the Colombian Andes. A population-based study of transmission-related factors. Doctoral dissertation, University of California at Los Angeles, 1994.
11. Grubel P., Hoffman J.S., Chong E.K. i wsp.: Gut 1996, 39 (suppl. 2): A88.
12. Handt L.K., Fox J.G., Dewhirst F.E. i wsp.: Infect. Immun. 1994, 62: 2367-2374.
13. Handt L.K., Fox J.G., Stalis I.H. i wsp.: J. Clin. Microbiol. 1995, 33: 2280-2289.
14. Hazell S., Mitchell H., Hedges M. i wsp.: J. Infect. Dis. 1994, 170: 686-689.
15. Husson M.O., Vincent P., Grabiand M.H. i wsp.: Gastroenterol. Clin. Biol. 1991, 15: 723-726.
16. Jones D.M., Eldridge J.: W: Kayser B., Falsen I., red. Campylobacter, Geteborg: University of Geteborg, 1988, 44.
17. Kelly S., Pitcher M., Farmery S. i wsp.: Gut 1994, 35 (suppl. 2): 53.
18. Logan R.P.H., Hirschl A.M.: Current Opinion in Gastroenterol. 1996, 12 (suppl. 1): 1-5.
19. Logan R.P.H.: J. Physiol. Pharmacol. 1999, 50 (suppl. 2): 31.
20. Mendall M.A., Pajares-Garcia J.: Current Opinion in Gastroent 1995, 11 (suppl.1): 1-4.
21. Mendes E.N., Queiroz D.M.M., Dewhirst F.E. i wsp.: Am. J. Gastroenterol. 1994, 89: 1296.
22. Mendes E.N., Queiroz D.M.M., Dewhirst F.E. i wsp.: Gut 1995, 37 (suppl. 1): A26.
23. Misiewicz J.J., Harris A.: Via Medica, Gdańsk 1997.
24. Newell D.G., Hudson M.J., Baskerville A.: J. Med. Microbiol. 1958, 27: 41-44.
25. Perkins S.E., Fox J.G., Marini R.P. i wsp.: Helicobacter 1998, 3 (4): 225-235.
26. Sahay P. Axon A.T.R.: Helicobacter 1996, 1(3): 175-182.
27. Serna J.H., Genta R.M., Lichtenberger L.M. i wsp.: Helicobacter 1997, 2 (1): 40-43.
28. Shuto R., Fujioka T., Kubota I. i wsp.: Infect. Immun. 1993, 61: 93.
29. Thomas D.R., Salmon R.L., Meadows D. i wsp.: Gut 1995, 37 (suppl. 1): A24.
30. Thomas J.E., Gibson G.R., Darboe M.K. i wsp.: Lancet 1992, 340: 1194-1195.
31. Vaira D., D'Anastasio C., Holton J. i wsp.: Lancet 1988, 2: 725-726.
32. Veldhuyzen van Zanten S.J.O., Poliak P.T., Best I.M. i wsp.: J. Infect. Dis. 1994, 19: 414-417.
33. Webb P.M., Knight T., Elder J.B. i wsp.: Helicobacter 1996, 1 (2): 79-81.

Aspekty kliniczno-terapeutyczno-profilaktyczne chorób przenoszonych przez kleszcze

Teresa Hermanowska-Szpakowicz

Klinika Chorób Pasożytniczych i Neuroinfekcji AM w Białymstoku

Wśród chorób przenoszonych przez kleszcze *Ixodes ricinus* w Polsce należy przede wszystkim wymienić: kleszczowe zapalenie mózgu, boreliozę z Lyme, erlichiozę i im zostanie poświęcone doniesienie oraz rzadziej występujące: tularemia, gorączka powrotna, gorączka Q i piroplazmoza.

Kleszczowe zapalenie mózgu (kzm).

Czynnikiem etiologicznym kzm jest wirus Flavi, którego materiałem genetycznym jest jednoniciowy kwas rybonukleinowy, a także trzy strukturalne białka (VI) M, (V2) C i (V3) E. W Europie istnieją dwa podtypy wirusa różniące się budową dwóch pierwszych białek strukturalnych, a glikoproteina E jest głównym induktorem przeciwciał neutralizujących. Wirus jest wrażliwy na wysuszenie, pasteryzacja w temp. 72°C inaktywuje go w ciągu 10 sekund. Ważnym z epidemiologicznego punktu widzenia jest fakt, że przy pH 2,75 do 11,55 jest aktywny przez 24 godziny, może więc spowodować zakażenie drogą pokarmową, np. mlekiem zakażonym wirusem, nie pasteryzowanym i jego produktami^(6,1 1).

Głównym przenosicielem i rezerwuarem wirusa kzm w Polsce są kleszcze *Ixodes ricinus*. Do zakażenia człowieka dochodzi w wyniku pokłucia przez zakażone kleszcze lub rzadziej drogą pokarmową. Wirus początkowo namnaża się w komórkach miejsca wtargnięcia, aby następnie drogą naczyń limfatycznych przedostać się do okolicznych węzłów chłonnych i narządów z obecnością komórek układu siateczkowo-śródbłonkowego, w których następuje dalsze jego namnażanie. W tym okresie inkubacji trwającym 2-28 dni nie obserwujemy jeszcze żadnych objawów klinicznych. Po nim rozpoczyna się I faza choroby - stadium wirerii - charakteryzująca się objawami tzw. grypopodobnymi: złym samopoczuciem, bólami mięśni i stawów, niezłym górnym dróg oddechowych, objawami dyspeptycznymi, wymiotami i temperaturą sięgającą 38°C. W tym okresie wirus można izolować ze krwi. W 70-80% przypadków okres ten kończy się całkowitym wyleczeniem, jednak u pozostałych po 1-20 dniach, tj. po 2-4 tygodniach od zakażenia następuje II faza choroby, tzw. neurologiczna, kiedy to wirus kzm drogą krwionośną lub chłonki przedostaje się do oun.

Odmienność oun w stosunku do innych narządów polega między innymi na zamknięciu się barierą anatomiczną i czynnościową co powoduje powstanie własnego statusu immunologicznego hamującego mechanizmy odpowiedzi komórkowej z równoczesną możliwością lokalnej syntezy przeciwciał neutralizujących lub opsonizujących wirus. Do neutralizacji wirusa kzm dochodzi zwykle w wyniku zahamowania absorpcji wirusa do powierzchni komórki nerwowej poprzez jego agregację, zmiany strukturalne białka wirusa

¹ zmiany jego punktu izoelektrycznego, oraz zahamowanie transkrypcji w wyniku działania przeciwciał na transkryptazę.

Generalnie uszkodzenie bariery krew plyn m.-rdz w kzm przy zastosowaniu wskaźnika albumin określa się jako łagodne lub średnie, rzadziej jako ciężkie. Jednak w zakażeniach ciężkich obraz kliniczny z utratą przytomności, drgawkami może przebiegać z nieuszkodzoną barierą krew - plyn co sugeruje brak zależności między stopniem uszkodzenia bariery a ciężkością obrazu klinicznego. Lokalna synteza przeciwciał do przestrzeni plynowych oun uważana jest za charakterystyczną dla procesów zapalnych, czego dowodem pasma oligoklonalne stwierdzone w pmr., obecność wzbudzonych limfocytów B oraz Wzrost stężenia immunoglobulin w pmr. Przeprowadzona przez Zajkowską ocena immunoglobulin klasy M, G i A w pmr i surowicy chorych z kzm wykazała znaczny wzrost ich

stężenia zarówno w badaniu wstępnym jak i po 4 tygodniach w porównaniu z grupą kontrolą. Na szczególne podkreślenie zasługuje stwierdzone przez autorkę późniejsze, tj. dopiero około 4 tygodnia trwania choroby narastanie stężenia IgA w pmr, co wydaje się być charakterystyczne dla kzm (20).

W zależności od lokalizacji procesu zapalnego w oun, kzm może przebiegać pod postacią:

- 1 *zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych* – meningitis (w około 43%) z objawami gorączki, bólów głowy, wymiotami, obecnością objawów oponowych.
- 2 *zapalenia mózgu i opon mózgowo-rdzeniowych* – encephalomeningitis (około 33%) – najczęściej z zaburzeniami świadomości i utratą przytomności lub zamroczeniem. W nielicznych przypadkach może wystąpić afazja, hemipareza lub tetrapareza. W tej postaci dochodzi też do uszkodzenia nerwów czaszkowych, najczęściej III, VII i VIII. W stanach tych można obserwować zaburzenia funkcji zwieraczy, zaburzenia ze strony autonomicznego układu nerwowego oraz zaburzenia psychiczne.
- 3 *zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, mózgu i rdzenia* – meningoencephalomyelitis (około 10%) – z obecnością niedowładów wiotkich części kończyn górnych niż dolnych. Zajęcie rogów przednich rdzenia kręgowego powoduje uszkodzenie mięśni proksymalnych kończyn. Zapalenie rdzenia przedłużonego w tej postaci może kończyć się śmiercią.
- 3 *zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, mózgu i korzonków rdzeniowych* – meningoencephaloradiculitis (około 5%) w której to postaci dochodzi do zapalenia korzeni nerwowych, najczęściej z zajęciem splotu ramiennego z następowym niedowładem kończyny, wymagającym intensywnej rehabilitacji

Ostre objawy kzm trwają zwykle 3–4 tygodnie i w zależności od postaci mogą przedłużyć się nawet do 40 tygodni lub przejść w postać przewlekłą z okresami poprawy i pogorszenia. Przebieg choroby ma też związek z wiekiem, u dzieci na ogół jest łagodny, podczas gdy u osób starszych bywa ciężki i niejednokrotnie z powikłaniami. Zakażenie wirusem kzm drogą pokarmową ma zwykle przebieg łagodniejszy.

Płyn mózgowo-rdzeniowy jest wodojasny, przejrzysty z cytozą od 100 do 800 komórek w 1 mm³, w 90% komórek jednojądrzastych, stężeniem białka od 50 do 200 mg%. Stężenie glukozy i elektrolitów nie odbiegają od normy. We krwi obwodowej obserwuje się leukopenię przechodzącą w drugim stadium choroby w leukocytozę, ze wzrostem odsetka granulocytów. W ciężkich postaciach można obserwować wzrost aktywności AspAT i AlAT oraz zmniejszenie stężenia białka całkowitego. W diagnostyce serologicznej kzm stosuje się głównie test immunoenzymatyczny ELISA, wprowadzane też są metody hybrydyzacji i PCR. Możliwa też jest hodowla wirusa(11).

We wczesnym okresie kzm postępowanie terapeutyczne sprowadza się do zwalczania obrzęku mózgu poprzez zastosowanie 20% roztworu mannitolu w dawce 1,0–1,5 g/kg m.c. w odstępach 4–6 godzinnych celem uniknięcia zjawiska tzw. wtórnego przewodnienia „z odbicia”. Można też podać furosemid w dawce 0,7–1,0 mg/kg m.c. Do leków zmniejszających obrzęk mózgu należą glikokortykoidy, głównie dexametazon (Dexaven) w dawce od 5 do 10 mg co 6 godzin. W stanach ciężkich dawkę zwiększa się do 100 mg/dobę. Zmniejszenie obrzęku mózgu można uzyskać stosując dożylnie lub doustnie glicerol. Leki przeciwwirusowe winny uwzględnić mechanizmy: inaktywujący wirusa, ochronę komórki przed jego inwazją i hamowanie replikacji wirusa. Jednym z leków o nieswoistych właściwościach immunostymulujących jest izoprynozyna. Przez bezpośredni wpływ na limfocyty T powoduje wzrost kompetencji limfocytów B, zwiększając proliferację i fagocytozę makrofagów co zwiększa syntezę immunoglobulin. Ponadto hamuje ona replikację wirusów. Działa też na procesy polirybosomalnej translacji, jak również zwiększa przechodzenie komórkowego mRNA z jądra do cytoplazmy, co powoduje stabilizację polirybosomalnych kompleksów mRNA. Ponadto zwiększa ona aktywność limfocytów cytotoksycz-

nych oraz komórek NK potęgując aktywność niektórych limfocytów T. Wzmaga działanie interferonu oraz interleukiny 2, wytwarzanych przez limfocyty T pobudzone antygenem wirusa. Lek stosuje się w dawce 100 mg/ kg m.c. /dobę przez 8–10 dni, powtarzając kurację 1–2 razy w postaciach lekkich oraz 6–8 razy w postaciach ciężkich z przerwami 8–10 dniowymi. Skuteczność acyklowiru (Herpesin, Heviran, Zovirax, Vidox) w kzm jest mało skuteczna. Interferon wyprodukowany z leukocytów wzbudził nadzieję na skuteczne leczenie ciężkich zakażeń oon, jednak w praktyce okazał się mało efektywny. TFX – polipeptyd pochodzący z grasicy ma właściwości przywracające prawidłową aktywność supresorywnych limfocytów T poprzez normalizację współdziałania ich z limfocytami pomocniczymi. Z własnych obserwacji wynika, że stosowany w dawce 30 mg/dobę przez okres 15 dni, szczególnie w postaciach przedłużających się, powoduje szybką normalizację cytozy i stężenia białka w pmr. Są też pojedyncze doniesienia o hamującym działaniu rifampicyny na replikację wirusa kzm.

W profilaktyce kzm należy uwzględnić przede wszystkim uodpornienie czynne osób narażonych na możliwość zakażenia wirusem, tj. pracowników leśnych, młodzież wyjeżdżającą na obozy, kolonie. Dostępna w Polsce jest szczepionka firmy Baxter (Austria) – FSME IMMUN. Nie zawiera ona żywego wirusa, a składa się z antygenu wirusa, wodorotlenku glinu, albuminy ludzkiej i formaldehydu. Do jej stosowania nie istnieje ani górna, ani dolna granica wieku. Jednak w pierwszym roku życia winna być stosowana w przypadkach dużej groźby zakażenia wirusem kzm. Aby uzyskać odporność przed sezonem aktywności kleszczy, pierwsza i druga dawka szczepionki winna być podana zimą w odstępach miesięcznych. Jeśli szczepienie rozpoczynamy latem, druga dawka powinna być podana po 14 dniach od pierwszego szczepienia. Trzecie szczepienie podstawowe należy przeprowadzić po 9–12 miesiącach. Po zakończeniu szczepień uzyskuje się odporność na zakażenie jeszcze przez trzy lata.

Przeciwwskazaniem do jej podania są ostre zakażenia, uczulenie na składniki szczepionki lub białko kurcze. Dużą ostrożność należy zachować u kobiet ciężarnych i karmiących.

Wśród działań niepożądanych należy wymienić reakcję miejscową (zaczerwienienie, obrzęk i ból w miejscu podania) oraz rzadko przemijające objawy ogólne w postaci gorączki, nudności i wymiotów.

Istnieje również profilaktyka tuż po pokłuciu w postaci podania swoistej immunoglobuliny ludzkiej FSME-Bulin. W dawce 0,1 ml/ kg m.c. podawana jest do 48 godzin od chwili ukłucia, a w dawce 0,2 ml/ kg m.c. do 96 godzin. Po upływie tego czasu jej podawanie jest niecelowe.

Borelioza z Lyme, choroba z Lyme

Borelioza z Lyme jest chorobą bakteryjną wywoływaną przez krętki *Borrelia burgdorferi*, należąca do rzędu Spirochaetales. Bakteria gram-ujemna, beztlenowa, zbudowana jest z protoplazmatycznego cylindra zawierającego co najmniej 40 antygenów i otoczonego błoną cytoplazmatyczną oraz liposacharydową. Błona komórkowa składa się z trzech białek specyficznych o zmiennej masie cząsteczkowej, tzw. antygenów powierzchniowych (outer surface proteins): OspA (31–32 kDa), OspB (34–36 kDa) i OspC (21–22 kDa). Białko OspC jest głównym białkiem wywołującym wczesną odpowiedź immunologiczną, podczas gdy OspA i OspB są białkami słabo immunogennymi. Do antygenów immunogennych o stałej masie zalicza się polipeptyd 41 kDa tzw. wiciowy i białko 60 kDa, będące wspólnym antygenem dla wielu bakterii, np. *Treponema*, *Legionella*, *Pseudomonas*, wywołujące reakcje krzyżowe. Badania genetyczne *B. burgdorferi sensu lato* (w szerokim pojęciu) wykazały istnienie wielu gatunków: *B. burgdorferi sensu stricto* występującą w USA powodującą Lyme arthritis i głównie w Europie: *B. afzeli* wywołującą zanikowe zapalenie skóry oraz *B. garinii* odpowiedzialną za rozwój neuroboreliozy. Wektorem przenoszącym zakażenie są kleszcze z rodzaju *Ixodes*. Zakażenie kleszczy w USA ocenia się na 60%, natomiast w Europie na 31%, w Polsce w zależności od regionu sięga od 3,5% do 58,3% (2,12,15).

Choroby odzwierzęce i pasożytnicze

Do zakażenia człowieka krętkiem *B. burgdorferi* dochodzi w wyniku pokłucia przez zakażonego kleszcza - najczęściej nimfę - wtarcie kału, śliny, wymiocin, rozgniecenie kleszcza i wtarcie jego zawartości w zranioną skórę. Wg Pancewicza i wsp. odsetek osób z dodatnimi odczynami serologicznymi zakażenie *B. burgdorferi* w grupach wysokiego ryzyka

- rolników i leśników - Podlasia wynosi 23,68% (16).

W patogenezie boreliozy z Lyme należy wymienić: immunomodulujące składniki śliny kleszcza, uszkodzenie śródbłonna naczyniowego i jego stymulację do produkcji chemokin, molekuł adhezyjnych, białek ostrej fazy oraz zdolność krętków do poruszania się w macierzy pozakomórkowej. Istotnym elementem w patogenezie i przebiegu boreliozy jest tropizm narządowy krętków, produkcja przez limfocyty T cytokin prozapalnych (interferonu gamma, czynnika stymulującego tworzenie kolonii granulocytów i makrofagów - GM-CSF, interleukiny 1,2,6, czynnika martwicy nowotworów - TNF α) oraz sprawność fagocytarna ustroju (2,8,12,14).

Krętek ma zdolność wzbudzania odporności humoralnej oraz komórkowej. Obecność przeciwciał można wykazać w surowicy, skórze, płynie mózgowo-rdzeniowym i maziów- ce stawowej. Swoista odporność limfocytów T uwarunkowana obecnością antygeny *B. burgdorferi* jest dowodem trwającego zakażenia mimo braku obecności przeciwciał przeciwko *B. burgdorferi*. Obecność krętka w skórze może powodować jego rozprzestrzenianie się drogą limfatyczną, krwionośną lub nerwów obwodowych do szeregu układów, m.in. nerwowego, mięśniowo-szkieletowego, naczyniowego, serca, narządu wzroku. Może on też pozostać w miejscu wtargnięcia wywołując lokalne zakażenie mogące ulec samowyleczeniu. W patogenezie odpornych na leczenie przewlekłych, nawracających postaci boreliozy z Lyme, istotne znaczenie ma przetrwanie w tkankach antygenów *B. burgdorferi* związanych w nierozpuszczalnych kompleksach antygen-przeciwciała, które w niesprzyjających okolicznościach mogą ulec uczynnieniu(20).

Asbrink wyróżnia:

1. wczesną postać boreliozy z Lyme, a w niej stadium: zapalenia ograniczonego (rumień wędrujący, chłoniak limfatyczny skóry) i stadium zakażenia rozsianego (rumień wędrujący mnogi - wtórny, zapalenie mięśnia sercowego, zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, stawów i inne zmiany narządowe;
2. postać późna (przewlekła) może przebiegać jako: przewlekłe zanikowe zapalenie skóry, przewlekła neuroborelioza, przewlekłe zapalenie stawów oraz inne zmiany narządowe utrzymujące się co najmniej 12 miesięcy (1).

Rumień wędrujący (erythema migrans - EM) pojawia się u około 50-60% chorych po

1- 3 tygodniach w miejscu ukłucia kleszcza utrzymując się niekiedy od 6 do 8 tygodni. Początkowo jest to grudka lub plamka, rozszerzająca się nawet do 30 cm, o zabarwieniu jasnoczerwonym obwodowo i z przejaśnieniem centralnym ostro odgraniczona od skóry zdrowej. Rumień nawrotowy może pojawić się po kilku miesiącach lub roku jako następstwo uogólnionego rozsiewu krętka. Najczęściej zmiana usadawia się ponownie w miejscu zmiany pierwotnej(1,4,17).

Chłoniak limfatyczny skóry (lymphadenitis benigna cutis) występuje u ok. 1% osób. Najczęściej jego lokalizacją są płatki uszne, skóra nosa, brodawki sutka i moszna. Zwykle jest to sino czerwona zmiana, guzowata lub grudkowa, pojedyncza o średnicy 1-5 cm lub rzadziej rozsiana utworzona głównie z limfocytów *B.* Niekiedy obecności chłoniaka może towarzyszyć złe samopoczucie, stany podgorączkowe bóle kostno-stawowe i objawy neurologiczne). *Neuroborelioza* jako interakcja krętków z komórką nerwową może dotyczyć ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego.

Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (5-15 %) może pojawić się już w okresie rumienia wędrującego, często z porażeniem n. VII i jest wyrazem inwazji krętka do przestrzeni podpajęczynówkowej. Limfocytarnemu zapaleniu może towarzyszyć temperatura bóle głowy, stawów, senność, i osłabienie. Pleocytoza płynu m-rdz jednojądrzasta w około 90% si² gająca niekiedy do 500 kom/mm³, zwiększone stężenie białka od 50 do 150 mg%-zmiany ^{te} pojawiają się zwykle ok. 3 tygodnia choroby.

Aspekty kliniczno-terapeutyczno-profilaktyczne chorób przenoszonych przez kleszcze

Zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego (0,1%) zwykle o bardzo ciężkim przebiegu z zaburzeniami świadomości, oddychania, otępieniem, niedowładem spastycznym i upośledzeniem zwieraczy, może doprowadzić do rozwoju wodogłowia.

Zapalenie rdzenia kręgowego może dotyczyć każdego jego odcinka, kształtując obraz kliniczny. Zwykle postaci tej towarzyszą porażenia i niedowłady nn. czaszkowych, najczęściej n VII ale również nn III, IV, VI (dwojenie obrazu), częściej n V (drętwienie, ból i parestezje twarzy) n VII (objaw Bell'a) n VIII (utrata słuchu, zawroty głowy) n IX i X (dysfagia, chrypka) n XII (uszkodzenie języka)

Zapalenie naczyń mózgu - (vasculitis) prowadzi często do powstawania ognisk niedokrwiennych lub krwotocznych a w efekcie do udaru mózgu z następową padaczką.

Zapalenie korzeni nerwowych - (radiculitis) - zwykle jest następstwem inwazji krętlców do korzeni nerwowych. Objawy neuropatii ze strony kończyn mogą manifestować się zespołem Garin, Bujadoux i Bannwarth'a lub naśladować radikulopatie mechaniczne jak w dyskopatiach. Mogą też przebiegać jako zespół Guillain-Barre. Nie leczona neuroborelioza może trwać latami z okresami remisji i zaostrzeń (2,7,8,12,14,17,18).

Zakażenie krętkiem B. burgdorferi może przebiegać pod postacią *boreliozowego zapalenia stawów* (Lyme arthritis) a obecność krętka w stawach można wykazać już w pierwszych dniach EM. Choroba dotyczy jednego lub kilku stawów, najczęściej kolanowych (95%) następnie barkowych i skokowych. Stan zapalny stawu zwykle związany jest z zapaleniem mięśni ścięgien, kości, torebki stawowej, łąkotki. Choroba nie leczona może utrzymywać się latami z okresami zaostrzeń i remisji doprowadzając niejednokrotnie do usztywnienia stawów. W późnym okresie choroby badaniem rtg można stwierdzić zaniki kostne, zwężenie szpar stawowych, nadżerki w obrębie kości, kostnienie przyczepów ścięgien. We własnym materiale około 50% badanych, zmiany w obrębie stawów miały charakter przewlekły (19).

Zmiany w sercu - (*Lyme carditis*), (0,5%-10%) najczęściej przebiegają pod postacią zaburzenia przewodnictwa jako bloki przedsionkowo-komorowe I, II i III stopnia. Mogą też manifestować się zaburzeniami przewodnictwa śródkomorowego jak i napadowym migotaniem przedsionków. Zapalenie osierdzia często kojarzy się z zapaleniem m. sercowego co w konsekwencji może doprowadzić do niewydolności krążenia (12).

Zmiany oczne w przebiegu boreliozy z Lyme (1-3%) najczęściej manifestując się pęcherzykowym zapaleniem spojówek, obrzękiem okołogąłkowym, fotofobią, wylewami podspojkowymi. Są doniesienia o zapaleniu ciała szklistego, rogówki i tęczówki oraz n. wzrokowego prowadząc niekiedy do jego zaniku (13).

W przebiegu boreliozy z Lyme może dojść do uogólnionej *limfadenopatii* oraz zapalenia wątroby zwykle jednak o przebiegu łagodnym.

Zakażenie krętkiem B. burgdorferi może spowodować zaburzenia ze strony przewodu pokarmowego w postaci bólów brzucha, okresowych biegunek, zmian zapalnych w obrębie jelita. Krętek B. burgdorferi może też być czynnikiem etiologicznym zapalenia układu ^{en}dokrynnego pod postacią zapalenia tarczycy, podwzgórza, jąder. Może też powodować zapalenie pęcherza moczowego oraz nerek.

Zanikowe zapalenie skóry (acrodermatitis chronica atrophicans) jest późną postacią choroby z Lyme i charakteryzuje się pojawieniem czerwono-sinich rumieni na odsiebnych częściach kończyn, najczęściej usadowionych asymetrycznie na dłoniach, łokciach, stopach piętach. Długo trwający proces prowadzi do zmian zanikowych.

Nie ma pewności co do przezłożyskowego przenikania krętka z matki do płodu. Wg niektórych autorów krętek B. burgdorferi może jednak być przyczyną poronień, śmierci płodu

i porodów przedwczesnych. Zakażenie w I trymestrze ciąży może powodować wystąpienie wad rozwojowych serca oraz zapalenie mózgu (12).

Zakażenie krętkiem B. burgdorferi może być przyczyną wystąpienia *zaburzeń psychicznych* we wczesnej i późnej boreliozie z Lyme. Najczęściej jest to łagodna przewlekła ^{en}cefalopatia charakteryzująca się rozdrażnieniem, zmianą osobowości, sennością i ubytkami

pamięci (od 50–80%) zwolnieniem toku myślenia. Choroba może też charakteryzować się zaburzeniami depresyjnymi, napadami paniki, połączonymi z kołataniem serca bólem w klatce piersiowej, dusznością zawrotami głowy, depersonalizacją i derealizacją. W przebiegu boreliozy z Lyme może rozwinąć się zespół przewlekłego zmęczenia, którego objawem wiodącym jest wielomiesięczne lub kilkuletnie zmęczenie fizyczne i psychiczne(2).

Wczesna postać boreliozy niezależnie od wyniku serologicznego wymaga podania antybiotyku. W rumieniu wędrującym bezwzględny jest zastosowanie antybiotykoterapii najczęściej z grupy półsyntetycznych penicylin przez okres co najmniej 21 dni. Najczęściej stosowana amoksycyлина w dawce 3–4 g/dobę. Alternatywą może być podanie doxycykliny od 100–200 mg/dobę jak i minocyklina 200 mg/dobę. Donosi się o skuteczności azitromycyny w dawce 500 mg/dobę. W neuroborelioze antybiotykiem z wyboru są cefalosporyny II i III generacji głównie ceftriaksone 2,0 g/dobę lub cefotaksym od 4–6 g/dobę przez okres co najmniej 30–42 dni. Można również wykorzystać penicylinę krystaliczną podając ją ponad 20 mln /dobę przez 30–40 dni. Skuteczność leczenia sięga 90% leczonych. W późnych okresach efekt ten jest znacznie mniejszy i sięga zaledwie 50%. Szczególną trudność w leczeniu stanowią postaci przewlekłe Lyme arthritis. Stosowana dotychczas doxycykлина w dawce 200 mg/dobę przez 28–30 dni okazała się mało skuteczna i coraz częściej jest zastępowana cefalosporynami III generacji w dawkach podawanych przy leczeniu neuroboreliozy przez okres co najmniej 30 dni z okresową reterapią. W terapii przewlekłych postaci Lyme arthritis wykorzystywane są niesterydowe leki przeciwzapalne z uzupełnieniem leczenia rehabilitacyjnego sanatoryjnego.

Również w leczeniu Lyme carditis wykorzystuje się skuteczny efekt podawania cefotaksymu w dawce 6 g/dobę przez okres 24–30 dni. W tej postaci boreliozy wskazanym jest podawanie glikokortykosteroidów np. enkortonu w wyjściowej dawce 0,5 mg /1 kg m.c./na dobę oraz leków nasekowych wg ogólnie przyjętych zasad.

W profilaktyce choroby z Lyme zastosowanie efektywnej szczepionki napotyka na trudności z uwagi na różnorodność polipeptydów poszczególnych genogatunków krętków występujących w Europie i USA. W roku 1998 wprowadzono w USA szczepionkę LYMERix której podstawą jest białko Osp A z adjuwantem, uzyskane drogą rekombinacji DNA w formie lipidowej. Jej skuteczność w postaci pojawienia się specyficznych przeciwciał w surowicy oceniono po roku na 49% a po 2 latach na 76%. Szczepienia stosuje się wg schematu 0, 2, 12 miesięcy. U 0,1 % szczepionych wystąpiły przejściowe obrzęki stawów, bóle głowy, zmęczenie i miejscowy odczyn skórny. W Europie konieczna jest szczepionka multivalentna uzyskana z trzech europejskich szczepów B. burgdorferi.

Erlichioza

Erlichioza wywoływana przez *Ehrlichia chaffeensis*, *E. sennetsu*, *E. canis*, *E. platys*, *E. ewingii*, *E. phagocytophila*, *E. equi*, *E. risticii* należy do zoonoz, której rezerwuarem stanowią przede wszystkim psowate oraz dzikie ssaki, a wektorem są kleszcze *Ixodes ricinus*. Do 1999 roku nie była rozpoznawana w Polsce, kiedy to rozpoznano 2 przypadki tej choroby w Klinice Chorób Pasożytniczych i Neuroinfekcji w Białymstoku, potwierdzone badaniem PCR w PZH w Warszawie.

Ehrlichia jest bakterią Gram-ujemną, wewnątrzkomórkową, pozbawioną lipopolisacharydów i lipooligosacharydów w ścianie komórkowej. Obecność *Erlichii* w gruczołach ślinowych kleszcza potwierdza możliwość zakażenia podczas jego odżywiania się krwią człowieka lub zwierzęcia. Z miejsca wtargnięcia, drogą naczyń limfatycznych i krwionośnych, *Ehrlichia* atakuje komórki docelowe układu krwiotwórczego oraz siateczkowo-śródbłonkowego. Obecność *E. chaffeensis* oraz *E. canis* stwierdzono głównie w makrofagach i monocytach, wywołujących *ludzką monocytarną erlichiozę* (HME). *Ludzka granulocytarna erlichioza* (HGE) wywoływana przez *Ehrlichia* spp., *E. phagocytophila* i *E. equi* jest następstwem zakażenia granulocytów, a erlichioza spowodowana przez *E. sennetsu* występująca wyłącznie w Japonii powoduje uszkodzenie monocytów.

Cytopatyczne właściwości patogenu HGE są skutkiem jego zdolności do indukowania apoptozy w zakażonych komórkach. Udowodniono też produkcję cytokin prozapalnych: Il-1 beta, TNF alfa, Il-6 przez kompleksy immunologiczne antygen-przeciwciało *E. chaffeensis*.

W początkowym okresie choroby pojawia się temperatura, dreszcze, bóle głowy i mięśni, którym mogą towarzyszyć nudności, wymioty, biegunka i bóle brzucha. Niekiedy może pojawić się rumień plamkowo-grudkowy lub wybroczynowy. Postaci ciężkie erlichiozy mogą być wikłane zapaleniem płuc i ogólnym powiększeniem węzłów chłonnych.

Obraz kliniczny ludzkiej monocytarnej (HME) jak i granulocytarnej (HG E) erlichiozy jest bardzo zbliżony. Forma granulocytarnej charakteryzuje się wysoką temperaturą, dreszczami i zaburzeniami świadomości, a we krwi przeważa trombocytopenia i podwyższone stężenia kreatyniny. Chorobie towarzyszyć mogą oportunistyczne infekcje grzybowe i wirusowe. W erlichiozie monocytarnej natomiast dominują bóle stawów i znacznie częściej pojawia się rumień. We krwi obserwuje się leukopenię, a w szpiku kostnym i w wątrobie można wykazać obecność ziarniników. W przypadkach autopsyjnych obserwowano obecność wielonarządowych nacieków limfo-histiocytarnych.

Ciężka erlichioza może przebiegać pod postacią erlichiozy układowej z hepatosplenomegalią, pancytopenią, ostrym zespołem niewydolności oddechowej (ARDS), niewydolnością wątroby z cholestazą wątrobową, zespołem wewnątrznaczyniowego wykrzepiania oraz krwawieniem z górnego odcinka przewodu pokarmowego. U części chorych może wystąpić podrażnienie lub zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, często połączone z porażeniem nerwu VII oraz zaburzenia psychiczne. Niekiedy erlichioza może przechodzić w postać przetrwałą i powodować ubytki w procesach obronnych gospodarza, oraz hamować odpowiedź immunologiczną, co sprzyja rozwojowi wtórnych i oportunistycznych infekcji (3,4).

Rozpoznanie erlichiozy opiera się na obrazie klinicznym popartym wywiadem epidemiologicznym. Obecność moruli w cytoplazmie komórek krwi obwodowej jest najszybszą metodą skriningową w diagnostyce HG E. Diagnostyka serologiczna opiera się na pośredniej immunofluorescencji (IFA) z użyciem komórek linii HL 60 ludzkiej białaczki promiocytarnej bardzo wrażliwych na zakażenie *E. chaffeensis*. Za wynik dodatni przyjmuje się minimum czterokrotny wzrost lub spadek miana przeciwciał w przebiegu choroby. Podstawę stanowi miano 1: 80. Począwszy od 4 tygodnia można obserwować stopniowe obniżanie się miana, a w 17–38 tygodniu są zwykle mniejsze od 1: 80. W diagnostyce wykorzystuje się również metodę PCR oceniając sekwencje specyficznych nukleotydów 16SrDNA *E. chaffeensis* i czynnika HE.

Lekiem z wyboru w leczeniu erlichiozy są tetracykliny, które stosuje się w dawce 25 mg/kg/dobę lub doxycyklina w dawce 200 mg/dobę. Leki powinny być stosowane jeszcze co najmniej 3–4 dni po ustąpieniu ostrych objawów choroby. U małych dzieci i kobiet w ciąży tetracykliny mogą być zastąpione rifampicyną i chinolonami. Czynnikiem HE jest odporny na ampicylinę i ceftriakson. Jak dotąd brak jest skutecznej szczepionki przeciwko erlichiozie, a przebiecie erlichiozy nie powoduje powstania odporności. Zapobieganie chorobie polega głównie na unikaniu ekspozycji na kleszcze.

Piśmiennictwo

1. Asbrink E., Hovmark A.: *Scand J. Infect Dis*; 1991, suppl, 74, 41
2. Coyle P.K., Schutzer S.E., Deng Z. i wsp.: *Neurology*; 1995, 45, 2010
3. Daroust B., Boni M., Parzy D.: *Med. Mal Infect*; 1998, 28, 402
4. Gilot B., Perez-Eid C.: *Med. Mal. Infect*; 1998, 28, 325
5. Granström M.: *Clin Microbiol Inf*; 1997, 3, 2, 156
6. Gustafson R.: *Scand J. Infect. Dis*, 1994, suppl 92.
7. Haglund M., Forsgren M., Lindh G. i wsp.: *Scand. J Inf Dis* 1996, 28, 217
8. Halperin J.J.: *Neurology* 1997, 17, 1, 9
9. Heinz F.X.: *AMPIS* 1993, 101, 735

Choroby odzwierzęce i pasożytnicze

10. Hermanowska-Szpakowicz T.: Postępy Psych i Neurol; 1999,8,15
11. Hermanowska-Szpakowicz T., red Kleszczowe zapalenie mózgu, Białystok, 1996, AMB
12. Hermanowska-Szpakowicz T.: red Borelioza z Lyme, Białystok 1999 AMB-
13. Karma A., Seppala I., Mikkila H. i wsp.: AM J Ophtalmol; 1995,119,127
14. Kondrusik M., Iżycka A., Pancewicz S. i wsp.: Problemy Higieny; 1997,54,95
15. Pancewicz S.A., Januszkiewicz A., Hermanowska-Szpakowicz T.: Przeg. Epid. 1996,50,375
16. Pancewicz S.A., Zajkowska J.M., Kondrusik M. i wsp.: Med. Pracy; 1998,49,3,325
17. Sigal LH, Zahradnik JM, Lavin Ph, i wsp.: N.Engl J. Med.; 1998,339,4,216
18. Tylewska-Wierzbanowska S.: Przegl. Epid.; 1997,51,4,425
19. Zajkowska J.M., Pancewicz S.A., Iżycka A. i wsp.: Reumatologia; 1997,35,2,129

Nowe aspekty patologii klinicznej późnego okresu włośnicy

Wanda Kocięcka

Klinika Chorób Pasożytniczych i Tropikalnych Instytutu Mikrobiologii i Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej w Poznaniu

Postęp wiedzy w zakresie włośnia krętego i włośnicy dokonany w ciągu ostatniego 40-lecia dotyczy nie tylko poznania zasięgu geograficznego i wykrywania nowych gatunków *Trichinella* lecz i określenia struktury molekularnej antygeny pasożyta podnosząc w ten sposób wartość technik immunodiagnostycznych. Zgodnie ze współczesnymi kryteriami ocen, różnorodność obrazu i przebiegu klinicznego włośnicy zależy nie tylko od intensywności inwazji i odpowiedzi immunologicznej żywiciela lecz także od typu genetycznego włośnia krętego.

Patologia kliniczna ostrego okresu włośnicy od wielu lat zajmuje naczelną rolę w ocenach lekarzy parazytologów i chorób zakaźnych i jest tematem licznych doświadczeń warsztatów badawczych. Patomechanizm ostrego okresu włośnicy jest złożony i uwarunkowany jest rozwojem dwóch generacji włośnia krętego. Jest więc ściśle związany z przebiegiem fazy jelitowej i mięśniowej. Łańcuch zjawisk immunopatologicznych zainicjowany jest przez antygen ekskrecyjno-sekrecyjny (E/S) uwalniany przez stichocyty postaci dojrziałych i larwalnych *Trichinella*. Efektem współdziałania licznych czynników tj. komórek odczynu zapalnego, mediatorów uwalnianych przez komórki docelowe, eozynofiliów i cytokin jest powstanie odpowiedzi komórkowej i humoralnej. Odczyn nadwrażliwości typu natychmiastowego odgrywa wiodącą rolę w patologii wczesnego okresu włośnicy i dynamika jego w dużym stopniu decyduje o ciężkości procesu chorobowego i jego następstwach.

W wyniku zagnieżdżenia się i otarbiania larw *Trichinella* w docelowym biotopie czyli w komórkach mięśni poprzecznie prążkowanych powstają zmiany patomorfologiczne, biochemiczne i zaburzenia bioelektryczne. Transformacja bazofilna jest główną i istotną zmianą w komórce mięśniowej warunkującą pobyt w niej i przeżywanie larwy przez długi okres czasu (6). Powstaje nowy typ komórki żywiciela tzw. Nurse-cell, która jest wewnątrzkomórkową niszą larwy *Trichinella* (4). Ustabilizowanie homeostazy następuje z chwilą utworzenia się torebki wokół larwy w okresie od 18 – 20 dnia od inwazji. W tym samym czasie zaobserwowano two-

rzenie się sieci naczyń włosowatych wokół zajętych komórek mięśni (1). Chociaż natura tego zjawiska nie jest w pełni poznana, to jednak z punktu widzenia lekarskiego waskularyzacja torebki posiada duże znaczenie dla czasu przeżywania larwy u żywiciela i jej wymiany metabolicznej oraz przenikania anthelmintyków stosowanych w terapii włośnicy.

Późny okres włośnicy i problem następstw po przebytej inwazji jest tematem podejmowanym od lat 60-tych, głównie przez autorów z ośrodków klinicznych w naszym kraju (16, 21, 2, 10, 11, 8, 15, 3). Zainteresowanie tym tematem wynikało z potrzeby wyjaśnienia przyczyn dolegliwości zgłaszanych przez chorych w odległym czasie od przebytej włośnicy. Jednakże, zdania i opinie klinicystów na ten temat były rozbieżne. Jedni z autorów (16, 21, 2) skłonni byli rozpoznawać „przewlekłą włośnicę „lub” metawłośnicę”, czemu stanowczo przeciwstawiała się grupa innych klinicystów z ośrodka warszawskiego (10, 11). Wyrażali oni opinię, iż dolegliwości zgłaszane przez osoby, które przebyły włośnicę przed kilkoma laty nie mają związku z inwazją, ponadto, brak aktywności i dalszego rozwoju larw *Trichinella* oraz postępowania procesu patologicznego nie upoważniają do tworzenia pojęcia przewlekłej włośnicy.

Z drugiej strony, parazytologzy ośrodka poznańskiego (8, 3, 13) obserwując znaczną liczbę chorych z dolegliwościami ze strony układu ruchu utrzymującymi się w ciągu kilku lat od przebytej włośnicy, występowanie zmian w zapisie elektromiograficznym oraz zmiany patomorfologiczne w biopsjach tkanki mięśniowej – nie wykluczali możliwości istnienia późnych następstw.

Zaznaczyć należy, iż znacznym utrudnieniem w rozstrzygnięciu i interpretacji objawów patologicznych tego okresu były niejednolite i niezbyt doskonale wówczas testy immunoserologiczne, wykonywane najczęściej fragmentarycznie.

Od czasu wprowadzenia technik immunoenzymatycznych (ELISA) problem późnego okresu włośnicy i następstw inwazji został podjęty ponownie i wymaga nowych analiz i ocen.

Interesujących choć nie pełnych danych dostarczają współczesne prace klinicystów (5, 17, 20, 14, 9) którzy u chorych badanych po upływie 3 do 10 nawet lat od przebytej włośnicy wykazali w wysokim odsetku obecność przeciwciał przeciw antygenowi E/S *Trichinella*. Marinčulić i wsp. (17) wśród 33 osób badanych wykazali nie tylko obecność przeciwciał w klasie IgG (u 81.8%) lecz i występowanie przeciwciał w klasie IgM (u 32%). W badaniach parazytologicznych i histopatologicznych wykazali ponadto obecność larw *Trichinella* częściowo uwapnionych i w pojedynczych przypadkach utrzymywanie się transformacji bazofilnej (14).

W obszernej pracy Pieloka (18) z Kliniki Chorób Pasożytniczych i Tropikalnych na podstawie badań przeprowadzonych u 75 osób problem następstw po przebytej włośnicy przedstawiono w nowym świetle. Na podstawie szczegółowej analizy klinicznej chorych badanych po upływie 1 roku, 3 i 4 oraz 6 i 7 lat od przebytej inwazji występowanie dolegliwości ogólnych i ze strony układu ruchu stwierdzono u 77.3% badanych osób; najczęściej notowano je u osób w ciągu pierwszych 4 lat od zarażenia. Wśród objawów dominowały bóle mięśni (80%) kończyn dolnych oraz tułowia, rzadziej nużliwość mięśni (26.6%), mrowienie i drętwienie kończyn (21.3%); w podobnym odsetku występowały dolegliwości ze strony serca w postaci ucisku i kołatania; niektórzy chorzy żalili się również na nadmierną potliwość (20.0%); stany podgorączkowe, ogólne szybsze męczenie się, okresowe obrzęki powiek i pieczenie spojówek notowano rzadziej (od 6.7% do 8.0%).

Badania prowadzone w naszej Klinice zgodne są z opinią Harms'a i wsp. (9), iż problem następstw inwazji *Trichinella* jest złożony i długotrwały. Wynika to z 10-letnich obserwacji tych autorów u 128 chorych, u których stwierdzono bóle mięśni u 90% badanych, a zaburzenia natury neurologicznej u 52% obserwowanych. Dodać należy, że pomimo bardzo odległego czasu od zarażenia włośniem krętym obecność przeciwciał p-antygenowi *Trichinella* wykryto w 38% przypadków.

Obecność przeciwciał p-antygenowi E/S *Trichinella* sp. we krwi wykrywanych przy pomocy nowoczesnych technik immunoenzymatycznych tj. metodą ELISA oraz testu Inhibicji Kompetycyjnej (CIA) w pełni potwierdzają i uzupełniają obraz patolo-

Choroby odzwierzęce i pasożytnicze

gii klinicznej późnego okresu przebytej włośnicy. Dowodem tego są wcześniejsze prace wymienionych autorów (5, 9, 17, 14), oraz najnowsze badania niektórych klinicystów (18).

Z badań przeprowadzonych w naszej Klinice przy pomocy testu ELISA u 75 chorych (18) wynika, że obecność przeciwciał w klasie IgG p-antygenowi *Trichinella* towarzyszy dolegliwościom u większości badanych chorych tj. w 77.3% przypadków, przyczym, aż u 56.0% wartości (OD) testu ELISA są wysokie i przekraczają 1.200 OD. Analiza porównawcza indywidualnych i zbiorczych wyników badań dokonana przy pomocy metod statystycznych wskazuje iż rozkład wartości testu ELISA niezależnie od czasu jaki upłynął od inwazji jest podobny do stwierdzanego w ostrym okresie choroby. W grupach z przebyłą pełnoobjawową postacią włośnicy (szczególnie o przebiegu ciężkim i średniociężkim) utrzymywanie się przeciwciał przez długi okres czasu, może świadczyć o przewlekłej stymulacji ich pod wpływem antygeny uwalnianego przez większą masę larw zagnieżdżonych w tkance mięśniowej.

Swoistość przeciwciał przeciw-antygenowi E/S *Trichinella* potwierdzona została w naszych badaniach testem CIA (Competitive Inhibition Assay) w 96.4% przypadków i przewaga wyników badań o niskich mianach (od 1: 40 do 1: 80) stwierdzona u 50% badanych osób po upływie 4, 6 i 7 lat od inwazji wskazuje na przewlekły i nie wygasły proces patologiczny. Występowanie także wysokich mian testu CIA (od 1: 320 do 1: 2560) u 46.1% badanych osób w ciągu kilku lat od przebytej włośnicy nie zawsze odpowiadało wysokim wartościom testu ELISA i nie było zależne od ciężkości przebiegu klinicznego w ostrym okresie choroby.

Wysoka immunogenność antygeny włośnia krętego została potwierdzona już we wcześniejszych badaniach doświadczalnych. Uważa się, że wyrazem ciągłej obecności antygeny jest tworzenie się kompleksów immunologicznych wokół larw mięśniowych. Zjawisko to jest cennym elementem w interpretacji patologii mięśni w różnych okresach inwazji.

Dociekanie przyczyny utrzymujących się dolegliwości ogólnych i ze strony układu ruchu od dawna uzasadniały przeprowadzanie badań elektromiograficznych u osób po przebytej włośnicy (13, 19). Wyniki uzyskanych badań nie były jednakże porównywalne ze względu na przeprowadzanie ich w różnych okresach czasu i wybór niejednakowych grup mięśni. Jednakże, wszyscy autorzy podkreślali występowanie zapisu o cechach miogen-nych.

We współczesnej natomiast ocenie bioelektrycznej układu mięśniowego według naszej opinii niezbędne jest łączenie badań elektromiograficznych (EMG) i elektroneurograficznych (ENG).

W badaniach EMG przeprowadzonych u 44 osób od 1 roku do 7 lat po przebytej włośnicy (18) stwierdzono obniżenie amplitudy skurczu mięśni (wybranych grup kończyn dolnych) poniżej 500 uV (norma od 500 do 1000uV) w niewielkim odsetku badanych (od 11% do 31.8%) lecz świadczy to o miogennym zapisie fizjopatologicznym. Natomiast, niepełną interferencję zapisu wykrywano obustronnie wielokrotnie częściej (u 61.3% i 86.3% osób) co jest wyrazem osłabienia siły mięśniowej i odpowiadałoby skargom zgłaszanym przez naszych chorych.

Analiza elektroneurograficzna (ENG) w zakresie n. peroneus i n. tibialis u niektórych chorych wykazała zwolnioną szybkość przewodzenia impulsów we włóknach ruchowych poniżej 40 m/sek (norma od 40 do 50 m/sek.) świadcząc o zaburzeniu funkcji włókien n- ruchowych i uszkodzeniu osłonki mielinowej. Cenne jest także badanie amplitudy potencjału wywołanego (norma od 3000 do 5000uV). W badaniach naszych znacznego stopnia obniżenie amplitudy występowało u 52.3% badanych osób. Zaburzenia tego typu świadczą o aksonopatii i wskazują na istnienie patologii w zbiegu aksonu i komórki docelowej tj. komórki mięśniowej. Jest to nowym i ważnym znaleziskiem w badaniach ENG późnego okresu włośnicy.

Analiza zbiorcza i interpretacja szczegółowa danych EMG i ENG wykazała, że patologiczny zapis bioelektryczny w odległym czasie od przebytej włośnicy występuje ogółem u 84.0% badanych chorych lecz charakter zapisu jest różny. I tak, do najczęściej stwierdzanych należą zaburzenia mieszane o cechach miogennych i neuralnych (59% badanych), podczas gdy zapis wyłącznie neuralny występuje rzadziej (20.4% przypadków), a wyłącznie miogenny tylko w pojedynczych przypadkach (4.6% osób).

Wykazanie patologii przy pomocy badań bioelektrycznych układu mięśniowego u osób po przebytej włośnicy jest istotnym elementem niezbędnym w obiektywnej ocenie klinicznej chorych z dolegliwościami ze strony układu ruchu.

Występujące zaburzenia, chociaż nie są patognomiczne dla przebytej włośnicy, to jednak po wykluczeniu przyczyn o innej etiologii mogą służyć w znacznym stopniu wyjaśnieniu objawów.

Ważnym kryterium w ocenie układu mięśniowego w odległym czasie od przebytej włośnicy jest badanie parazytologiczne i histopatochemiczne bioptatów tkanki mięśniowej. Posługiwano się tymi kryteriami od wielu lat w naszej Klinice współpracując z Katedrą Patomorfologii Klinicznej AM w Poznaniu. Już wcześniejsze badania w latach 70-tych (8, 13) przeprowadzone u 65 osób kontrolowanych po upływie 3 do 8 lat po przebytej włośnicy i nie leczonych anthelmintykami w ostrym okresie inwazji wykazały obecność aktywnych larw *Trichinella* w 53 przypadkach (81.5% badanych), a w innej grupie 30 osób w 23.3% przypadków stwierdzono obecność utrzymujących się nacieków komórkowych i transformację bazofilną u 63.3% badanych osób. Przemawiało to za długotrwałą zdolnością przeżywania larw w tkankach żywiciela, i nie można wykluczyć związku tego zjawiska z brakiem stosowania terapii anthelmintykami z grupy benzimidazoli w tych latach.

Z kolei w bioptatach tkanki mięśniowej 24 osób leczonych anthelmintykami w ostrym okresie włośnicy i badanych po upływie 1–7 lat od inwazji wykazano (18) obecność larw w 47.8% przypadków, a proces wapnienia u 34.7% po upływie 3 lat od zarażenia. Na szczególne podkreślenie zasługuje obecność transformacji bazofilnej stwierdzana pomimo tak późnego okresu u 56.5% przypadków świadcząc o nie wygasłym procesie patologicznym; obrazu dopełnia obecność nacieków komórkowych w 62.5% badanych bioptatów. Nie opisywanym dotąd znaleziskiem patomorfologicznym jest występowanie cech zaniku komórek mięśniowych oraz rozrost tkanki łącznej międzywłókienkowej. Nie można pomijać wpływu tych zmian w interpretacji objawów klinicznych i cech patologicznych w zapisie fizjopatologicznym mięśni.

W dokonywaniu więc analizy odległych następstw po przebytej włośnicy nie można pominąć rozważań nad wpływem leczenia prowadzonego w ostrym okresie choroby. Jak wiadomo bowiem, stosowanie anthelmintyków z grupy benzimidazoli w ciągu pierwszych 3 dni od zarażenia nie dopuszcza do osiągnięcia dojrzałości płciowej pasożyta i rozwoju fazy jelitowej, a podanie leków do 5-tego dnia inwazji zapobiega rodzeniu drugiej generacji larw *Trichinella* i rozwojowi fazy mięśniowej. Stąd rozpoczęcie leczenia anthelmintykami w ciągu pierwszego tygodnia posiada kluczowe znaczenie w zapobieganiu choroby i w dalszym prognozowaniu. Z licznych dokumentacji klinicznych dotyczących włośnicy wynika jednakże, że chorzy zgłaszają się do leczenia najczęściej w toku w pełni rozwiniętych objawów chorobowych. Przykładem tego są wyniki badań retrospektywnych u naszych chorych (zebrane w okresie od 1 do 7 lat) od przebytej włośnicy. Wykazały one, że leczenie anthelmintykami w ostrym okresie choroby (w tym głównie mebendazolem) rozpoczynano u 50.7% osób w późnym okresie fazy jelitowej i w okresie szczytu inwazji larw do mięśni tj. w IV i w V tygodniu od zarażenia; natomiast najmniejszą liczbę chorych kierowano do leczenia klinicznego w II tygodniu (9.5%) i w III tygodniu (5.4%), a leczenie pozostałych chorych (28.7%) rozciągało się na okres od VI do IX tygodnia od zarażenia. Przedstawione dane są podstawą cennego argumentu w wyjaśnianiu przyczyny odległych następstw włoś-

śnicy. Z całą pewnością można sądzić, że stosowanie anthelmintyków w tak późnym okresie inwazji chociaż przyczyniło się do ostatecznej eliminacji postaci dojrzałych ze światła przewodu pokarmowego, to jednak nie zapobiegło migracji II generacji larw do tkanki mięśniowej i inicjowaniu patologii narządowej. Świadczy o tym pełnoobjawowy przebieg włośnicy u 68 chorych (90.7%) spośród 75 badanych, wśród których postaci i średniociężką chorobę rozpoznawano u 40 tj. u 53.4% chorych. Z drugiej strony przeprowadzona terapia anthelmintakami z grupy benzimidazoli (mebendazol, albendazol, thiabendazol) w tak późnym okresie, po otorbieniu się larw w komórkach mięśni mogła jednakże w dużym stopniu przyczynić się do uszkodzenia struktury znacznej liczby larw, i do postępującej ich destrukcji oraz uwalniania antygeny. Efektem tego zjawiska jest przewlekła stymulacja swoistych przeciwciał.

Wśród klinicystów istnieje powszechnie przyjęta zasada, że stosowanie anthelmintyków w późnym okresie włośnicy (po otorbieniu się larw *Trichinella* w tkance mięśniowej) nie jest uzasadnione, z uwagi na niską skuteczność leczenia i możliwość wywołania ogólnego i miejscowego odczynu w postaci masywnych nacieków komórkowych w otoczeniu komórek zajętych przez larwy. Dotyczy to szczególnie leczenia thiabendazolem.

Wykazano to także w badaniach doświadczalnych u zwierząt leczonych mebendazolem (22) lub thiabendazolem (12, 7). Jednakże, pomimo późnego stosowania thiabendazolu u szczurów (7) dezintegrację larw *Trichinella* stwierdzono w 40%, a cechy transformacji bazofilnej warunkujące przeżywanie larw spotykano rzadziej w porównaniu z grupą kontrolną. Kolejnym dowodem częściowego efektu terapeutycznego w wyniku późnego stosowania thiabendazolu u małp *Macaca Mulatta* pomiędzy 145–150 dniem od zarażenia jest redukcja liczby larw *Trichinella* w tkance mięśniowej o 41,3% stwierdzana po upływie 55 dni od leczenia (12). Jednakże, w tym samym czasie obserwowano u zwierząt zaostrenie objawów klinicznych w postaci obrzęków wokół oczu, stanów gorączkowych i niemożności poruszania się z powodu bólów i obrzęków mięśni.

Podsumowanie

Na podstawie dotychczas udokumentowanych danych i współczesnych analiz klinicznych wynika, że proces patologiczny po przebytej włośnicy nie ustępuje całkowicie. W ciągu następnych lat manifestować się może u przeważającej liczby osób:

- zespołem klinicznych objawów ogólnych i ze strony układu ruchu oraz obecnością przeciwciał p-antygenowi E/S *Trichinella* sp.;
- występowaniem zaburzeń bioelektrycznych w zakresie mięśni o cechach neuralnych lub miogennych;
- obecnością larw *Trichinella* sp. w tkance mięśniowej, przeżywających przez okres kilku lat i ulegających w miarę upływu czasu postępującej destrukcji i wapnieniu;
- obecnością transformacji bazofilnej i nacieków komórkowych w tkance mięśniowej świadczących o trwającym procesie patologicznym

Stopień aktywności tych zmian i czas ich utrzymywania się zależne są nie tylko od dawki inwazyjnej i intensywności inwazji, gatunku *Trichinella* lub odczynu żywiciela lecz i od okresu rozpoczęcia leczenia anthelmintykami; determinują one czas trwania inwazji jelitowej i dopełnianie się larw do mięśni oraz czas ich przeżywania lub procesu obumierania i wapnienia. Utrzymywanie się i stopień odpowiedzi immunologicznej a zwłaszcza humoralnej w ciągu kilku lat jest wyrazem przewlekłej stymulacji pod wpływem antygeny uwalnianego przez larwy nie tylko o zachowanej witalności lecz i ulegające postępującej destrukcji.

Tak więc, patologia kliniczna odległego okresu od przebytej włośnicy jest przewlekłym procesem chorobowym przebiegającym z towarzyszeniem odpowiedzi humoralnej, wynikającym z postępującej likwidacji larw włośniczaka i nie w pełni wygasłych zmian patomorfologicznych i metabolicznych tkanki mięśniowej.

PIŚMIENNICTWO

1. Baruch A.M., Despommier D.D.: J. Parasitology, 1991, 77, 99.
2. Boroń P, Jeżyna Cz.: Wiad. Parazytol., 1968, 14, 2, 101.
3. Chodera L., Gerwel Cz., Kocięcka W. i wsp.: Wiad. Parazytol., 1974, 20, 125, 1.
4. Despommier D.D.: Trichinella and Trichinellosis (Ed by W.C. Campbell) Plenum Press, New York and London, 1983, 75.
5. Froscher W., Gullota F., Saathoff M.: Eur. Neurol., 1998, 28, 221.
6. Gabryel P, Gustowska L., Błotna M. i wsp.: Wiad. Parazytol., 1969, 15, 5-6, 655.
7. Gabryel P, Gustowska L., Błotna-Filipiak M., In: Trichinellosis (Ed. Charles W. Kim) Intext Education Publishers, New York, 1974, 135.
8. Gerwel Cz., Kocięcka W., Pawłowski Z.: Epidemiological Rev, 1970, 26, 262.
9. Harms G., Binz P., Feldmeier H. i wsp.: Clin. Infect. Dis. 1993, 17, 637.
10. Kassur B., Januszkiewicz J.: Przegl. Epidemiol., 1970, 26, 2, 153.
11. Kassur B., Januszkiewicz J. and Poznańska H. In: Trichinellosis (Ed. Charles W. Kim, E.J. Ruitenber and J.S. Teppema) Reedbooks Ltd, 1981, 245.
12. Kocięcka W., Gerwel Cz., Pawłowski Z. i wsp.: Trichinellosis (Ed. Charles W. Kim) Intext, New York, 1974, 123.
13. Kocięcka W., Kaczmarek J., Stachowski B. i wsp.: Wiad. Parazytol. 1975, 25, 4-5, 721.
14. Kocięcka W., Mrozewicz B., Gustowska L. i wsp. Trichinellosis (Ed. G. Ortega-Pierres, Gamble H.R., F. Van Knapen and D. Wakelin), Cent. Inv. Estud. Avan. I.P.N., Mexico, 1997, 611.
15. Kostrzewski J.M., Politowicz J., Gancarz i wsp.: Przegl. Epidemiolog., 1975, 29, 1, 57.
16. Kozar Z., Sładki E. and Zak D.: Wiad. Parazytol., 1964, 10, 665.
17. Marinculic A., Lucinger S., Milas J. et al In: Trichinellosis (Ed. W.C.Campbell, E. Pozio and F. Bruschi) Istituto Superiore di Sanita Press, Rome, Italy, 1994, 347.
18. PielokŁ.: Wiad. Parazytol., 2000 (przygotowane do druku).
19. Pogonowska H. and Fabian F. In: Trichinellosis (Ed Charles W. Kim, E. J. Ruitenber and J.S. Teppema) Reedbooks Ltd, 1981, 247.
20. Prokopowicz D., Boroń P., Szadkowska D. i wsp., Wiad. Parazytol., 1989, 35. 5. 467.

Zatrucia pokarmowe – odzwierzęce zatrucia pokarmowe – światowe i krajowe problemy epidemiologiczne

Hanna Stypułkowska-Misiurewicz
Państwowy Zakład Higieny, Warszawa

Choroby pochodzenia pokarmowego, często określane jako zatrucia pokarmowe, są to wszystkie choroby związane ze spożyciem żywności i wody zakażonej patogennymi mikroorganizmami (bakteriami, wirusami pasożytami), skażonej produktami ich metabolizmu lub zawierającej naturalne toksyny roślin i zwierząt (wytwarzane przez grzyby, jagody, skorupiaki czy ryby), a również toksyczne dla człowieka skażenia chemiczne.

Choroba najczęściej pojawia się w ciągu kilku godzin do dwóch dni po zjedzeniu produktu. Jej objawem bywają nudności, kurczowe bóle żołądka i jelit, wymioty i biegunka.

Choroby odzwierzęce i pasożytnicze

Odwodnienie i zaburzenia elektrolitowe mogą powodować wzmożone pragnienie, zamroczenie i omdlenie. Można uznać, że zatrucia pokarmowe są najczęściej spotykanym schorzeniem odzwierzęcym występującym w krajach przemysłowo rozwiniętych. Rezerwuarem i źródłem zakażenia jest zwierzę, ale nośnikiem czynnika patogennego jest produkt pochodzenia zwierzęcego: mięso, podroby, mleko, jaja, i t.p., a również skażona odchodami zwierzęcymi woda użyta do sporządzania potraw, mycia owoców, płukania naczyń, podlewania upraw, zraszania warzyw. Szczególnie trudnymi przypadkami są zatrucia spowodowane „zdrową żywnością”: kielkami hodowanymi z ziaren zakażonych odchodami zwierzęcymi, lub w zakażonej nimi wodzie, przyprawami dodawanymi do gotowych potraw po obróbce cieplnej (zioła, pieprz, szczypiorek inne dodatki smakowe).

Najwięcej przypadków zachorowania występuje sporadycznie, część w małych, najczęściej rodzinnych, niekiedy instytucjonalnych ogniskach zachorowań. Publiczne zainteresowanie pobudza liczne zachorowania grupowe, często o szerokim zasięgu, występujące jedno-czasowo i dezorganizujące życie społeczne. Prowadzone w tych ogniskach dochodzenie epidemiologiczne poparte badaniami laboratoryjnymi staje się cennym źródłem informacji o przyczynach i skutkach zatrucia pokarmowego niezbędnym do ew. wdrożenia postępowania zapobiegawczego.

Zachorowania i zatrucia pokarmowe, jako choroba najczęściej mają przebieg lekki, czasem średnio-ciężki, stosunkowo bardzo rzadko śmiertelny, ale mogą być groźne dla niemowląt i małych dzieci, kobiet w ciąży, osób w wieku podeszłym, lub chorych przewlekłe ew. leczonych środkami immunosupresyjnymi.

Szczególnie niebezpieczne może być zatrucie toksyną *Clostridium botulinum* - jadem kiełbasianym, ze względu na jego powinowactwo do układu nerwowego i ew. możliwość wystąpienia niewydolności oddechowej. Zatrucie może wbrew nazwie wystąpić po spożyciu konserw rybnych, warzywnych, zwłaszcza przygotowywanych w domu, a nawet po spożyciu miodu z zarodnikami bakterii.

Najczęściej występujące przypadki zatrucia pokarmowego zwykle leczone są objawowo, nie stanowiąc problemu diagnostycznego ani leczniczego. Dla oceny sytuacji epidemiologicznej, a przede wszystkim dla wdrożenia działań zapobiegawczych koniecznym jest rozpoznanie czynnika etiologicznego zachorowań, nośników zakażenia i dróg jego szerzenia się.

Tabela 1 Czynniki wpływające na zmianę epidemiologii zachorowań pochodzenia pokarmowego (USA)

Nowe czynniki zakaźne	– np. <i>Yersinia enterocolitica</i> , <i>Campylobacter jejuni</i> <i>E.coli</i> 0157
Adaptacyjne zmiany w znanych patogenach	– np. wśród szczepów <i>S.typhimurium</i> powstają klony lekoodporne
Zmiany demograficzne	– starzenie się populacji ludzkiej, wzrost populacji o obniżonej odporności na zakażenie
Zmiany nawyków	– wzrost spożycia świeżych owoców i warzyw wzrost częstości żywienia pozadomowego spadek wiedzy o procedurach zapewniających bezpieczną żywność rozwój turystyki
Zmiany w przemyśle i technologii	– coraz bardziej masowa produkcja żywności (i rozwój przemysłowego chowu zwierząt) szeroka dystrybucja produktów żywnościowych (gospodarka globalna)

Zatrucia pokarmowe - odzwierzcę zatrucia pokarmowe

Ostatnio, zwłaszcza w krajach rozwiniętych, zwraca się uwagę na koszty ekonomiczne związane z zakażeniami i zatruciami pokarmowymi, koszty ubezpieczenia zdrowotnego, koszty utraty zarobków pracowniczych i koszty utraty zysków paraliżowanych przedsiębiorstw. W różnych krajach publikowane są opracowania ekonomiczne wskazujące na zysk z prowadzonych działań zapobiegających zatruciom i zakażeniom pokarmowym. W USA corocznie choruje 81 000 000, umiera 9000 osób. Choroby szerzące się poprzez żywność kosztują społeczeństwo USA ok. 22 miliony dolarów rocznie.

Z analizy danych dotyczących liczby zachorowań rejestrowanych przez służby sanitarne różnych krajów i uzyskiwanych w ramach różnych programów badawczych wynika, że wzrasta liczba corocznie rejestrowanych zachorowań we wszystkich krajach publikujących dane statystyczne. Prognozuje się, że w nadchodzącym stuleciu liczba zachorowań związanych ze spożyciem żywności będzie nadal wzrastać. Wzrost ten należy traktować jako rzeczywisty. Decyduje o tym szereg czynników wpływających na zmianę epidemiologii zachorowań pochodzenia pokarmowego wymienionych w tabeli 1.

Etiologia najczęściej spostrzeganych zachorowań przedstawia się różnie w zależności od tego czy analizowane są zachorowania epidemiczne, czy sporadyczne. W większości krajów uprzemysłowionych w zachorowaniach sporadycznych dominują zachorowania wywołane przez *Campylobacter jejuni*, na drugim miejscu wywołane przez *Salmonella*. W zachorowaniach zbiorowych we wszystkich krajach dominują zachorowania wywołane przez *Salmonella*, głównie jej odmiana serologiczna *S. enteritidis*. Jej tak liczne występowanie we wszystkich krajach rozwiniętych gospodarczo oceniane jako światowa pandemia zachorowań wywołanych przez *S. enteritidis*. Odmiana ta jest szczególnie zaadaptowaną do kur hodowanych w warunkach hodowli przemysłowej. Zakażenie szerzy się wśród drobiu: brojlerów i kur niosek. Jaja kurze i kacze podlegają często zakażeniu jeszcze w drogach rodnych przed nabyciem skorupki. Spożywanie jaj lub potraw z nich przygotowanych bez odpowiedniej obróbki cieplnej jest najczęstszą przyczyną zatrucia pokarmowego.

Na podstawie wyników wybranych laboratoriów obliczono dla Stanów Zjednoczonych Am.Pln. przypuszczalną liczbę zachorowań ludzi i zgonów spowodowanych zakażeniem wybranymi odzwierzcęciami czynnikami chorobotwórczymi (tab.2)

Tabela 2 Przypuszczalna roczna liczba zachorowań i zgonów spowodowanych zakażeniem wybranymi odzwierzcęciami patogenami (USA)

Czynnik patogenny	Liczba zachorowań *10	Liczba zgonów *10	Żywność
<i>Campylobacter jejuni</i>	4000	0.2 - 1	Drób, mleko, woda
<i>Salmonella</i>	2000	0.5 - 2	Jaja, drób, mięso, surowe warzywa
<i>Escherichia coli</i> O 157: H7	725	0.1 - 0.2	Wołowina(mielona), mleko, sałata, woda, soki
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.5	0.25 - 0.5	Produkty gotowe do spożycia (sery, pasztety)
<i>Vibrio sp.</i>	10	0.05 - 0.1	Produkty morskie surowe lub niedogotowane

Znacznie większą liczbę czynników chorobotwórczych określano w badaniach epidemiologicznych prowadzonych na zlecenie Ministerstwa Zdrowia wśród chorych zgłaszających się do wybranych lekarzy ogólnie praktykujących w Anglii. Oprócz *Campylobacter*, *Salmonella* i *Shigella*, uwzględniono w nich aż 7 entero-patogennych odmian *Escherichia coli* (w tym EIEC, EPEC, ETEC, VTEC non-0157, EAaggEC, DAAdEC, AEEC), *Aeromonas sp.*, *Vibrio sp.*, *Yersinia sp.*, *Bacillus sp.* (powyżej 1000 cfu/g kału), pierwotniaki (*Cryptosporidium* i *Giardia*) oraz wirusy: Rotawirusy, Caliciwirusy, SRSV (Norwalk-like), adenowirusy.

sy i Astrowirusy). Wykazano, że znacznie częściej czynniki te występują u chorych z objawami schorzeń jelitowych niż u odpowiednio dobranej kontrolnej grupy zdrowych.

Szczególnie często izoluje się różnorodne czynniki patogenne z zakażeń importowanych tzn. od osób, które chorowały zagranicą lub zachorowały wkrótce po powrocie do kraju zamieszkania. W wielu krajach m.in. w Szwecji i w Anglii prowadzi się osobną rejestrację dla chorych z zakażeniami importowanymi.

W wielu krajach zwraca się szczególną uwagę na zakażenia pokarmowe występujące w postaci klinicznej innej niż gastroenteritis. Dotyczy to częstości zachorowań septycznych wywołanych przez *Salmonella*, występowania poronień lub często śmiertelnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych wywołanych przez *Listeria monocytogenes*.

Wysoka śmiertelność towarzyszy zespołowi hemolityczno – uremicznemu (HUS) występującemu przy zakażeniu *Escherichia coli* O157, a również innymi odmianami serologicznymi *E.coli* wytwarzającymi toksynę (Vero lub shiga-like). Zachorowania dotyczą najczęściej dzieci, a śmiertelność zależy od możliwości leczniczych.

Wśród późnych skutków zakażenia pokarmowego *Campylobacter jejuni* wymienia się zespół paralityczny Guillan-Barre, a zespoły reumatoidalne po przebyciu zakażenia niektórymi serotypami *Salmonella*.

Wśród ostatnio opisanych zakażeń odzwierzęcych należy przypomnieć o danych angielskich, dot. 20 osób, u których rozwinęła się nowa odmiana choroby Creutzfeldt-Jacoba (vCJD) zakaźnej encefalopatii gąbczastej w wyniku spożycia wołowiny pochodzącej od krów chorych na bydłęcą encefalopatię gąbczastą tzw. „chorobę szalonych krów”. Czynnikiem zakaźny prion, zakaźna forma białka o zmienionej strukturze jest nowym zjawiskiem w nauce o chorobach zakaźnych ludzi i zwierząt.

Wśród schorzeń jelitowych prawdopodobnie pochodzenia pokarmowego pojawiła się nowa jednostka kliniczna określana jako biegunka Bainerda, po raz pierwszy opisana w Minessocie. Charakteryzuje ją gwałtowna, wodnista biegunka, trwająca 4 tygodnie lub dłużej, występująca w zachorowaniach epidemicznych obejmujących 50 do ponad 100 osób. Pomimo wielokierunkowych badań laboratoryjnych nie dotychczas nie udało się określić jej etiologii. Opisano jedynie 7 ognisk epidemicznych występujących głównie w Stanach Zjednoczonych Am. Płn. (1).

W Polsce badania nad zatruciami pokarmowymi prowadzone są w ograniczonym zakresie. Obowiązek ustawowy dotyczy zgłaszania do jednostek służby sanitarno-epidemiologicznej przypadków zachorowań rozpoznawanych jako zatrucie pokarmowe. Do niedawna, z mocy ustawy, chorzy podlegali bakteriologicznemu badaniu w kierunku *Shigella* i *Salmonella*. W zachorowaniach zbiorowych obejmujących co najmniej 4 osoby prowadzone jest dochodzenie epidemiologiczne obejmujące również badanie bakteriologiczne próbek spożytej żywności, o ile takie są zachowane.

W 1998 roku jako zatrucia pokarmowe zarejestrowano w Polsce ogółem 30515 chorych (zapadalność 78.9 na 100 tysięcy mieszkańców), z nich hospitalizowano 15679 osób (51.4%). W roku 1999 zgłoszono mniej chorych 27 131 (dane nie ostateczne). Należy przyjąć, że zarejestrowana liczba jest tylko wierzchołkiem „góry lodowej”. Podobnie jak we wszystkich krajach większość chorych leczy się samodzielnie w domu, tylko część chorych zgłasza się do lekarza pierwszego kontaktu, a ten tylko niektórych kieruje na badanie bakteriologiczne. Nawet spośród tych, u których wykryto czynnik patogeny, zgłaszani do rejestracji są tylko niektórzy. Według oszacowań epidemiologów angielskich na jednego chorego zarejestrowanego w Anglii przypada 1.4 zbadanych z wynikiem dodatnim, 6.2 badanych bakteriologicznie, 23.2 zgłaszających się do lekarza z powodu dolegliwości jelitowych i 136 chorujących w domu.

Wśród zachorowań bakteriologicznie rozpoznawanych w Polsce zgłaszano głównie salmonelozę: w 1998 roku zgłoszono 26 675 osób, w 1999 roku 23 410 osób. Tendencja spadkowa może wynikać z ograniczania badań laboratoryjnych, jak i szeregu innych względów, dotyczących zmian organizacyjnych oraz w finansowaniu usług zdrowotnych.

Zatrucia pokarmowe - odzwierzęce zatrucia pokarmowe

W latach 1998-1999 zmniejszyła się liczba chorych zatrutych toksyną gronkowcową (375 - 353), nieznacznie wzrosła zatrutych jadem kiełbasianym (93-97) i przez inne kreślone drobnoustroje (37-65). Natomiast liczba chorych z powodu zatrucia pokarmowego o nieokreślonej etiologii wyniosła 3334 w 1998 r. i 3206 w 1999 r. Jedno zachorowanie wywołane przez zarodnikującą pałeczkę *Clostridium perfringens* zgłoszono tylko w 1998 roku.

Dochodzenie epidemiologiczne w przypadku zachorowań zbiorowych przeprowadza się, o ile w ognisku zgłoszono co najmniej 4 chorych w wyniku spożycia tej samej potrawy (jedynie przy podejrzeniu zatrucia jadem kiełbasianym - toksyną botulinową dochodzenie przeprowadza się nawet w przypadku zachorowania sporadycznego).

Liczba ognisk i liczba zachorowań w ogniskach w Polsce zgłoszonych do MziOS w latach 1990-1997 systematycznie spada. Według danych A. Przybylskiej w 1990 r. zgłoszono 703 ogniska i 14198 osób, a w 1997 roku 328 ognisk i 6020 osób.(tab.3).

Tablica 3. Zatrucia pokarmowe. Liczba ognisk i zachorowań w ogniskach w Polsce w Polsce w latach 1990 - 1997 ()

Rok	Liczba ognisk	Liczba zachorowań w ogniskach
1990	703	14 198
1991	726	14 310
1992	640	12 209
1993	468	9 699
1994	521	11 102
1995	440	8 299
1996	389	6 941
1997	328	6 020
Razem	4216	82 778

Uwaga: ognisko – co najmniej 4 zachorowania w wyniku spożycia tej samej potrawy.

Systematyczna analiza danych dot. ognisk epidemicznych opracowywanych przez krajową służbę sanitarno – epidemiologiczną wykazała, że w latach 1990 – 1996 zbiorowe zachorowania wywołane były głównie przez *Salmonella*. *Salmonella* corocznie były czynnikiem etiologicznym od 347- 675 ognisk zatrucia pokarmowego obejmujących corocznie ogółem od 5996 do 13 237 chorych. Zatruciu wywołanemu przez *Salmonella* corocznie ulegało 88.4–93.4 % ogółu chorych rejestrowanych w zachorowaniach zbiorowych. Dominowały zachorowania wywołane przez *S.enteritidis* (92.6–97.8% chorych z rozpozną salmonelozą), zachorowania wywołane przez *S.typhimurium* (5.9–0.1% chorych), przez pozostałe różne odmiany serologiczne *Salmonella* 0.4–2.8% chorych.

Zatrucie jadem kiełbasianym jest w Polsce coraz rzadziej występującym. W latach 1990–1996 wystąpiło w 1–6 ognisk rocznie, w których w sumie chorowało od 4 do 27 osób w zależności od roku. Gronkowce były przyczyną 8–10 ognisk rocznie, w których w sumie w roku chorowało od 194 do 606 osób, były to ogniska obejmujące dużą liczbę chorych, często rozległe.

Dominujący czynnik spowodował, że analiza dotycząca warunków powodujących wystąpienie zatrucia pokarmowego dotyczyła głównie ognisk wywołanych przez *Salmonella*. Nośnikiem zakażenia były głównie potrawy przygotowywane z jaj, w mniejszym stopniu z jaj i mięsa (szczególnie niebezpieczny bywa t. zw. befszytk tatarski). Analiza uwzględniająca miejsce produkcji zakażonych potraw i miejsce ich spożywania, w odróżnieniu od poprzedniego dziesięciolecia, wskazywała na domy prywatne jako główne miejsce produkcji i spożycia potraw powodujących rejestrowane zachorowania zbiorowe. Dotyczy to przy-

Choroby odzwierzęce i pasożytnicze

jęć komunijnych i weselnych, na których podawane są potrawy przygotowywane wg receptur tradycyjnych, sprzed okresu pandemicznego, przygotowywane na wiele godzin przed podaniem i przechowywane bez chłodzenia. Zatruciu ulegają licznie przybywający uczestnicy tych imprez prywatnych.

Analiza dotycząca miejsca zakażenia produktów żywnościowych wskazuje na prywatne gospodarstwa wiejskie prowadzące hodowlę drobiu. Drób zakażony bywa w hodowli, w trakcie obróbki wstępnej lub w trakcie transportu przy nieodpowiednich warunkach sanitarnych jego przetrzymywania.

Pod względem etiologii zachorowań sytuacja epidemiologiczna w Polsce różni się od sytuacji w krajach rozwiniętych, w których konsumuje się znacznie więcej mięsa różnego pochodzenia i często niedostatecznie ogrzewanego. (t.zw. mięso czerwone).

Wtedy znacznie częściej występuje w zatruciach pokarmowych *S.typhimurium*. Systematycznie prowadzona w Polsce kontrola sprowadzanych pasz, w dużym stopniu chroniła bydło i trzodę przed niepożądanym zakażeniem egzotycznymi odmianami *Salmonella*.

Nie zgłaszano dotychczas w Polsce ognisk zatrucia pokarmowego wywołanych Przez inne czynniki etiologiczne: *Campylobacter jejuni*, *Yersinia enterocolitica*, *Aeromonas*, *Vibrio*. Najczęściej badania bakteriologiczne ukierunkowane były wyłącznie na *Salmonella*, których wykrycie nie przedstawia na ogół trudności z powodu dobrze opanowanych i efektywnych procedur badawczych. Pozostałe czynniki są na ogół mniej znane i pomijane.

W przypadku badania żywności w trakcie dochodzenia epidemiologicznego uwzględniana jest również ogólna liczba bakterii w próbce (cfu/g), w tym również *E.coli* i gronkowców. Jeżeli ich liczba w potrawie przekroczy ustalony limit, rozpoznany może być inny niż *Salmonella* czynnik etiologiczny zatrucia pokarmowego. Należy zdać sobie sprawę, że próbki żywności przechowywane są tylko przez 24 godz., a zgłoszenie ogniska często następuje znacznie później stąd wielu ogniskach czynnik pozostaje nieznanym.

Wnioski

1. Należy przyjąć, że istnieje potrzeba podjęcia badań nad występującymi w Polsce czynnikami wywołującymi zakażenia i zatrucia pokarmowe uwzględniających szerokiego spektrum możliwych czynników patogennych.
2. Korzystanie z możliwości przeprowadzania badań mikrobiologicznych w przypadku zatrucia pokarmowego jest na ogół mało popularne i ograniczone względami finansowymi i administracyjnymi.
3. Z powodu narastającej oporności szczepów bakteryjnych na leki w badaniach bakteriologicznych należałoby uwzględnić również nastawianie lekogramu dla wyizolowanego czynnika patogenetycznego.
4. Przy gwałtownie rozwijającej się turystyce wzrasta potrzeba przeprowadzania badań bakteriologicznych i wywiadów epidemiologicznych u osób chorujących w trakcie i p^o wyjazdach zagranicznych dla ukierunkowania ich leczenia oraz działań profilaktycznych

Piśmiennictwo

1. Altekruze, F.M., M. L. Cohen, D. L.Swerdlow: *Emerging Inf.Dis.*, 1997, 3, 285-293.
2. CDC: *Disease Information: Brainerd Diarrhea*.
3. *Infectious Intestinal Disease Study Summary Report*: Dept of Health, Maff, England, 1999.
4. Stypułkowska-Misiurewicz H. w książce pod red. W.Magdzika, J.Kostrzewskiego, D.Naruszewicz- Lesiuk:" *Choroby zakaźne i ich zwalczanie na ziemiach Polski w dwudziestym wieku*. PZWL, Warszawa (w druku).
5. Stypułkowska-Misiurewicz, H., A.Przybylska: w 4th *World Congress of Foodborne Infections and Intoxications Report*, Berlin, Germany, 7-12 June 1998, 1, 272-278.

Immunologiczne uwarunkowania pasożytów

Eugeniusz Małafiej

Zakład Mikrobiologii Klinicznej, Instytut Centrum Zdrowia Matki Polki, Łódź

Jednym z wielu mechanizmów warunkujących integralność każdego żywego organizmu jest układ immunologiczny. Jego funkcjonowanie w obecnej postaci to efekt wielusetletnich procesów ewolucji. Układ immunologiczny odpowiedzialny jest za humoralną i komórkową reakcję organizmu na wnikający antygen. Za taki antygen, a właściwie niezwykle złożoną mozaikę antygenową, może być uznany wnikający podczas inwazji pasożyt. Wydaje się, iż poznanie budowy antygenowej pasożyta oraz procesów immunologicznych towarzyszących jego inwazji i namnażaniu się w organizmie, jest podstawowym warunkiem prawidłowego rozumienia diagnostycznych czynności podejmowanych w laboratorium klinicznym, postępowania terapeutycznego wdrażanego przy łóżku chorego oraz działań profilaktycznych.

Przykładem znacznego postępu w dziedzinie poznawania antygenów są doniesienia wskazujące na możliwość uzyskania metodami syntez chemicznych odpowiednio aktywnych podjednostek białkowych z potencjalną możliwością zastosowania dla celów „konstruowania” szczepionek. Pierwsze tego typu badania dotyczyły dwóch ważnych patogenów: wirusa HIV oraz etiologicznego czynnika malarii [2].

Pasożyty stanowią szczególny rodzaj patogenów, bowiem w przeciwieństwie do bakterii, wirusów i grzybów, ich budowa antygenowa jest wielokrotnie bardziej złożona, a zatem również odpowiedź zarażonego organizmu nie jest tak prosta jak w przypadku wymienionych wyżej organizmów. Należy przy tym pamiętać o zmienności antygenowej różnych postaci pasożyta pojawiających się w następstwie cyklu rozwojowego jaki może następować w zarażonym organizmie. Dodatkowym elementem złożoności układu pasożyt – gospodarz są znaczące ilości nieustannie wytwarzanych metabolitów stanowiących rezultat ciągłych procesów życiowych pasożyta. W modulowaniu odpowiedzi immunologicznej gospodarza nie bez znaczenia jest również rola kwasu nukleinowego pasożyta [3].

Kolejny moment, którego w licznych wypadkach nie sposób pominąć, to często „fizyczne” rozmiary pasożyta i wynikające stąd konsekwencje obecności „ciała obcego” w określonych narządach lub tkankach. Tak więc, patofizjologia chorób wywoływanych przez pasożyty jest rezultatem nie tylko bezpośrednich skutków obecności patogenu w organizmie gospodarza i wynikających stąd konkretnych uszkodzeń, jak liza komórek gospodarza lub adherencja pasożyta, ale również skutków pośrednich – molekule wydzielane przez pasożyta oddziałują na komórki gospodarza, co uruchamia kaskadę zdarzeń: wytwarzanie cytokin, prostaglandyn i tlenku azotu, które to elementy odpowiedzialne są za obserwowane objawy inwazji. Nie bez znaczenia, dla patogenezy omawianych zjawisk, pozostaje rola gospodarza uwarunkowana jego właściwościami genetycznymi, kondycją immunologiczną, związkami ze środowiskiem (szczególnie charakter odżywiania), a w przypadku człowieka, również obyczajami i tradycją kulturową. Kompleks wszystkich tych elementów wpływa na stan, którego efektem jest inwazja asymptomatyczna u jednych lub ciężkie objawy chorobowe obserwowane u innych osobników. Przy tej okazji warto zwrócić uwagę na znaczenie fizjologicznej flory bakteryjnej jelit. Jak wskazują najnowsze obserwacje eksperymentalne, może ona stanowić naturalną barierę ochronną zapobiegającą inwazji niektórych pasożytów [7].

Historycznie najwcześniej poznaną konsekwencją inwazji pasożyta jest wytwarzanie swoistych przeciwciał. W zarażonym organizmie pojawiają się one najczęściej w następującej kolejności klas: IgM, IgE, IgA oraz IgG. Swoistość ich jest skierowana zarówno przeciw antygenom membranowym jak i wydalniczo-wydzielniczym. Nie wiemy zbyt wiele

o roli obronnej przeciwciał, wiadomo jedynie, iż w obecności dopełniacza mogą one powodować lizę tachyzoitów *Toxoplasma gondii* znajdujących się poza komórką, ponadto wykryto ich zdolności opsonizacyjne. Wysoką efektywność wykazują przeciwciała IgG – opłaszczane nimi tachyzoity są szczególnie podatne na niszczące działanie makrofagów.

W wyniku inwazji *T. gondii* najsilniejszą odpowiedź obserwujemy w klasie IgG. Między drugim, a trzecim miesiącem od momentu zarażenia przeciwciała osiągają najwyższy poziom, który utrzymuje się przez kilka miesięcy, po czym zazwyczaj w ciągu około 2 lat, stopniowo ulega obniżeniu i w niskich mianach pozostaje do końca życia. Odpowiedź immunologiczna w ostrej i przewlekłej fazie inwazji jest najsilniejsza w podklasie IgG¹. Przeciwciała podklasy IgG² i IgG³ wytwarzane są w mniejszych ilościach. Stwierdzono, że przeciwciała podklasy IgG¹ i IgG³ powodują aktywację komplementu i napływ komórek jednojądrzastych do miejsca inwazji.

Przeciwciała klasy IgM osiągają maksimum w pierwszych tygodniach od zarażenia, po czym ich poziom spada. Utrzymują się zazwyczaj około 4 miesięcy. Jednak przy pomocy odpowiednio czułych testów adsorpcji immunologicznej można je wykryć nawet po 6 – 12 miesiącach. Wszyscy pacjenci z ostrą toksoplazmozą posiadają wysokie miana przeciwciał anty-P30. Przeciwciała klasy IgM reagują z polipeptydami: 6, 25, 35 kDa. Są również do niesienia o reakcjach z antygenami 14, 50 kDa.

Podobną dynamiką charakteryzują się przeciwciała klasy IgA, mogą one jednak utrzymywać się nawet do 9 miesięcy. Obecność śladowych ilości IgA obserwuje się rzadziej. U zarażonych płodów omawiane przeciwciała są już wykrywalne w 23 tygodniu ciąży. Odnotowano krzyżową reakcję niektórych komponentów antygenowych – reagują one zarówno z przeciwciałami klasy IgM oraz klasy IgA. Jedynie kilka z nich: 25, 35, 50 kDa oraz polipeptydy 30, 32, 40 kDa było rozpoznawanych wyłącznie przez przeciwciała klasy IgA; dotyczyło to surowic pobranych we wczesnym stadium inwazji [1].

P30 – główny antygen powierzchniowy pierwotniaka indukuje wytwarzanie przeciwciał zarówno w klasie IgG jak i IgA, IgM oraz IgE. Identyfikacja isotypów przeciwciał *T. gondii* w surowicach zarażonych żywicieli pośrednich jest ważnym elementem pozwalającym na różnicowanie ostrej i przewlekłej fazy zarażenia. Przeciwciała klasy IgA umożliwiają dokładniejsze określenie serokonwersji w ostrej fazie toksoplazmozy, co jest szczególnie ważne u kobiet w ciąży oraz w przypadku pacjentów zakażonych wirusem HIV. Mogą być również wykorzystywane jako prenatalny marker inwazji wrodzonej [4,6]

Przeciwciała klasy IgE pojawiają się mniej więcej w tym samym czasie, co przeciwciała klasy IgM i nieznacznie poprzedzają pojawienie się przeciwciał klasy IgA. Zazwyczaj nie utrzymują się dłużej niż 4 miesiące. Matczyne IgE nie przechodzą przez łożysko. Można je wykryć we wrodzonej toksoplazmozie – zaraz po urodzeniu oraz w ciągu pierwszego roku życia u dzieci z wrodzoną inwazją [8,9]

Rozważając problemy humoralnej odpowiedzi immunologicznej związanej z inwazją pasożyta należy pamiętać o pewnych skutkach wynikających z długotrwałej koegzystencji patogenów w tym samym środowisku endemicznym. Okazało się, że współendemiczność sprzyja wymianie materiału genetycznego, prowadząc do określonych zmian antygenowych sprzyjających reakcjom krzyżowym. Przykład taki można obserwować w przypadku *Plasmodium falciparum* oraz ludzkiego T-limfotropowego wirusa typu 1 (HTLV-1). Wśród ludności zamieszkującej Papuę Nową Gwineę, metodą immunoblottingu stwierdzono obecność przeciwciał reagujących z dziesięcioma komponentami antygenowymi uzyskanymi z lisztów *P. falciparum*. Surowice pochodziły od pacjentów HIV i HTLV-1 dodatnich serologicznie. Byli to osobnicy zamieszkujący tereny wolne od malarii. Wykryto również sytuację odwrotną: surowice chorych na malarię z terenów endemicznych, z brakiem prawdopodobieństwa ekspozycji na HIV, reagowały z komponentami antygenowymi wirusa HIV używanymi do diagnostyki metodą Western blot. [5]

Kluczowym elementem odpowiedzialnym za następstwa inwazji pasożytniczej są cytokiny, stanowią one bardzo ważny czynnik regulujący równowagę w reakcjach ochron-

nych oraz niepożądanych odczynach immunologicznych. Jest wiele dowodów uzyskanych z eksperymentów na zwierzętach, wskazujących na ogromną rolę makrofagów stymulowanych cytokinami, jako komórkowych efektorów ochronnej reakcji immunologicznej w pasożytnictwie. Badanie funkcji cytokin w ostatnich latach, dostarcza również szerokiego wglądu w immunologiczne mechanizmy regulujące funkcje mysich makrofagów jak i efektorowych cząsteczek wykorzystywanych przez te komórki do niszczenia zarówno wewnątrz-jak i zewnątrzkomórkowych pasożytów. Największym efekтором cytotoxycy- ności makrofagów w stosunku do pierwotniaków i pasożytów jelitowych jest NO. Jego synteza jest indukowana cytokinami: stymulująco działają IL2, TNF- α , IFN- γ (efekt ochronny), hamująco IL10, IL4, IL5, IL6, TGF- β (progresja symptomów inwazji). Podobną odpowiedź na działanie cytokin wykazują inne typy komórek: hepatocyty, komórki endotelium. Cytokiny w istotny sposób wpływają na funkcjonowanie śluzówki jelita, a tym samym modelują przebieg inwazji pasożytniczych łącznie z eliminacją pasożyta ze światła jelita. Ponadto wpływają na przemiany lipidowe gospodarza - wzrasta pod wpływem cytokin poziom trójglicerydów, następuje stymulacja wzrostu poziomu cholesterolu, co jest następstwem wzmożonych procesów syntezy cholesterolu w wątrobie. Hyperlipidemia interpretowana jest jako wrodzony mechanizm immunologicznej odpowiedzi korzystny dla gospodarza. Za istotny mechanizm regulujący sieć cytokin i kaskadę wielu enzymów uznaje się glikozylację.

Należy ciągle jednak pamiętać o sygnalizowanej uprzednio złożoności zjawiska: ocena poziomu cytokin w przypadku *Hymenolepis nana* pozwala dostrzec różnicę w reakcji myszy na inwazję wynikającą z odrębności genetycznych gospodarza i fazy rozwojowej pasożyta -**jaja** stymulują wytwarzanie IFN- γ niezależnie od szczepu myszy, natomiast wzrost IL4 i IL5 jest obserwowany tylko u myszy BALB/c; **cysty** natomiast obniżają wytwarzanie poziomu IFN- γ , IL2, IL4, IL5. Na zakończenie warto zwrócić uwagę na rolę cytokin jako wskaźnika oceny skuteczności szczepionek.

Piśmiennictwo

- 1- Bonhomme A. i wsp. Toxoplasma gondii cellular invasion. Parassitologia. 1992; 34: 31-43
2. Boykins R. A. i wsp.: Synthesis and construction of a novel multiple peptide conjugate system: strategy for a subunit vaccine design. Peptides 2000, 21, 9-17
3. Brown W. C. i wsp.: Modulation of host immune responses by protozoal DNA. Vet. Immunol. Immunopathol. 1999, 72, 87-94
4. Decoster A. i wsp. Anti P-30 IgA antibodies as prenatal markers of congenital toxoplasma infection Clin. Exp. Immunol. 1992; 87: 310-314
- 5- Elm J. i wsp.: Serological cross-reactivities between the retroviruses HIV and HTLV-1 and the malaria parasite Plasmodium falciparum. Papua New Guinea Med. J. 1998, 41,15-22
- 6- Huskinson J. i wsp. Toxoplasma antigens recognized by human immunoglobulin A antibodies J. Clin. Microbiol. 1990; 28: 2632-2636
- ^ Martins W. A. i wsp.: A method of decontaminating Strongyloides venezuelensis larvae for the study of strongyloidiasis in germ-free and conventional mice. J. Med. Microbiol. 2000, 49, 387-90
- Pinon J. i wsp. Detection of specific immunoglobulin E in patients with toxoplasmosis. J. Clin. Microbiol. 1990; 28: 1739-1743
- 9- Wong S. i wsp. Role of specific immunoglobulin E in diagnosis of acute toxoplasma infection and toxoplasmosis, J. Clin. Microbiol. 1993; 31: 2952-2959

Epidemiologiczno-kliniczne cechy giardiozy

Anna C. Majewska

Katedra i Zakład Biologii i Parazytologii Lekarskiej, Akademia Medyczna im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Giardioza należy do tych pasożytów, które wiążą się z licznymi kontrowersjami i niejasnościami dotyczącymi wielu aspektów zarówno samego czynnika etiologicznego, jak i inwazji wywoływanej przez niego.

Giardioza występowała u ludzi już w starożytności. Cysty *Giardia* wykryto w sfosylizowanym kale ludzkim pochodzącym sprzed ponad 2 tys. lat (Faulkner i wsp. 1989).

Obecnie *Giardia intestinalis*¹ należy do najczęstszych pasożytniczych pierwotniaków przewodu pokarmowego człowieka (Cook 1994). Jednak częstość występowania giardiozy w różnych regionach świata jest zmienna, na co wpływa szereg czynników ryzyka związanych zarówno z żywicielem, pasożytem i środowiskiem. Powszechnie wiadomo, że czynnikami ryzyka zarażenia ze strony żywiciela są: młody wiek, niski stopień higieny osobistej, nabyte lub wrodzone niedobory immunologiczne, niedożywienie i behavior. Niektórzy autorzy zaliczają do nich także niedokwaśność soku żołądkowego. Mając jednak na uwadze fakt, że proces ekscystacji wymaga niskiego pH, trudno przyjąć aby niedokwaśność soku żołądkowego była czynnikiem zwiększającym ryzyko zarażenia *Giardia*. Natomiast niedokwaśność może być wynikiem niedożywienia, które z kolei wpływa na osłabienie układu immunologicznego żywiciela. Stąd też te czynniki mogą wiązać się ze zwiększoną wrażliwością na zarażenie.

Ze względu na dużą zmienność międzypopulacyjną *Giardia* pod względem wielu cech, istotnymi czynnikami ryzyka ze strony pasożyta jest wysoka inwazyjność i słaba zdolność do wywoływania odporności u żywiciela.

Warunki socjo-środowiskowe takie jak: ubóstwo, brak lub nieodpowiednie warunki sanitarno-kanalizacyjne, zagęszczenie populacji oraz przewaga dzieci w populacji są czynnikami wpływającymi na zwiększoną częstość występowania giardiozy na określonym terenie. Częstość transmisji *Giardia* na określonym terenie zależy od tego, czy czynniki ryzyka występują pojedynczo, czy w kombinacji wielu. Stąd też giardioza jest częstsza u ludzi w krajach rozwijających się oraz wśród członków zacofanych grup etnicznych, np. australijskich Aborygenów. Objawową giardiozę stwierdza się u około 200 mln ludzi w Azji, Afryce i Ameryce Południowej i co roku odnotowuje się około 500 tysięcy nowych przypadków. Natomiast w krajach rozwiniętych częstość zarażenia z reguły nie przekracza 10% i giardioza jest częściej wykrywana w społecznościach miejskich (Farthing 1994). W Polsce częstość występowania tej inwazji wynosi poniżej 4%. Należy jednak podkreślić, że rzeczywista częstość występowania giardiozy u ludzi bywa zależna od efektywności stosowanej metody diagnostycznej, jak i doświadczenia osoby wykonującej analizę.

Cechą charakterystyczną giardiozy jest łatwość zarażenia oraz liczne drogi transmisji cyst *Giardia*. Ta duża różnorodność dróg transmisji *Giardia* często powoduje trudności w określeniu źródła i drogi zarażenia ludzi. Najczęstszym sposobem szerzenia się *Giardia* wśród ludzi jest bezpośrednia transmisja cyst pasożyta na drodze fekalno-oralnej. Ten sposób zarażenia zależy od warunków socjo-ekonomicznych, zagęszczenia populacji, obrazu

1. Nazwa *Giardia intestinalis* jest jedyną poprawną nazwą gatunkową uznaną przez ekspertów Światowej Organizacji Zdrowia. Część badaczy, głównie w USA, stosuje później wprowadzoną nazwę (młodszy synonim) *Giardia lamblia*, inni natomiast używają nazwy *G. duodenalis* określającej jedną z odmiennych grup morfologicznych występujących w tym rodzaju. Natomiast zupełnie nieprawidłowe jest stosowanie nazwy *Lamblia intestinalis*, ze względu na fakt, że rodzaj *Lamblia* został opisany później niż rodzaj *Giardia*, a zatem - zgodnie z zasadami Kodeksu Nomenklatury Zoologicznej rodzaj *Lamblia* nie istnieje.

zachowań i niskiej higieny osobistej. Dotyczy to przede wszystkim dzieci przebywających w żłobkach i przedszkolach, pacjentów instytucji psychiatrycznych oraz osób przebywających w domach dla osób w podeszłym wieku. Chociaż człowiek w każdym wieku jest wrażliwy na zarażenie *Giardia*, to najwyższy wskaźnik zarażenia odnotowuje się u dzieci w wieku 5–10 lat. Giardioza bardzo rzadko występuje u ludzi po 40 roku życia. Również u dzieci poniżej 6 miesiąca życia giardioza występuje sporadycznie, co można wiązać z karmieniem niemowląt piersią, bowiem związki wytwarzane przez lipazy mleka kobiecego (nienasycone wolne kwasy tłuszczowe, lizofosfolipidy, monoglicerydy) są cytotoksyczne dla trofozoitów *Giardia*. Nie można też wykluczyć, że dzieci karmione piersią mają mniejszą szansę na zarażenie.

Ze względu na to, że cysty w chwili wydalania są inwazyjne i – jak doświadczalnie wykazano – niewielka ich dawka wystarcza do zarażenia, istnieje również możliwość transmisji *Giardia* na drodze seksualnej. Ten sposób zarażenia może wystąpić u osób preferujących w seksualnym behawiorze kontakty oralno-genitalne lub oralno-analne. Początkowo zwracano uwagę, że ta droga zarażenia jest częsta u homoseksualnych mężczyzn, ale późniejsze badania wykazały, że nie orientacja seksualna jest istotnym czynnikiem, ale włączenie do seksualnej aktywności takich praktyk, jak anilingus i fellatio oraz częsta zmiana partnerów.

W ostatnich latach coraz częściej zwraca się uwagę na zoonotyczny charakter występowania giardiozy u ludzi. Jednakże, mimo licznych badań, z zoonotyczną transmisją *Giardia* wiąże się wiele niejasności. Obecnie akceptuje się istnienie 5 morfologicznie odmiennych gatunków w tym rodzaju: *G. agilis*, *G. muris* i *G. intestinalis*, *G. psittaci*, *G. ardeae*. Najwięcej kontrowersji dotyczy *G. intestinalis* – obejmującego populacje pasożyta występującego w jelicie cienkim ludzi, wielu gatunków ssaków, niektórych gadów i ptaków. Szerokie występowanie morfologicznie identycznych populacji *G. intestinalis* u różnych gatunków żywicieli znacznie komplikuje dociekania epidemiologiczne i zwalczanie tego pasożyta. Tym bardziej, że wyniki licznych badań molekularnych wykazały rozległą genetyczną heterogeniczność w obrębie tego gatunku. Wykazano, że poziom genetycznej zmienności między izolatami *G. intestinalis* uzyskanymi od jednego gatunku żywiciela jest taki sam jak między izolatami uzyskanymi z różnych gatunków, podobnie jak stopień zmienności populacji *Giardia* uzyskanych z określonego ogniska endemicznego i z różnych miejsc geograficznych. Genetyczna analiza kilkuset izolatów *Giardia* uzyskanych od ludzi i zwierząt z różnych regionów świata wykazała, że wszystkie izolaty uzyskane od ludzi i większość izolatów zwierzęcych należy do 2 dużych grup, które w piśmiennictwie europejskim określone są jako „polskie” i „belgijskie”, australijskim – jako grupa A i B lub amerykańskim jako grupy 1 i 2 oraz grupy 3 i 4 (Thompson i wsp. 2000). Każda z tych grup zawiera genetycznie zróżnicowane izolaty, których występowanie nie jest ograniczone do określonego regionu geograficznego. Większość izolatów *Giardia* należy do grupy A; w obrębie grupy 1 znajdują się izolaty uzyskane od ludzi i zwierząt, co sugeruje możliwość zoonotycznej transmisji; natomiast grupa 2 obejmuje wyłącznie izolaty od ludzi, co wskazuje, że te populacje pasożyta mogą szerzyć się jedynie między ludźmi. Z kolei grupa B zawiera głównie izolaty uzyskane od ludzi i nieliczne od zwierząt, które są genetycznie bardziej zróżnicowane niż izolaty w grupie A. Wyraźnie odrębne grupy stanowią izolaty uzyskane od kotów, psów, norników, piżmaków, szczurów i zwierząt kopytnych. Stąd też jest mało prawdopodobne, aby tych 5 odrębnych genotypów *Giardia* stanowiło ryzyko zarażenia dla ludzi, raczej reprezentują one odrębne gatunki *Giardia* o ograniczonym kręgu żywicieli. Z perspektywy ochrony zdrowia publicznego największe ryzyko zoonotycznej transmisji dotyczy genotypów *Giardia* z grupy A, chociaż samo podobieństwo genotypów pasożyta występujących u różnych gatunków żywicieli nie jest rozstrzygającym dowodem, że zoonotyczna transmisja miała miejsce, chyba, że izolaty od ludzi i zwierząt uzyskano w tym samym czasie i z tego samego regionu geograficznego. Nie mniej, dane epidemiologiczne sugerują, że dzikie, domowe i hodowlane zwierzęta mogą być potencjalnym źródłem giardio-

zy u ludzi. Chociaż doświadczalnie udowodniono, że człowiek jest wrażliwy na zarażenie genetycznie odmienną populacją *Giardia* pochodzącą ze zwierzęcego źródła (Majewska 1994), to uzyskanie takiego dowodu w warunkach naturalnych jest niezwykle trudne. Genetyczne podobieństwo izolatów *Giardia* uzyskanych od ludzi i zwierząt jest silnym, choć pośrednim dowodem zoonotycznej transmisji, podobnie jak wykrycie giardiozy u zwierząt i ludzi w tym samym czasie i na tym samym terenie; taką sytuację opisano w odniesieniu do występowania giardiozy u psów, kota i u ich właścicieli (Cribb i Sparcklin 1986), naczelnych i ich opiekunów (CDC 1979) oraz u bydła i członków rodziny rolnika (Majewska i wsp. 1998). Zastosowanie technik biologii molekularnej w dociekaniach epidemiologicznych wykazało, że naturalna transmisja *Giardia* między ludźmi i zwierzętami może wystąpić ale jej częstość może być odmienna w różnych regionach geograficznych. Z jednej strony wykazano, że izolaty *Giardia* uzyskane od ludzi i bobrów w trakcie epidemii wodnopochodnej miały identyczny kariotyp i obraz izoenzymów (Isaac-Renton i wsp. 1993), natomiast porównanie sekwencji SSU-rRNA izolatów *Giardia* od ludzi i psów wykazało, że zoonotyczna transmisja w społeczności Aborygenów występuje rzadko, mimo wysokiej częstości zarażenia ludzi i psów (Hopkins i wsp. 1997).

Chociaż bezpośrednia transmisja pasożyta na drodze fekalno-oralnej jest istotną przyczyną giardiozy, to jednak powoduje z reguły pojedyncze przypadki zarażenia. Natomiast pośrednia transmisja *Giardia* – przez spożycie wody lub żywności zanieczyszczonej cystami mimo, że występuje rzadziej, to jednak przyczynia się do zarażenia większej liczby osób. Dotychczas znane są tylko nieliczne epidemie giardiozy, które wystąpiły u ludzi po spożyciu żywności zanieczyszczonej cystami *Giardia*. Z reguły do zanieczyszczenia żywności cystami *Giardia* dochodziło w trakcie przygotowywania posiłków. Źródłem zanieczyszczenia żywności może być nawożenie upraw roślinnych odchodami ludzkimi. Niewątpliwie istotnym źródłem wystąpienia epidemii giardiozy u ludzi jest woda. Do niedawna sądzono, że współczesne metody uzdatniania wody są wystarczające aby wyeliminować znajdujące się w niej patogeny jelitowe. Jednak w ostatnich latach coraz częściej odnotowuje się wodnopochodne epidemie wywołane przez pasożytnicze pierwotniaki jelitowe takie jak *G. intestinalis*, *Cryptosporidium parvum* i *Cyclospora cayetanensis*. Często ich przyczyną było picie wody powierzchniowej, brak pełnego uzdatnienia wody lub nieprawidłowa obsługa urządzeń bądź ich uszkodzenie. Co gorzej, znaczna liczba epidemii wystąpiła po spożyciu chlorowanej wody. Okazuje się, że chlorowanie wody przy konwencjonalnych dawkach i czasie kontaktu niszczy bakterie jelitowe ale jest niewystarczające dla zniszczenia cyst *Giardia*. Zatem test na obecność *E. coli* i pomiar mętności wody mają niewielkie znaczenie w orzekaniu czy woda zawiera cysty *Giardia*. Występowanie wodnopochodnych epidemii zależy od wielu czynników, m. in. od: stopnia zanieczyszczenia wód powierzchniowych i gruntowych odchodami ludzi i zwierząt; warunków atmosferycznych (ulewne deszcze, roztopy); klęsk żywiołowych (powodzie); prawidłowego przebiegu procesu uzdatniania wody lub zanieczyszczenia wody już uzdatnionej oraz od wrażliwości populacji żywicieli na zarażenie. Równie istotne pod tym względem są właściwości pasożyta takie jak: szeroka specyficzność żywicielska, wysoka inwazyjność, małe rozmiary cyst oraz ich oporność na działanie czynników środowiskowych i środków dezynfekujących. Często zarażenie różnych gatunków żywicieli sprawia, że istnieje wiele źródeł zanieczyszczenia wód powierzchniowych cystami *Giardia*. Ścieki komunalne są częstą przyczyną zanieczyszczenia wód, ponieważ powierzchniowe zbiorniki wodne, szczególnie rzeki, są wykorzystywane zarówno jako źródła wody i jako zbiorniki odbierające oczyszczone lub surowe ścieki. Rzadką przyczyną epidemii było przedostanie się ścieków do systemu dystrybucji wody uzdatnionej. Szacunkowe dane wskazują, że jeśli zarażonych jest 1 do 25% populacji, to w 100 litrach ścieków może być ok. 1 mln do 24 mln cyst (Akin i Jakubowski 1986). Okres przeżywania cyst *Giardia* w surowych ściekach jest bardzo niski i chociaż skuteczność usuwania cyst w różnych stacjach uzdatniania wody jest wysoka, to pozostałe cysty są odporne na środki dezynfekujące i mogą być przyczyną zarażenia. Znaczącą rolę

w zanieczyszczaniu cystami *Giardia* wód powierzchniowych może odgrywać intensywność wykorzystywania terenów przez ludzi; cysty *Giardia* wykrywano 2–3-krotnie częściej w próbach wody pobranych z miejsc rekreacyjnych niż w próbach pobranych z miejsc rzadko wykorzystywanych do tych celów, przy czym wyższy procent pozytywnych prób stwierdzano latem i jesienią (Gilmour i wsp. 1991; Suk i wsp. 1987). Odchody domowych i dzikich zwierząt są również istotnym źródłem zanieczyszczenia wody. Większe zanieczyszczenie wód powierzchniowych cystami *Giardia* stwierdzano w rejonach wypasu bydła (Ong i wsp. 1996). Szczególną rolę w zanieczyszczeniu kałem zbiorników wodnych przypisuje się bobrom. Zwierzęta te są dobrymi żywicielami, wśród których giardioza łatwo się szerzy, a fakt defekowania do wody zwiększa przeżywalność cyst. Należy wspomnieć, że cysty pozostają żywe przez kilka miesięcy w wodzie o niskiej temperaturze.

Pomimo innych sposobów zarażenia *Giardia*, uwaga naukowców i mediów skupiła się na ponad 100 epidemiach wodnopochođnych giardiozy, które wystąpiły w wielu krajach. Wiele z nich wystąpiło w regionach, które szczyliły się doskonałą jakością wody pitnej. Większość wodnopochođnych epidemi giardiozy, które objęły ponad 24 tysiące osób, wystąpiło w USA (Majewska i Kasprzak 1995), co może być odzwierciedleniem zwiększonego nadzoru epidemiologicznego, jak i faktu, że większość mieszkańców USA korzysta z komunalnych systemów wodnych, których źródłem jest powierzchniowa woda pitna. Prawdopodobnie woda lub żywność zanieczyszczona cystami *Giardia* staje się również przyczyną biegunek u podróżnych.

Często powielana jest przestarzała opinia, że muchy i karaluchy odgrywają rolę w szerzeniu giardiozy u ludzi. Ta oparta na pracach doświadczalnych opinia nie została potwierdzona badaniami owadów odławianych w miejscach o wysokim prawdopodobieństwie zanieczyszczenia cystami *Giardia* (Kasprzak i Majewska 1981). Równie błędnym poglądem jest wiązanie występowania giardiozy ze spożywaniem bananów.

Cechą charakterystyczną giardiozy jest różnorodność trwania inwazji i duża zmienność objawów klinicznych. Giardioza może mieć charakter krótkotrwałej inwazji i może wygasnąć spontanicznie, ale także może być inwazją przewlekłą, niepodatną na leczenie. Odpowiedź humoralna odgrywa istotną rolę w eliminacji pasożytów z jelita cienkiego żywiciela. Antygeny *Giardia* są rozpoznawane stosunkowo szybko; u zarażonych osób i zwierząt stwierdzono przeciwciała IgM przeciw *Giardia* już 10. dnia po zarażeniu, a wzrost poziomu IgG i IgA obserwowano tydzień później (Soliman i wsp. 1998). Natomiast odpowiedź komórkowa nie odgrywa istotnej roli w eliminacji inwazji (Faubert 1996). Wykazano także, że osoby z upośledzoną odpornością komórkową nie wykazują znaczącego wzrostu wrażliwości na zarażenie *Giardia*, np. nie można wiązać wrodzonego braku odporności komórkowej z równoczesną aplazją grasicy i przytarczyc w zespole DiGeorge'a i ciężkiej postaci zespołu złożonego niedoboru odpornościowego ze zwiększoną częstością występowania giardiozy. Z tego też powodu giardioza nie jest istotnym problemem u dorosłych z AIDS.

Badania kliniczne i epidemiologiczne wykazują, że u 20–84% zarażonych osób giardioza przebiega bezobjawowo. Natomiast u pozostałych osób występują różne objawy, głównie ze strony układu pokarmowego, rzadziej ze strony układu immunologicznego. W przebiegu giardiozy obserwuje się wyraźną zmienność klinicznych objawów. W najcięższych przypadkach obserwowano wodniste, biegunkowe wypróżnienia o charakterze przewlekłym oraz zespół złego wchłaniania. Przyczyny tak zróżnicowanego przebiegu klinicznego nadal nie są znane. Należy przyjąć, że przebieg zarażenia zależy jest zarówno od genotypu pasożyta i żywiciela oraz od mikrośrodowiska jelita żywiciela. Heterogeniczność populacji pasożyta i żywiciela oraz zmienność warunków mikrośrodowiska sprawia, iż między tymi czynnikami zachodzą tak skomplikowane zależności, że nie jest możliwe znalezienie prostego wyjaśnienia mechanizmu prowadzącego do zróżnicowanego przebiegu klinicznego giardiozy. Dotychczas nie stwierdzono aby istniały patogeniczne i niepatogeniczne populacje *Giardia*, ani też nie zidentyfikowano markerów wirulencji. Jakkolwiek wykazano, że populacje *Giardia* uzyskane od ludzi i zwierząt różnią się zdolnością wywoły-

Choroby odzwierzęce i pasożytnicze

wania zmian w jelicie tego samego gatunku żywiciela; obserwowano również odmienny przebieg zarażenia u naturalnych żywicieli i u doświadczalnych zwierząt, co może być wynikiem ujawniania odmiennego behawioru populacji *Giardia* u różnych gatunków żywicieli (Majewska i Gustowska 1996).

Kolonizacja *Giardia* może wywoływać zmiany w śluzówce jelita cienkiego prawdopodobnie wskutek nieznanymi jeszcze produktów wydalinczo-wydzielniczych trofozoitów i/lub odpowiedzi immunologicznej żywiciela. Największe zmiany śluzówki obserwuje się w górnym odcinku jelita cienkiego. Naciekowe skrócenie mikrokosmków, występujące niezależnie od zmian w wysokości kosmków, może uruchamiać kaskadę fizjologicznych nieprawidłowości; powoduje niedobór enzymów rąbka szczoteczkowego, złe wchłanianie substancji rozpuszczalnych, elektrolitów i wody, co w efekcie prowadzi do wystąpienia biegunki. Chociaż mechanizmy prowadzące do osłabienia aktywności enzymów światła jelita w giardiozie nie są znane, to ich niedobór może tłumaczyć wystąpienie biegunki tłuszczowej. Ostatnio wykazano, że bogate w cysteinę powierzchniowe białko CRP136 jest potencjalną toksyną *Giardia*. Białko to wykazuje 57% homologię z produktem genu kodującego prekursor sarafotoksyn, będących grupą toksyn żmii glebowej *Atractaspis engaddensis*; jad żmii glebowej wywołuje objawy podobne do tych obserwowanych u ludzi z ostrą giardiozą (Chen i wsp. 1995).

Piśmiennictwo

1. Akin E. W., Jakubowski W. Water Sci. Technol. 18: 219-226, 1986.
2. Chen N., Upcroft J. A., Upcroft P. Parasitology, 111: 423-431, 1995.
3. CDC. Vet. Publ. Health Notes, 7-8, 1979.
4. Cook G. C. Drug Investig., 8 (suppl. 1), 1-18, 1994.
5. Cribb A. E., Sparcklin D. Canad. Vet. J., 27: 169, 1986.
6. Farthing M. J. G. Giardia: From Molecules to Disease. CAB International, 15-37, 1994.
7. Faubert G. M. Parasitology Today, 12: 140-145, 1996.
8. Faulkner C. T., Patton S., Johnson S. S. J. Parasitol., 75: 461-463, 1989.
9. Gilmour R. A., Smith H. V., Smith P. G. i wsp. Water Sci. Technol. 24: 179-182, 1991.
10. Hopkins R. M., Meloni B. P., Groth D. M. i wsp. J. Parasitology, 83: 44-51, 1997.
11. Isaac-Renton J. N., Cordeiro C., Sarafis K. i wsp. J. Infect. Dis., 167: 432-440, 1993.
12. Kasprzak W., Majewska A. C. Wiad. Parazytol., 27: 555-563, 1981.
13. Majewska A. C. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg., 88: 360-362, 1994.
14. Majewska A. C., Gustowska L. Acta Parasitologica, 41: 128-135, 1996.
15. Majewska A. C., Kasprzak W. Wiad. Parazytol., 41: 25-31, 1995.
16. Majewska A. C., Kasprzak W., Werner A. Acta Parasitologica, 43: 1-3, 1998.
17. Ong C., Moorehead W., Ross A. i wsp. Appl. Environ. Microbiol. 62: 2798-2805, 1996.
18. Suk T. J., Sorenson, S. K., Dileanis P. D. J. Freshwater Ecol., 4: 71-75, 1987.
19. Soliman M. M., Taghi-Kilani R., Abou-Shady A. F. A. I wsp. Am. J. Trop. Med. Hyg- 58: 232-239, 1998.
20. Thompson R. C. A., Hopkins R. M., Homan W. L.: Parasitology Today, 16: 210-213, 2000.

Współczesne poglądy na taksonomię rodzaju trichinella i patogenezę fazy mięśniowej włośnicy

Mariusz J. Wranicz

Instytut Parazytologii im. W. Stefańskiego PAN

1. Współczesna taksonomia rodzaju *Trichinella*

Od 2 lutego 1835 roku, kiedy to James Paget wykrył podczas autopsji liczne otorebkowane pasożyty w mięśniach szkieletowych zmarłego mężczyzny, a Richard Owen, jeszcze w tym samym roku, opisał je jako larwy mięśniowe włośnia *Trichinella spiralis*¹⁾, aż do 1972 roku znany był jeden gatunek tego nicienia. W tym roku miał miejsce podwójny przełom w poglądach na taksonomię rodzaju *Trichinella*. Po pierwsze, Garkavi (1972) wyizolował od szopa (*Procyon lotor*) nieznaną dotąd gatunek charakteryzujący się m.in. brakiem torebki wokół larwy przez cały okres trwania fazy mięśniowej, któremu nadał nazwę *T. pseudospiralis*. Po drugie, na podstawie zgromadzonych danych dotyczących cech biologicznych, morfologii izolowanych szczepów, jak również zasięgu ich geograficznego występowania opisano dwa nowe gatunki, tj. *T. nativa* i *T. nelsoni* (Britov i Boev 1972).

Tak więc po 137 latach ustalonej i nie kwestionowanej pozycji taksonomicznej, gatunek *T. spiralis* w jednym roku został poddany radykalnej weryfikacji, w wyniku której zaproponowano 4 "jednostki" taksonomiczne, zamiast, jak dotychczas – jednego gatunku. Słowo „jednostki”, a nie „gatunki” oddaje klimat gorącej dyskusji, która rozpoczęła się po opisanu trzech nowych gatunków. W dyskusji wyraźnie wyodrębniły się dwa stanowiska. Jedno, prezentowane przez badaczy rosyjskich zakładało istnienie nowych gatunków (Britov i Boev 1972), drugie, nie negując opisywanych różnic uznawało te odmienności jako cechy izolatów, szczepów, odmian lub podgatunków (Dick i Chadee 1981). Przyjęte przez badaczy rosyjskich kryteria (cechy biologiczne, morfologiczne i zoogeograficzne) okazały się niewystarczające, aby udowodnić istnienie nowych gatunków. Dopiero w połowie lat 80-tych zastosowanie nowych metod molekularnych i biochemicznych potwierdziło istnienie odrębnych pul genowych w obrębie rodzaju *Trichinella* i skłoniło do ustalenia nowych kryteriów oceny taksonomicznej opartej na: (1) analizie izomorficznych białek enzymatycznych, (2) analizie rDNA (po trawieniu wybranymi endonukleazami) oraz (3) danych biologicznych (m.in. RCI – wskaźnik zdolności rozrodczej, liczba larw urodzonych w warunkach in vitro, czas inkapsulacji larwy mięśniowej, wrażliwość larw na zamrażanie (-30 C, 12h).

Na podstawie ww. kryteriów na początku lat 90-tych wyodrębniono 8 typów genetycznych, którym nadano oznaczenia kodowe. Były one następujące: T1, T2, T3, T4, T5, T6, T7 i T8. Większość typów genetycznych opisano jako gatunki: T1 – *T. spiralis* ss, T2 – *T. nativa*, T3 – *T. britovi*, T4 – *T. pseudospiralis*, T7 – *T. nelsoni*. W końcu 1999 r i w pierwszej połowie 2000 r opisano kolejne dwa gatunki – *T. murrelli* (T5) oraz *T. papuae*. Typy T6 i T8 pozostają wciąż bez ustalonej nazwy gatunkowej. Nowoopisanym (w 2000 roku) typem genetycznym jest T9.

2. Patogeneza fazy mięśniowej włośnicy – „transformacja bazofilna”

Pomimo wielu różnic, stwierdzanych przy użyciu najbardziej obecnie czułych metod, prawdopodobnie dla wszystkich znanych gatunków włośnia przeżywalność i pełny rozwój larw inwazyjnych uzależnione są od zmian w mikrostrukturze komórki mięśniowej pro-

1. Oryginalnie opisany jako *Trichina spiralis*. Dziś powinno się stwierdzić „...prawdopodobnie *T. spiralis*...”, ponieważ nie ma pewności, iż nie był to któryś z innych gatunków, tj. *T. nelsoni*, *T. nativa*, *T. britovi* lub *T. murrelli*.

wadzących do powstania „niszy”, czyli zmienionego fragmentu komórki mięśniowej, w którym może osiedlić się i zakończyć pełny rozwój larwa. Proces ten znany jest pod nazwą **transformacja bazofilna**²⁾.

Transformacja bazofilna – termin zaproponowany przez grupę polskich badaczy (Gabryel i Gustowska 1967, 1970) – to zespół zmian o charakterze czynnościowym i strukturalnym, zachodzących w zarażonym mięśniu, do których należą m.in.: (1) hipertrofia jąder komórkowych i ich translokacja do centralnej części komórki mięśniowej; (2) replikacja DNA jądrowego, wzrost zawartości RNA (również pozajądrowego) i białek – świadcząca o zatrzymaniu cyklu komórkowego w fazie G²/M; (3) rozluźnienie, a następnie zanik aparatu kurczliwego komórki mięśniowej; (4) rozprzężenie fosforylacji oksydacyjnej, zmieniony metabolizm kwasów nukleinowych i fosforu oraz (5) liczne zmiany w mikrostrukturze komórki prowadzące do powstania „niszy”. Z powodu silnego powinowactwa sarkoplazmy do barwników alkalicznych transformacja komórki pod wpływem larwy włośnia została określona jako „bazofilna”. W wyniku postępującej transformacji, względnie niewielki fragment zarażonej komórki mięśniowej (ok. 150 x 350 μ m), bezpośrednio otaczający rozwijającą się larwę zostaje wkrótce³⁾, wraz z larwą, oddzielony torebką od pozostałych komórek mięśniowych. Te dwa elementy, tj. transformowany fragment komórki mięśniowej – **nurse cell** i larwa stanowią nową funkcjonalną jednostkę, **nurse cell-muscle larva complex**⁴⁾. O trwałości tej nowej jednostki może świadczyć fakt, iż przynajmniej tak długo, jak żyje żywiciel, „żyje” również jednostka (Wranicz et al. 1994). Znane są u ludzi przypadki ponad 40-letnich zarażeń włośniem *T. spiralis*. Należy w tym miejscu wspomnieć, iż w ostatnich latach można spotkać inne nazwy dla tego samego procesu będące próbą spojrzienia na opisane zjawisko z perspektywy badań ostatnich lat. Do nich należą: **reorganization** (Lee et al. 1991), **host cell-cycle reentry** (Jasmer i Neary 1994) i **de-differentiation** (Vassilatis et al. 1996). W niniejszym opracowaniu będzie używany pierwotny termin, choć może mieć on już nieco historyczne brzmienie.

Opisane powyżej zjawisko transformacji bazofilnej, chociaż dzisiaj całkowicie przyjęte w swoich zasadniczych założeniach, jeszcze do początku lat 60-tych nie było jednomyślnie akceptowane oraz właściwie interpretowane. Ta nowa koncepcja ścierała się z dwoma innymi, chronologicznie wcześniejszymi hipotezami. Pierwsza z nich zakładała, iż fragment komórki mięśniowej otoczony wraz z larwą przez rozwijającą się torebkę to wielka komórka, której rolą jest fagocytoza larwy. Druga, późniejsza koncepcja, przyjmowała, iż w wyniku zarażenia komórka ulega degeneracji. Inny punkt widzenia na relację larwa – komórka mięśniowa zaprezentował po raz pierwszy Themann (1960). Badając, przy użyciu mikroskopii elektronowej, obraz zmian w zarażonym mięśniu stwierdził intensywny rozrost siatki sarkoplazmatycznej i zwiększenie liczby mitochondriów w obrębie nurse cell⁵⁾. Na tej podstawie uznał on, iż nurse cell⁴⁾ wykazuje wysoką aktywność metaboliczną. Kolejne prace umocniły ten pogląd dostarczając dowodów na zwiększoną aktywność w nurse cell⁵⁾

2. Możemy nie być do końca pewni, jaką rolę odgrywa transformacja bazofilna w przebiegu zarażenia *T. pseudospiralis*. Przy pomocy badań histologicznych, histo- i cytoenzymatycznych oraz ultrastrukturalnych stwierdzono podobieństwo zasadniczych cech transformacji komórki mięśniowej, tak w przypadku zarażenia *T. spiralis*, jak i *T. pseudospiralis*, jakkolwiek istnieją w obu przypadkach różnice strukturalne.
3. Najwcześniej udaje się stwierdzić obecność torebek wokół larw 14 dnia po doustnym zarażeniu.
4. Jedynie na potrzeby niniejszej pracy chciałbym podać najbardziej, wg mnie, odpowiadające oryginalnemu znaczeniu polskie tłumaczenie w/w terminu - „kompleks komórki opiekuńczej i larwy mięśniowej”, aczkolwiek, wobec braku możliwości satysfakcjonującego tłumaczenia, uważam, iż termin ten może być używany w brzmieniu oryginalnym. Znane są mniej lub bardziej udane próby tłumaczenia terminu „nurse cell”, np: „komórka niańka”, „k. piastunka”, „k. pielęgnowująca”, „k. mamka”.
5. Chronologicznie, termin „nurse cell” został zaproponowany 14 lat po ogłoszeniu pracy Themanna. Formalnie więc należałoby stwierdzić, iż Themann, Zarzycki oraz Maier i Zaiman zmiany te obserwowali we „fragmencie komórki mięśniowej otoczonej wraz z larwą przez torebkę”.

dehydrogenazy bursztynianowej (Zarzycki 1963) i obecność zwiększonej liczby lizosomów (Maier i Zaiman 1966). Na podstawie tych pionierskich prac oraz w oparciu o badania własne wspomniana już grupa polskich badaczy zaproponowała hipotezę, według której larwa pełni nadrzędną rolę podporządkowując metabolizm zarażonej komórki swoim potrzebom (Gabryel i Gustowska 1967).

Mechanizm umożliwiający podporządkowanie mikrostruktury komórki i jej zasadniczych funkcji potrzebom larwy, jest niewątpliwie uruchamiany przez larwę. Należy jednak postawić pytanie, które wydaje się kluczowe dla poznania molekularnych relacji pasożyt-komórka: **które stadium larwalne, nowonarodzona (NBL) larwa, czy mięśniowa⁶⁾ (ML) larwa indukuje proces transformacji?**

Na początku lat 90-tych dominował pogląd, iż właściwym stadium larwalnym włośnia *T. spiralis* odpowiedzialnym za inicjację procesu transformacji jest larwa mięśniowa L1, a czynnikiem odpowiadającym za wywołanie transformacji, produkowanym przez to stadium larwalne, miało być wydaliniczo/wydzielnicze białko o m.cz. 43 kDa (Despommier et al. 1990, Lee et al. 1991). Pierwsze polskie prace zwróciły uwagę na fakt, iż występowanie charakterystycznych cech transformacji bazofilnej było intensywniejsze, gdy zwierzęta eksperymentalne zarażane były młodszymi larwami (Gabryel et al. 1985). Kolejne prace dotyczące tego problemu (Wrancicz et al. 1992, Wrancicz 1992) dostarczyły dodatkowych dowodów potwierdzających pogląd o nadrzędnej roli larwy mięśniowej w „kompleksie komórki opiekuńczej i larwy mięśniowej” w różnych okresach dojrzałej fazy mięśniowej, tj. po 21 dpi. Stwierdzono, badając przy pomocy mikroanalizy rentgenowskiej sprzężonej z mikroskopią skaningową, iż larwa mięśniowa kumuluje znaczne ilości fosforu, w porównaniu z nurse cell i nie zarażoną komórką mięśniową. W wyniku prowadzonych badań stało się oczywiste, iż przemiany w komórce mięśniowej sięgają najistotniejszych procesów metabolicznych a metabolizm kwasów nukleinowych i metabolizm energetyczny w komórce mięśniowej został zmieniony pod wpływem larwy (Wrancicz et al. 1996). Pomimo dowodów wskazujących na nadrzędną rolę larwy, których dostarczyły badania, wciąż nie istniały przesłanki pozwalające na jednoznaczne rozstrzygnięcie, czy za indukcję procesu transformacji odpowiedzialna jest nowonarodzona czy mięśniowa larwa? Stało się zrozumiałe, iż wyjaśnienie mechanizmu wykrytych zjawisk, dotyczących wzajemnych relacji komórka mięśniowa – larwa, będzie możliwe jedynie na drodze dokładniejszych badań mechanizmu procesu transformacji komórki mięśniowej i przy zaangażowaniu wysiłku zespołu specjalistów.

Fakt, iż dzisiaj wiemy, (1) w jakim czasie po zarażeniu ma miejsce indukcja transformacji bazofilnej, (2) które stadium larwalne włośnia inicjuje proces transformacji, (3) jak szybko zanika u tego stadium zdolność transformowania komórki mięśniowej, a w końcu to, że (4) pula transformujących larw, w porównaniu z pulą wiekową larw nietransformujących charakteryzuje się obecnością specyficznych klas RNA (Borsuk i Wrancicz, oddana do druku), jest wynikiem intensywnych badań prowadzonych na tym polu pod kierunkiem autora niniejszej pracy, w latach 1994–1997, których wyniki zostaną przedstawione poniżej. Równoległym, choć daleko trudniejszym do osiągnięcia, celem podjętych badań było poznanie podstaw molekularnych mechanizmu transformacji.

Zasadniczym celem tych badań było eksperymentalne udowodnienie hipotezy, **iż to nowonarodzone larwy L1 (NBL) są właściwym transformującym stadium larwalnym.** Choć jedną z podstaw tego twierdzenia była ww. praca doświadczalna (Gabryel et al. 1985), przyjęcie tej hipotezy kryło w sobie przynajmniej podwójne ryzyko. Po pierwsze, jedyne badania, na których opierali się badacze proponując zweryfikowanie powyższej hipotezy miały w chwili rozpoczęcia projektu 9 lat. Kiedy je prowadzono, dostępne techniki hodow-

6. Niewątpliwie, gdyby była to ML problem byłby znacznie łatwiejszy do rozwiązania, choćby ze względu na dostępność materiału, bowiem stosunek objętości NBL:ML jest zbliżony do 1:250 i to powinno obrazować skalę trudności badań, w których materiałem jest NBL.

li *in vitro* nie pozwalały na łatwe pozyskiwanie NBL w dużych ilościach, a co z tym się wiąże, obarczone były błędem tzw. „małej próby”. Po drugie, NBL, jako materiał do dalszych analiz metodami biochemicznymi czy molekularnymi, są niezwykle trudne z powodu małych rozmiarów i jednocześnie ograniczonej fizjologicznej wydajności rozrodczej samic włośnia. W związku z tym, w pierwszym etapie badań opracowano metodykę hodowli *in vitro* NBL tak, aby (1) zwiększyć maksymalnie jej wydajność oraz (2) opracować specjalny wariant hodowli *in vitro* NBL taki, który pozwalałby na otrzymanie pul NBL zsynchronizowanych pod względem wieku. Pule NBL wyhodowano tak, aby NBL należące do różnych pul różniły się wiekiem, a NBL należące do tej samej puli były jak najbardziej zbliżone do siebie pod względem wieku. Stąd, NBL należące do tych samych pul, zostały nazwane - *synchroniczne NBL* (sNBL). Zwierzęta eksperymentalne poddano zarażeniu domięśniowemu po to, aby uzyskać jednoczesny rozwój larw w mięśniu. W pierwszych doświadczeniach użyto 1-h, 9-h oraz 6-dniowych sNBL. Wyniki uzyskane na tym etapie były decydujące dla dalszych prac (Wranicz et al. 1998) i pozwoliły na sformułowanie następujących wniosków:

1. stadium zdolnym do indukowania transformacji bazofilnej komórki mięśniowej są jedynie młode NBL, tj. 1-h i 9-h sNBL;
2. próby indukowania transformacji przy użyciu dojrzałych, 50-dniowych larw mięśniowych, jak sugerowali niektórzy autorzy, nie powiodły się;
3. NBL posiadają kompleksową zdolność do zarażania komórki mięśniowej i inicjowania w niej transformacji prowadzącej do powstania nurse cell;
4. powyższa zdolność została nazwana *potencjałem transformacyjnym* (TP) i jest zależna od wieku NBL (Wranicz et al. 1998);
5. NBL rodzą się już ze względnie wysokim TP.

Jakkolwiek cytowane badania przyniosły istotne odpowiedzi na postawione pytania i były wystarczającą podstawą do dalszych badań, nie przyniosły wciąż jednak odpowiedzi na pytanie: **jak przedstawia się dynamika tej istotnej cechy u NBL, jakim jest potencjał transformacyjny?** Kolejny cykl doświadczeń poświęcony był znalezieniu precyzyjnej odpowiedzi na powyższe pytanie.

W wyniku zarażenia pulami sNBL uzyskano odpowiedź na postawione powyżej pytanie. W doświadczeniu użyto 5 pul sNBL w następujących przedziałach wiekowych: 0-2h (grupa I), 8-10 h (grupa II), 24-26 h (grupa III), 44-46 h (grupa IV) i 72-74 h (grupa V) (Fig. 1). Okazało się, iż TP narastał do ok. 10 godziny życia NBL, a następnie stopniowo zanikał tak, że w 72-74 godzinie życia NBL tylko jedna larwa na tysiąc podanych w dawce zakaźnej zdolna była transformować komórkę mięśniową i osiedlić się w niej (Wranicz et al. 1999). Na tym etapie badań wiadomo już było, iż hipoteza głosząca, iż larwa mięśniowa jest właściwym stadium indukującym transformację bazofilną, wobec nowych danych doświadczalnych zebranych w trakcie realizacji projektu, powinna być zastąpiona nową, głosiącą, iż nowonarodzona larwa LI indukuje proces transformacji bazofilnej dzięki potencjałowi transformacyjnemu, który zanika wraz z wiekiem. Inne badania eksperymentalne publikowane w tym czasie, wzmocniły nową hipotezę, ponieważ twierdzenie o wymaganej ekspresji w procesie transformacji 43-kDa-białka, obecnego u larw mięśniowych, zostało eksperymentalnie podważone (Jasmer i Neary 1994).

W tym miejscu wydaje się uzasadnione pytanie o czynnik odpowiedzialny za indukcję transformacji i chociaż jest całkowicie realne jego poznanie w perspektywie najbliższych lat, dzisiaj możemy jedynie stwierdzić, iż pochodzi on/uruchamiany jest w wyniku wzajemnego oddziaływania nowonarodzonej larwy i komórki mięśniowej.

Literatura

1. Borsuk P, Wranicz MJ (oddana do druku) Acta Parasitol
2. Britov VA, Boev SN (1972) Vest. Akad. Nauk. SSSR 28: 27-32
3. Despommier DD, Gold AM, Buck SW, Capo V, Silberstein D (1990) Exp Parasitol 71: 27-38

4. Dick TA, Chadee K (1981) Trichinellosis (Kim CW et al., eds.) Reedbooks Surrey England 23-27
5. Gabryel P, Gustowska L (1967) Gegenbauers Morphol Jahrb 111: 174-180
6. Gabryel P, Gustowska L (1970) Acta Parasitol Pol 18: 1-6
7. Gabryel P, Gustowska L, Rauhut W, Błotna-Filipiak M (1985) Wiad Parazytol 31: 289-297
8. Garkavi BL (1972) Veterinariya 10: 90-91
9. Jasmer DP, Neary MN (1994) Exp Parasitol 78: 317-325
10. Lee DL, Ko RC, Yi XY, Yeung MHF (1991) Parasitology 102: 117-123
11. Maier DM, Zaiman H (1966) J Histochem Cytochem 14: 396-400
12. Themann H (1960) Wiad Parazytol 6: 352-354
13. Vassilatis DK et al. (1996) Mol Biochem Parasitol 78: 13-23
- H. Wranicz M (1992) Rozprawa doktorska, Warszawa, Instytut Parazytologii PAN
15. Wranicz MJ, Cabaj W, Moskwa B (1999) Parasitol Res 85: 290-292
16. Wranicz MJ et al. (1998) Parasitol Res 84: 403-407
17. Wranicz MJ, KoyroH-W, Stoye M (1994) In: Jouffrey B, Colliex C (eds) ICEM 13-Paris, Application in Biological Sciences. Les Editions de Physique, Les Ulis Cedex A, 1437-1438
18. Wranicz MJ, KoyroH-W, Stelzer R, Stoye M (1996) Parasitol Res 82: 731-736
19. Wranicz MJ, Stelzer R, Stoye M (1992) Vlth EMOP, The Hague, The Netherlands, 71
20. Zarzycki J (1963) Wiad Parazytol 9: 459-464

Kryptosporidioza u ludzi: epidemiologia, drogi zarażenia i patogenez

Edward Siński

Zakład Parazytologii Instytutu Zoologii, Uniwersytet Warszawski

Wstęp

Kryptosporidioza u ludzi jest chorobą rozwijającą się w czasie zarażenia *Cryptosporidium parvum*. Aktualnie jest uznawana za jedną z najczęściej występujących inwazji jelitowych u ludzi (Current i Garcia, 1991). Kryptosporidioza była praktycznie nieznana przed pandemią AIDS, nabrała dużego rozgłosu z uwagi na jej letalne skutki u ludzi z niewydolnym systemem odpornościowym. Ludzie chorzy z AIDS, chorzy w czasie i po leczeniu immunosupresyjnym, dzieci z niedojrzałym układem odpornościowym, dzieci z syndromem niedożywienia oraz osoby w podeszłym wieku stanowią grupy dużego ryzyka zarażenia *Cryptosporidium*. Do połowy lat 70-tych nie przypisywano tym pasożytom większych cech chorobotwórczych (Nime i wsp. 1976). Natomiast obecnie powszechnie uznaje się, że zarażenie *Cryptosporidium* i kliniczny rozwój choroby, często z letalnymi skutkami, rozwijają się w konsekwencji immunosupresji organizmu żywiciela.

Celem tego artykułu jest przedstawienie nowych, istotnych i stosunkowo mało poznanych dróg krążenia pasożyta w środowisku, związku choroby z niedoborami immunologicznymi i z syndromem niedożywienia oraz szeregu problemów dotyczących patogenez przewlekłych biegunek wywoływanych przez chroniczną inwazję tym pasożytem. Ograniczenia diagnostyczne przy wykrywaniu małych ilości oocyst tego pasożyta w wodzie i po-

Choroby odzwierzęce i pasożytnicze

żywieniu nie sprzyjają poznaniu dróg transmisji, szczególnie że ostatnio poważnie brana jest pod uwagę oddechowa droga zarażenia. Podobnie, mało badań poświęca się krypto- sporidiozie u dzieci, zwłaszcza u dzieci niedożywionych. Mimo dużego postępu wiedzy dotyczącej patofizjologii przewodu pokarmowego, ciągle słabo poznana jest dynamika progresji infekcji *Cryptosporidium* od fazy ostrej do chronicznej oraz przyczyny śmierci dzieci niedożywionych (Griffiths, 1998).

Biologia i cykl rozwojowy *Cryptosporidium*

Pierwotniaki z rodzaju *Cryptosporidium*, które po raz pierwszy opisał Tayzzer w 1907 r., są obligatoryjnymi, wewnątrzkomórkowymi pasożytami człowieka i wielu gatunków zwierząt.

A. Systematyka i główne cechy rodzaju *Cryptosporidium* (wg Levina 1980). typ:

Apicomplexa - obecny apikalny zespół organelli

gromada: Sporozoasida - rozmnażanie płciowe i bezpłciowe, wytwarzanie oocyst podgromada:

Coccidiasina - trzy fazy rozwojowe: merogonia, gamogonia i sporogonia rząd: Eucoccidiorida -

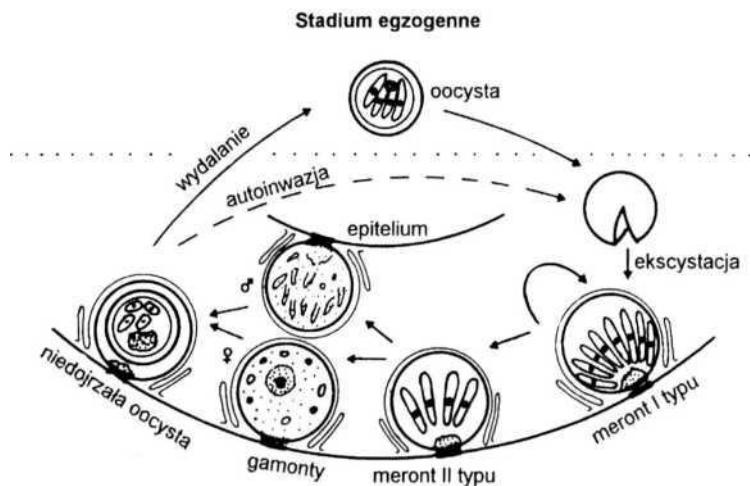
w cyklu rozwojowym występuje schizogonia podrząd: Eimeriorina - niezależny rozwój mikro- i

makrogamet rodzina: Cryptosporidiidae - oocysta posiada 4 nagie sporozoit

W rodzaju *Cryptosporidium* znane są dwa gatunki, które są inwazyjne dla ssaków; bardzo powszechnie występujący gatunek *C. parvum* i rzadziej spotykany *C. muris*. Inne gatunki takie jak: *C. andersoni*, *C. wairi*, *C. felis*, *C. meleagridis*, *C. baileyi*, *C. serpentis*, *C. nasorum* nie są inwazyjne dla człowieka.

B. Cykl rozwojowy *Cryptosporidium*

W rozwoju *Cryptosporidium* wyróżnia się kilka stadiów endogenne i stadium egzogenne, którym jest inwazyjna oocysta (Rys. 1). Stadia endogenne różnicują się w procesie merogonii, gamogonii i sporogonii. Inwazyjne sporozoit po zarażeniu osiedlają się między mikrokroczkami enterocytów, najczęściej w jelicie cienkim. Szybko po zarażeniu stają się for-



Rozwój w żywicielu Stadium endogenne

Rys. 1 cykl rozwojowy *Cryptosporidium* wg O'Donoghue 1995, z własną modyfikacją.

mami troficznymi. Trofozoity w okresie kilku dni po zarażeniu (do 8 dpz) przechodzą schizogonię, przekształcając się w meronty I typu. Formy te zawierają 8 merozoitów o wymiarach 2.5 x 0.4 um. Merozoity po uwolnieniu się z wakuoli kolonizują sąsiednie enterocyty. Pomiedzy 3 a 8 dpz pojawiają się meronty II typu, które zawierają tylko 4 merozoity. Po procesie schizogonii rozpoczyna się gamogonia; powstają makro- i mikrogamety. Po zapłodnieniu zygota przekształca się w oocystę i w procesie sporogonii różnicują się 4 sporozycy o wymiarach 1.5 x 0.75 um. W odróżnieniu od innych Eimeriorina nie tworzą się sporocysty, stąd sporozycy *Cryptosporidium* nazywane są „nagimi”. Wyróżnia się dwa typy oocyst *Cryptosporidium*; tzw. cienkościenne, które nie są wydalane z organizmu oraz grubościenne, które wydostają się do środowiska (gleba, woda). Oocysty cienkościenne, których jest około 20%, sporulują wewnątrz organizmu żywiciela, a sprozoity kolonizują nową powierzchnię śluzówki. Dwa etapy w endogennym rozwoju pasożyta, merogonia i różnicowanie się oocyst cienkościennych, warunkują ogromny potencjał reprodukcyjny pasożyta i autoinfekcję. Fakt ten wyjaśniać długotrwałe, uporczywe inwazje obserwowane czasami przez szereg lat u ludzi z niedoborami immunologicznymi. Grubościenne oocysty o rozmiarach 4 do 6 um (*C. parvum*) i 5 do 7 um (*C. muris*) wydalane z kałem mogą natychmiast sporulować w środowisku zewnętrznym, a uwalniane sporozycy są inwazyjne dla człowieka. Oocysty *Cryptosporidium* zachowują inwazyjność przez kilka miesięcy i są odporne na działanie różnych czynników środowiskowych, w tym na niską temperaturę i chlorynowanie wody. Natomiast są wrażliwe na wysuszenie, zamrożenie oraz działanie ozonu. Tradycyjne metody uzdatniania wody pitnej nie niszczą oocyst, stąd też źródłem zarażenia ludzi i zwierząt jest najczęściej woda skażona oocystami wymywanymi z gleby. Do gleby zaś oocysty przedostają się wraz z odchodami zakażonych zwierząt lub ludzi. Przykładem wodno pochodnego zarażenia ponad 400 tys. ludzi była epidemia biegunki w Milwaukee, w USA, (MacKenzie i wsp. 1994), mniejsze ogniska wodno pochodnych zarażeń były opisywane w Europie (Smith i Rose 1990).

Epidemiologia

Generalnie można założyć, że każdy narażony jest na zarażenie *Cryptosporidium* (Keusch i wsp. 1995). Ścisłe ekologiczne związki człowieka i zwierząt hodowlanych (bydło, kozy, owce) i domowych sprzyjają kontaminacji środowiska, wymianie pasożytów i ciągłemu utrzymywaniu źródeł inwazji. Stąd większość inwazji u ludzi ma podłoże zoonotyczne, choć szerzenie się kryptosporidiozy drogą zarażenia człowiek ↔ człowiek również ma miejsce, szczególnie w aglomeracjach mocno przeludnionych o złych warunkach sanitarnych. Dawki inwazyjne pasożyta są na ogół bardzo małe; zaledwie kilka oocyst może być przyczyną bardzo masowej inwazji. Sytuację taką warunkują dwa czynniki: (1) biologia pasożyta (autoinwazja), (2) sprawność funkcjonalna układu obronnego żywiciela. Trudno jest zabezpieczyć wodę i glebę przed skażeniem oocystami pasożyta, a jeszcze trudniej jest monitorować skażenie takiego środowiska przy stosowaniu konwencjonalnych metod wykrywania oocyst pasożyta. Wszystkie te okoliczności przyczyniają się do tego, że kryptosporidioza staje się powszechną chorobą inwazyjną i znajduje się na 3 lub 4 miejscu na liście zidentyfikowanych patogenów człowieka wywołujących biegunki (Gurrent i Garcia 1991, O'Donoghue 1995).

Jednakże, istnieją wyraźne różnice w epidemiologii kryptosporidiozy w krajach rozwiniętych i rozwijających się. Warunki socjotechniczne, bieda i klimat sprzyjają szerzeniu się inwazji *Cryptosporidium* w krajach rozwijających się. Porównanie prewalencji inwazji *Cryptosporidium* w związku z klimatem, statusem immunologicznym i wiekiem ludzi przedstawiono w Tabeli 1.

Prewalencję objawów gastroenteritis u dzieci w związku z zarażeniem *Cryptosporidium* przedstawia Tabela 2. Występowanie oocysty *Cryptosporidium* stwierdzano na podstawie badań koproskopowych przy zastosowaniu różnych metod, a wyniki przedstawiono według wcześniejszego opracowania (Siński i wsp. 1988). Zarażenie *Cryptosporidium* u dzie-

Tabela 1. Kryptosporidioza u ludzi z objawami biegunki (opracowano wg. Casemore 1990, z własnymi modyfikacjami)

	Prewalencja kryptosporidiozy (%)		
	u osób dorosłych	u chorych HIV+	u dzieci 1-5 lat
Kraje o klimacie umiarkowanym	0.1 - 2	14	4
Kraje o klimacie gorącym	0.5 - 10	24	12

ci z objawami wyniszczającej biegunki kształtuje się z granicach 4% (Casemore 1990). Z badań własnych, prowadzonych przez 27 miesięcy (1986-1998) w Centrum Zdrowia Dziecka w Warszawie-Międzylesiu pod kierunkiem prof. dr hab. med. Jerzego Sochy, wynika że spośród 560 dzieci w wieku od 0,2 do 17 lat z objawami biegunki, badanych w kierunku kryptosporidiozy tylko u 14 dzieci (2,5%) potwierdzano w kale oocysty tego pasożyta. Nie stwierdzono korelacji między występowaniem zakażenia *Cryptosporidium* a wiekiem, płcią i rejonem kraju, chociaż obserwowano pewne tendencje do częstszego występowania zarażenia u dzieci w wieku od 0,2 do 3 lat (50%) pochodzących z rejonów rolniczych (43%). Badania nasze wskazują raczej na rzadkie przypadki zarażenia *Cryptosporidiumu* u małych dzieci, które mogłyby być przyczyną biegunek i niedożywienia (Siński i wsp. 1991).

Grupę podwyższonego ryzyka zarażenia stanowią chorzy po chemioterapii w związku z transplantacją nerek i diabetycy. Między innymi Tanyuksel i wsp. 1995 wykazali, że u ludzi chorych z objawami biegunki, poddanych wcześniej chemioterapii, 18 na 106 badanych

Tabela 2. Występowanie *Cryptosporidium* sp. u dzieci z objawami gastroenteritis (badania prowadzono w latach 1983-1988).

Kraj	Liczba badanych pacjentów	Procent zarażonych	Autorzy
Australia	697	4,7	Tzipori 1983
Brazylia	61	3,2	Loureiro i wsp. 1986
Chile	100	4,0	Weitz i wsp. 1985
Francja	190	2,1	Arnaud-Battandier i wsp.
Indie	682	13,1	1985
Kostaryka	278	2,1	Mathan i wsp. 1985
Polska	201	3,9	Hojlyng i wsp. 1984
Rwanda	193	10,4	Siński i wsp. 1988
Tajlandia	410	3,2	Bogaerts i wsp. 1984
Wenezuela	120	10,8	Taylor i wsp. 1986
Wielka Brytania	1363	4,3	Perez-Shael i wsp. 1985 Casemore i wsp. 1985

(17%) było zarażonych *Cryptosporidium*, natomiast w grupie kontrolnej 60 pacjentów poddanych immunosupresji, bez objawów biegunki, nie stwierdzono zarażenia *Cryptosporidium* sp. Selektywny niedobór immunoglobuliny A, talasemia, niedobór interferonu y również bardzo sprzyjają zarażeniu *Cryptosporidium* sp.

Współwystępowanie innych enteropatogenów z równoczesnym zarażeniem *Cryptosporidium* u dzieci przedstawia Tabela 3.

Tabela 3. Występowanie *Cryptosporidium* z innymi enteropatogenami (wg Sińskiego i wsp. 1991).

Próby <i>Cryptosporidium</i> pozytywne + inne patogeny	Liczba przypadków koinfekcji
<i>Clostridium</i> sp.	1
<i>Klebsiella</i> sp.	2
<i>Klebsiella</i> sp. + <i>Yersinia</i> sp.	1
<i>Blastocystis hominis</i>	3
<i>Giardia lamblia</i>	1

Drogi zarażenia

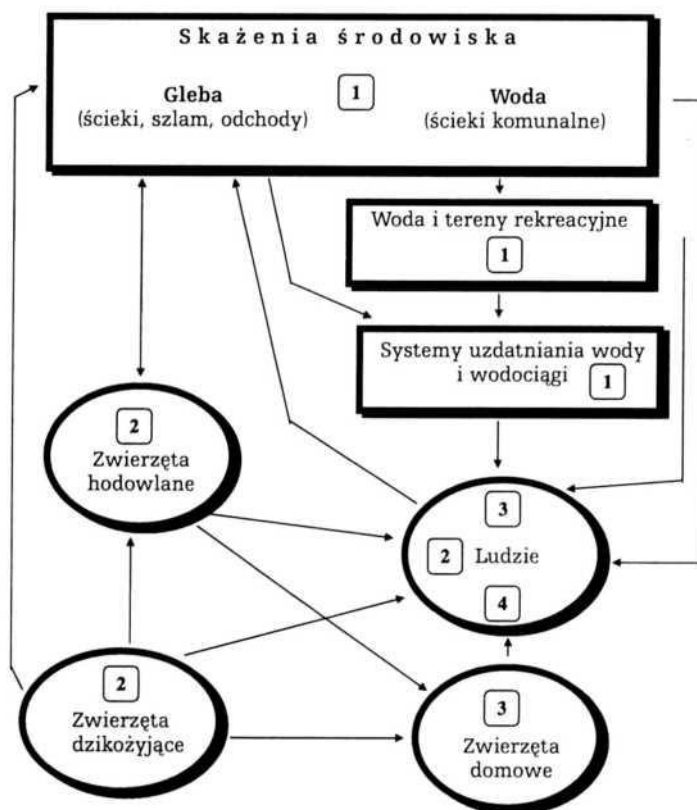
Liczne dane epidemiologiczne i badania doświadczalne wykazują, że dawka oocyst wystarczająca do wywołania poważnych objawów klinicznych kryptosporidiozy u ludzi jest niewielka i wynosi od 10 do 100 oocyst. Podobnie reinfekcje są całkiem prawdopodobne przez 10-krotnie większe dawki tego pasożyta (Griffiths 1998).

Do zarażenia *Cryptosporidium* najczęściej dochodzi drogą doustną, kiedy oocysty lub po ich sporulacji inwazyjne sporozycyty, dostają się do przewodu pokarmowego. Można wyróżnić dwa rodzaje transmisji oocyst: (1) transmisję pośrednią (tzw. środowiskową) z udziałem gleby, wody, pożywienia oraz powietrza; (2) transmisję bezpośrednią: człowiek ↔ człowiek; człowiek ↔ zwierzęta. Dotychczas najlepiej została poznana pośrednia droga transmisji oocyst *Cryptosporidium* przez wodę, i jej przypisuje się największy udział w krążeniu oocyst w naturalnym środowisku (Ficher i Crabb 1998). Woda pitna skażona oocystami jest bezpośrednią przyczyną lokalnych ognisk (outbreaks) kryptosporidiozy. Przykład masowej wodno pochodnej epidemii kryptosporidiozy w Milwaukee (USA) w 1993 roku jest głośnym tego dowodem.

Drogi krążenia oocyst w środowisku naturalnym obrazuje schemat przedstawiony przez Morgana i Thompsona 1998 (Rys. 2). Głównym rezerwuarem zoonotycznym, w którym następuje namnożenie pasożyta i produkcja oocyst są zwierzęta hodowlane, dziko żyjące i domowe. Cielęta w warunkach hodowlanych wydalają z kałem kilka do kilkunastu milionów oocyst na dobę. Stąd wiadomo, że farmerzy i służby weterynaryjne są szczególną grupą wysokiego ryzyka zarażenia i jest to przykład transmisji bezpośredniej. Podobnie w żłobkach, przedszkolach, zamkniętych domach opieki społecznej i szpitalach dochodzi często do bezpośredniego zarażenia. Między innymi dlatego, w szpitalach na oddziałach zamkniętych, w których przebywają chorzy z niedoborami immunologicznymi stosuje się szczególne środki ostrożności. Również ostatnio, Pedersen i wsp. 1996, w dobrze udokumentowanych badaniach, wykazali że objawy kryptosporidiozy występują znacznie częściej u homoseksualistów z AIDS (4.1%) w porównaniu z grupą narkomanów z AIDS (1.3%). I dlatego kryptosporidioza

Choroby odzwierzęce i pasożytnicze

Rys. 2. Źródła, rezerwuary zwierzęcy i drogi przenoszenia *Cryptosporidium parvum* z uwzględnieniem etapów właściwego diagnozowania zarażenia i wykrywania skażeń. (1) regularny monitoring wody, wodociągów, kanalizacji, (2) epidemie, (3) lokalne ogniska, (4) osobnicza wrażliwość na zarażenie, np. wrodzone niedobory odporności, AIDS itp. oraz właściwa charakterystyka czynnika etiologicznego.



wchodzi do zespołu chorób GBS (Gay Bowel Syndrome), ponadto *Cryptosporidium* jest także zaliczany do grupy czynników wywołujących tzw. biegunki podróżne (travelers diarrhoea).

Patogeneza

Kliniczny obraz zarażenia *Cryptosporidium* może być zróżnicowany i zależy od funkcji układu odpornościowego. Najczęstszymi objawami kryptosporidiozy jest biegunka, która u chorych z prawidłowym systemem odpornościowym ma charakter przejściowych dolegliwości. Częste i długotrwałe biegunki z tzw. syndromem wyniszczenia występują u osób z upośledzonym układem odpornościowym. Najgwałtowniejszy przebieg kryptosporidiozy obserwuje się u chorych przy AIDS. Wyniszczająca organizm biegunka może trwać średnio około 20 tygodni, a w skrajnych przypadkach aż do 6 lat. W wyniku tzw. „cholera like” biegunek, których patologiczny mechanizm nie jest do końca poznany, chorzy w ciągu doby tracą ogromne ilości płynu.

U ludzi chorych z AIDS zarażenie *Cryptosporidium* najczęściej jest potwierdzane metodami histologicznymi w biopsjach, zwykle jelita grubego. W badaniach post mortem po-

Kryptosporidioza u ludzi: epidemiologia, drogi zarażenia i patogeneza

twierdzono obecność pasożyta na powierzchni błony śluzowej wszystkich odcinków przewodu pokarmowego, w płucach, w przewodach żółciowych i trzustkowych. Najliczniej kolonizowany jest przez pasożyty przedni odcinek jelita czczego.

Z badań klinicznych wynika, że największe znaczenie chorobotwórcze ma *C. parvum* - pasożyt ludzi i przeżuwaczy. W obrębie tego gatunku, na podstawie analizy 18S rDNA wyróżniono dwa genotypy: genotyp 1 (human genotype), który występuje u ludzi i był izolowany tylko od osobników ze sprawnym układem immunologicznym, genotyp 2 (cattle genotype) występuje przede wszystkim u cieląt, ale był również izolowany od innych przeżuwaczy i od ludzi. Oba genotypy w tzw. grupach wysokiego ryzyka zarażenia, wywołują inwazje oportunistyczne - oportunistyczny inwazji ma więc ścisły związek z kondycją fizjologiczną ludzi zarażanych, a przewlekła wyniszczająca organizm biegunka, nierzadko prowadząca do śmierci. Przebieg i czas trwania tej choroby u ludzi z niedoborami immunologicznymi wskazuje na to, że odporność i ograniczenie zarażenia *C. parvum* wymaga aktywacji układu immunologicznego żywiciela (Peterson 1992). Chorzy na AIDS po zarażeniu *Cryptosporidium* rozwijają odpowiedź humoralną IgG, IgM i IgA, która jest w dużej mierze zależna od liczby komórek CD4⁺ (Tabela 4).

Tabela 4. Zależności pomiędzy liczbą komórek CD4⁺ a poziomem przeciwciał i obrazem klinicznym inwazji *Cryptosporidium* u ludzi chorych na AIDS

Liczba komórek CD4 ⁺ w 1 mm ³ krwi	Względny poziom przeciwciał wszystkich klas immunoglobulin	Efekty kliniczne
powyżej 180	względnie normalna odpowiedź przeciwciał	spontaniczne ograniczenie inwazji
poniżej 140	niski poziom przeciwciał	przewlekła inwazja
poniżej 50	brak odpowiedzi ze strony przeciwciał	ciężki przebieg inwazji ze złymi prognozami

U ludzi z AIDS *Cryptosporidium* jest bezpośrednią przyczyną śmierci ok. 15% chorych z tej grupy.

Konkluzje:

(1) Infekcje nawet pojedynczymi oocystami *Cryptosporidium parvum* u ludzi z niedoborami immunologicznymi przybierają charakter inwazji oportunistycznych, trudnych do wyleczenia i poważnych w skutkach, a z powodu zarażenia *Cryptosporidium* umiera średnio 15% chorych z AIDS. (2) Badania środowiskowe wskazują na wysoką prevalencję naturalnego zarażenia *Cryptosporidium* w populacji zwierząt dziko żyjących i hodowlanych. (3) Głównym źródłem zarażenia są zanieczyszczone oocystami *Cryptosporidium* gleba, woda i pożywienie.

Piśmiennictwo

1. Current W. L., Garcia L.S. (1991). *Clinical Microbiology Reviews*, 4: 325–358.
2. Casemore D.P. (1990). *Epidemiology and Infection*, 104: 1–28.
3. Fricker C.R., Crabb J.H. (1998). *Advances in Parasitology*, 40: 241–278.
4. Griffiths J.K. (1998). *Advances in Parasitology*, 40: 37–85.
5. Keusch G.T., i wsp. (1995). *Schweizerische Medizinische Wochenschrift*, 125: 899–908.
6. Levine N.D. (1980). *Journal of Parasitology*, 66, 830–834.

7. MacKenzie W.R. i wsp. (1994). *New England Journal of Medicine*, 331: 161-167.
8. Morgan U. M., Thompson R.C.A. (1998). *Parasitology Today*, 14:
9. Niem M., i wsp. (1976). *Gasstroenterology*, 70: 592-598.
10. O'Donoghue, E.J. (1995). *Journal for Parasitology* 25: 139-195.
11. Pedersen C. (1996). *Genitourinary Medicine*, 72: 128-131.
12. Peterson C. (1992). *Clinical Infectious Diseases*, 15: 903-909.
13. Smith H.W., Rose J.B. (1990). *Parasitology Today*, 6: 8-12.
14. Siński E., i wsp. (1988). *Acta Parasitologica Polonica*, 33: 295-301.
15. Siński E., i wsp. (1991). *Wiadomości Lekarskie*, 44: 5-6.
16. Tanyukseł M., i wsp. (1995). *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*, 27: 69-70.
17. Tyzzer E.E. (1907). *Proceedings of the Society for Experimental Biology and Medicine*, 5: 12-13.

Genetyczna stabilność wirusa wścieklizny

Małgorzata Sadkowska-Todys

Zakład Epidemiologii Państwowego Zakładu Higieny

Stabilność genetyczną organizmu określa się na podstawie częstości mutacji nukleotydów w genomie, czyli zmiany zapisu informacji genetycznej, wyrażonej w przeliczeniu na 1 zasadę i 1 replikację. Tempo mutowania zależy przede wszystkim od rodzaju materiału genetycznego tzn. czy genom zbudowany jest z kwasu DNA czy RNA, co wiąże się z obecnością lub brakiem systemów naprawczych. Zmienność genomu wirusów RNA szacuje się od 10⁻³ do 10⁻⁵ nukleotydów na replikację. Jest to około milion razy więcej niż w przypadku genomu DNA w komórkach eukariotycznych. Dla genomu RNA wirusa wścieklizny zmienność wynosi około 10⁻⁴ zasad na replikację (1).

Zróźnicowanie genetyczne szczepów wirusa wścieklizny krążących w środowisku, obok pasjonujących aspektów poznawczych nasuwa pytanie:

- czy pod względem genetycznym szczepy laboratoryjne tzn. produkcyjne (szczepionkowe), kontrolne (oceniające immunogenność szczepionki), pasażowane przez dziesiątki lat przez różne modele *in vivo* i *in vitro*, różnią się od szczepów aktualnie krążących w przyrodzie i czy może to mieć znaczenie w ochronie ludzi i zwierząt szczepionych przeciw wściekliznie.
- czy wpływ na zmienność wirusa mogą mieć jego pasaże przez różne rodzaje gospodarzy zwierzęcych

Badania molekularne mające na celu zbadanie podobieństwa i pokrewieństwa genetycznego pomiędzy szczepami wirusa wiążą się z doбором odpowiedniego odcinka genomu. Na dobór odcinka ma wpływ spodziewany dystans ewolucyjny pomiędzy badanymi szczepami, na który może wpływać zarówno czas izolacji, miejsce izolacji oraz gospodarz zwierzęcy. Wyniki analizy genetycznej wyrażane są odsetkiem różnic lub podobieństw sekwencji nukleotydów genomu lub jego fragmentów. Wyniki analizy filogenetycznej przeprowadzonej na ograniczonym fragmencie genu, obarczone są mniejszą wiarygodnością niż gdyby obejmowała ona cały gen, jednakże badanie fragmentu znacznie pomniejsza koszty badań. W rabiologii, badania określające genetyczne pokrewieństwo szczepów, prowadzono głównie na genie nukleoproteiny lub jego odcinkach, a w przypadku szczepów pochodzących z jednego terenu – stosowano czasami pseudogen i odcinki genu glikoproteiny (2, 3, 4, 5, 6, 7, 8, 9).

Badania określające podobieństwo sekwencji 87 szczepów ulicznych wirusa wścieklizny genotypu 1 wyizolowanych w różnych regionach świata z terenów dotkniętych epizootią wścieklizny psów, prowadzili Smith i inni (4). Autorzy analizowali sekwencje nukleotydowe odcinka 3' genu nukleoproteiny o długości 200pz. i stwierdzili, że podobieństwo pomiędzy tymi szczepami jest nie mniejsze niż 95%. Wyniki Smith i in. potwierdzone następnie badaniami francuskimi wykazały, że podobieństwo sekwencji nukleotydowych wzrasta pomiędzy szczepami krążącymi jak gdyby „wsobnie” wśród tych samych gospodarzy zwierzęcych na tych samych terenach. Sacramento i in. określili podobieństwo pomiędzy 12 szczepami pochodzącymi z terenu Francji. Szczepy były izolowane na przestrzeni jednego roku na terenach nie przedzielonych żadną barierą geograficzną. Z tego względu do badań użyto najbardziej zmiennego odcinka genomu wirusa wścieklizny, znajdującego się pomiędzy genem glikoproteiny i genem kodującym polimerazę. Podobieństwo sekwencji nukleotydowej w tym przypadku wynosiło średnio 98,2% (3). Późniejsze badania wykazały, że szczepy izolowane na terenie Francji należą do jednej linii rodowodowej i reprezentują wyłącznie jeden wariant genotypu 1 wirusa wścieklizny co tłumaczyłoby tak wysoki procent podobieństwa sekwencji nukleotydowej zmiennego regionu genomu (9). W badaniach własnych wykonano sekwencjonowanie N-terminalnego odcinka genu nukleoproteiny o długości 400pz. Wyniki badań Kiss i in. wykazały, że ten fragment konserwatywnego genu nukleoproteiny jest jego najbardziej zmiennym odcinkiem i może być stosowany do analizy filogenetycznej szczepów wirusa wścieklizny (6). Dotychczas, ten odcinek genu został wykorzystany do charakterystyki szczepów izolowanych na terenie Afryki oraz do przesłedzenia ewolucji szczepów lyssawirusów izolowanych od nietoperzy na terenie Europy, należących do genotypu 5 i 6 (7, 8). Na terenie Polski stwierdzono obecność czterech wariantów wirusa wścieklizny genotypu 1. Najmniejsze podobieństwo pomiędzy szczepami izolowanymi na terenie kraju wynosi 94,75%, zaś w obrębie jednego wariantu – 98%. Na terenie Polski oprócz szczepów genotypu 1 występują szczepy genotypu 5, które izolowane są od owadożernych nietoperzy. Podobieństwo sekwencji nukleotydowej genu nukleoproteiny polskich szczepów, należących do genotypu 1 i 5, jest nie większe niż 70,75%, natomiast podobieństwo sekwencji aminokwasowej genu nukleoproteiny szczepów polskich należących do genotypu 1 i 5 – nie przekracza 78,2%.

Ze względów praktycznych ważne jest pytanie jak szybkie jest tempo oddalania się szczepów laboratoryjnych od szczepów ulicznych.

Podobieństwo pomiędzy szczepami ulicznymi wirusa wścieklizny genotypu 1 izolowanymi na terenie Polski w ciągu ostatnich 14 lat a szczepami PV i CVS należącymi do referencyjnych szczepów laboratoryjnych jest bardzo wysokie. Szczepy CVS i PV pochodzą od szczepu wyizolowanego przez Pasteura w 1882 roku i były wielokrotnie pasażowane zarówno na zwierzętach jak i na hodowlach komórkowych (10). Różnice pomiędzy sekwencjami nukleotydowymi wynoszą maksymalnie w przypadku szczepu PV – 90,75%, zaś CVS – 93,23%, natomiast pomiędzy sekwencjami aminokwasowymi wynoszą dla PV – 91,25% a dla CVS – 94,74% (10). Tak małe różnice w sekwencji szczepów izolowanych w odstępie około 100 lat świadczą o bardzo powolnej ewolucji wirusa wścieklizny.

Natomiast podobieństwo sekwencji aminokwasowej odcinka genu nukleoproteiny pomiędzy szczepem CVS a szczepami izolowanymi w Polsce, należącymi do genotypu 5 wynosi tylko 69% dla sekwencji nukleotydowej i 74% dla sekwencji aminokwasowej (10).

O stabilności wirusa wścieklizny świadczą również badania przeprowadzone na sześciu standardowych szczepach CVS pochodzących z różnych laboratoriów. Wśród sześciu badanych szczepów, pięć nie różniło się między sobą, niezależnie od pasażowania ich metodą *in vivo* i *in vitro* i były identyczne z wyjściowym szczepem CVS, przechowywanym w NIH.

Choroby odzwierzęce i pasożytnicze

Badania genetyczne sugerują ponadto że historia międzynarodowej wymiany szczepów laboratoryjnych jest inna niż wskazują na to zgromadzone o nich informacje. Szczepy PAS, PV, CVS i PM pochodzą od szczepu wyizolowanego przez Ludwika Pasteura w 1882 roku, natomiast szczepy ERA/SAD i HEP zostały wyizolowane w USA kolejno w 1935 i w 1939 roku. Dane o sekwencji tych szczepów wskazują, że szczepy PAS/PV są ściśle spokrewnione ze szczepami SAD/ERA, zaś szczep HEP, choć różni się od pozostałych, to wykazuje największe podobieństwo ze szczepami CVS/PM (3).

Pomimo dużej stabilności jaka charakteryzuje wirus wścieklizny, niezbędna jest ciągła kontrola szczepów wirusa krążących na terenie kraju, polegająca na określeniu ich genotypu i wariantów. Do tego celu można zastosować tańszą metodę amplifikacji i cięcia enzymami restrykcyjnymi (RFLP) (2, 5, 9). W przypadku stwierdzenia obecności nowego wariantu wirusa, izolowany szczep powinien być zsekwencjonowany i przebadany pod względem jego podobieństwa antygenowego ze szczepem szczepionkowym w teście ochrony czynnej i seroneutralizacji z surowicą odpornościową mono- i poliklonalną.

Piśmiennictwo

1. B. Kissi, H. Badrane, L. Audry. J. Gen. Virol., 1999, 80, 2041-2050
2. Sacramento D, Bourhy H, Tordo N. Mol Cel Prob 1991; 5: 229-40.
3. Sacramento D, Badrane H, Bourhy H i inni. J Gen Virol 1992; 73: 1149-58.
4. Smith JS, Orciari LA, Yager PA i inni. J Infect Dis 1992; 166: 296-307.
5. Bourhy H, Kissi B, Lafon M, Sacramento D i inni. J Clin Microbiol 1992; 30(9): 2419-26.
6. Kissi B, Tordo N, Bourhy H. Virology 1995; 209: 526-37.
7. Bourhy H, Kissi B, Tordo N. J Vet Res 1993; 60: 277-82.
8. Amengual B, Whitby JE, King A i inni. J Gen Virol 1997; 78: 2319-28.
9. Bourhy H, Kissi B, Audry L i inni. J Gen Virol 1999; 80: 2545-58
10. Sadowska M. Med Dośw Mikrobiol 2000
11. Clark HF, Wiktor TJ. Red. M. Majer, S.A. Plotkin, Karger, Basel 1972, 177-82.

Zimnica w materiale Kliniki Chorób Odzwierzęcych i Tropikalnych Akademii Medycznej w Warszawie

Zdzisław Dziubek, Piotr Kajfasz, Hanna Żarnowska, Wojciech Basiak
Klinika Chorób Odzwierzęcych i Tropikalnych AM w Warszawie

Według szacunków World Health Organization, umiera z powodu zimnicy około 2 milionów ludzi rocznie. Statystycznie, co 12 sekund malaria jest bezpośrednią lub pośrednią przyczyną zgonu człowieka na naszym globie. Ocenia się, że roczna liczba objawowych przypadków przekracza 500 milionów [1, 2, 3].

W Polsce, w latach 1996-1999 odnotowano 136 przypadków zimnicy [4, 5, 6]. Uważa się, że są to dane niepełne gdyż nie wszystkie zachorowania zgłoszono do stacji sanitarno-epidemiologicznych. W naszej Klinice hospitalizowano w tym okresie 48 osób (37 obywateli polskich i 11 obcokrajowców) z potwierdzoną zimnicą co stanowi 35,3% zarejestrowanych w kraju przypadków.

Wśród leczonych było 16 kobiet (33.3%) w wieku od 21 do 75 lat (średnia 35 lat) oraz 32 (66.6%) mężczyzn w wieku od 20 do 62 lat (średnia 36.8 lat). Ustalono, że przyczyną choroby

w 28 przypadkach (58%) było zarażenie *Plasmodium falciparum* a w 20 (42%) *Plasmodium vivax*. Zarażeń mieszanych nie obserwowano. Średni czas pobytu chorego w oddziale szpitalnym wynosił 10 dni. Na podstawie badania podmiotowego ustalono, że 29 osób (60%) przebywało w strefie tropikalnej w celach turystycznych a 19 (40%) – 7 kobiet i 12 mężczyzn było oddelegowanych do pracy za granicą lub przebywało w tropiku w celach służbowych bądź misyjnych. Grupę „zawodową” tworzyło 6 siostr zakonnych, dwóch misjonarzy, dwóch blacharzy, pilot, mechanik samolotowy, mechanik pokładowy, archeolog, monter konstrukcji stalowych, technik-mechanik, pilot wycieczek zagranicznych, biznesmen i żona radcy handlowego.

Wśród hospitalizowanych „turystów” 13 (44.8%!) nie przyjmowało chemioprophylaktyki przeciwzimmniczej, 5 stosowało pyrimethaminę, 2 meflokinę, 4 chlorochinę, 1 proguanil, 1 chlorochinę i proguanil, 2 przerwało profilaktykę po opuszczeniu strefy malarycznej. Dominował „import” zimnicy z krajów afrykańskich. W 7 przypadkach przyczyną zachorowania był pobyt w Kenii, w 6 pobyt w Wybrzeżu Kości Słoniowej, po 5 przypadków odnotowano po powrocie z Ghany, Gwinei Równikowej, Indii, 4 z Tanzanii, po 3 z Indonezji, Sudanu, Ugandy.

W 5 przypadkach (wyłącznie zarażenia *P. falciparum*) przebieg choroby oceniono jako ciężki. Zgonów nie było. U 4 pacjentów wystąpiła niewydolność nerek, u jednego ostra niewydolność krążeniowo-oddechowa z koniecznością intubacji i oddechu wspomaganego.

U 6 chorych (12.5%) stwierdzono parazytemię powyżej 5% (max 20%). U osób przyjmujących chemioprophylaktykę przeciwzimmniczą maksymalne wartości stopnia inwazji wyrażone w procentach przedstawiały się następująco: 2% dla meflokiny, 5% dla chlorochiny, 1% dla chlorochiny i proguanilu, 8% dla pyrimethaminy.

Istotne zaburzenia hematologiczne odnotowano łącznie u 19 (40%) pacjentów. U 7 osób z zimnicą tropikalną i u 4 z trzeciadczką liczba płytek spadła poniżej wartości $35 \times 10^9/l$. Leukopenię poniżej $2.9 \times 10^9/l$ obserwowano odpowiednio u 5 i 2 hospitalizowanych. We wszystkich przypadkach wstrzymano się od podawania preparatów pobudzających układ krwiotwórczy (np. filgrastimu czyli Neupogenu – czynnika wzrostu kolonii granulocytów) uzyskując w następnych dobach hospitalizacji naturalną, własną odpowiedź szpiku. Związana z leukopenią kandydoza błony śluzowej jamy ustnej wystąpiła u jednej osoby. Znaczną niedokrwistość wyrażającą się wartościami poniżej $2.8 \times 10^{12}/l$ dla erytrocytów i poniżej 8.0 g/l dla hemoglobiny stwierdzono u 4 osób. W tych przypadkach konieczne było przetoczenie masy erytrocytarnej.

U hospitalizowanych z powodu zimnicy osób dominowała selektywna małopłytkowość. Tyłko w 3 przypadkach zaobserwowano mieszane (trombocytopenia z leukopenią, lub trombocytopenia z anemią) zaburzenia hematologiczne. Zachowanie się płytek w przebiegu zimnicy należy oceniać nierozłącznie z obrazem klinicznym. W przypadku nieobecności klinicznych cech skazy małopłytkowej przed podaniem glikokortykoidów czy też przetoczeniem masy płytkowej należy przyjąć postawę rozsądnego wyczekiwania na odpowiedź własną szpiku.

W kilku przypadkach ciężki przebieg zimnicy tropikalnej spowodowany był późnym i bardzo późnym rozpoznaniem i rozpoczęciem leczenia. Czasami wynikało to z nietypowej symptomatologii klinicznej choroby np. maski mocznicowej, żołądkowo-jelitowej czy mózgowej, w pozostałych przypadkach, ze zbagatelizowania lub nieuwzględnienia podawanego w wywiadzie chorobowym pobytu w tropiku. W tych razach podejrzenie zimnicy wysuwano dopiero po wykluczeniu innych przyczyn stanów gorączkowych. Mimo iż od wielu lat przy okazji prowadzenia dydaktyki przed- i podyplomowej podkreślamy, że u chorego gorączkującego po pobycie w strefie tropikalnej w pierwszym rzędzie należy wykluczyć zimnicę, nadal notujemy niewłaściwe postępowania rozpoznawcze.

Piśmiennictwo

1. Krogstad D.J. Malaria (w:) Tropical Infectious Diseases (red.) Guerrant R.L., Walker D.H., Weller P.F. Churchill Livingstone 1999, Vol. 1, 736–766.
2. Taylor T.E., Strickland G.T. Malaria (w:) Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases Eighth Edition (red.) Strickland G.T. W.B. Saunders Company 2000, 614–643.

3. White N.J., Breman J.G. Malaria and other diseases caused by red blood cell parasites. (w:) Harrison's Principles of Internal Medicine. 14 th Edition, (red.) Fauci A.S., Braunwald E., Isselbacher K.J., Wilson J.D., Martin J.B., Kasper D.L., Hauser S.L., Longo D.L. Me Graw Hill Companies Inc. 1998, 1180-1188.
4. PZH. Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce. Rok 1997. Biuletyn. Warszawa 1998, 81.
5. PZH. Choroby zakaźne i zatrucia w Polsce. Rok 1998. Biuletyn. Warszawa 1999, 89.
6. PZH Meldunek roczny 1999, 6.

Nowe leki przeciwzimmnicze i zasady ich stosowania

Piotr Kajfasz

Klinika Chorób Odzwierzęcych i Tropikalnych, Akademia Medyczna w Warszawie

Z wielkim niepokojem obserwuje się narastającą lekooporność zarodźców zimnicy, zwłaszcza szczepów *Plasmodium falciparum* na stosowane preparaty przeciwmalaryczne. Odpowiedzią ze strony świata nauki na to zjawisko jest synteza nowych związków, modyfikacji „starych”, sięgnięcie do związków pochodzenia roślinnego. Zaznaczyła się tendencja do leczenia skojarzonego dwoma a nawet trzema preparatami, oraz łączenia leku przeciwzimmniczego ze związkiem potęgującym jego aktywność. Wykazano wzrost pierwotniakobójczego działania chlorochiny w obecności kalcium-blokerów – werapamilu czy diltiazemu, oraz meflokiny w obecności penfluridolu [1, 5]. Penfluridol jest neuroleptykiem z grupy difenylobutylopiperydyny stosowanym w leczeniu przewlekłych zespołów urojeniowych przebiegających z obniżeniem aktywności, zubożeniem uczuciowym, miernie nasilonymi objawami wytwórczymi [4]. Podjęto próby zastosowania preparatów wykorzystywanych w leczeniu innych, nie zawsze pierwotniakowych chorób.

Wielce obiecującym związkiem należącym do 8-aminochinolonów jest tafenokina (WR2338 605). Podobnie jak primakina działa na hipnozoity *P. vivax* i *P. ovale* a ponadto wykazuje aktywność schizontobójczą. Tafenokina może okazać się lekiem uniwersalnym stosowanym zarówno w leczeniu eradykacyjnym jak i terapii niepowikłanych zarażeń *Plasmodium falciparum*. Pojawiły się ostatnio prace o próbach zastosowania inhibitorów proteaz w leczeniu zimnicy. Obiektem ataku są proteazy *Plasmodium*, które degradują hemoglobinę do aminokwasów wykorzystywanych później do syntezy białek pasożyta [2]. Zważywszy, że inhibitory proteaz z powodzeniem znalazły zastosowanie w leczeniu antyretrowirusowym, należy sądzić że będą one równie skuteczne w terapii przeciwzimmniczej.

W toku badań klinicznych znajduje się pyronaridyna, związek zsyntetyzowany w Chinach i tam stosowany od lat 70-tych. Pyronaridyna ma działanie schizontobójcze. Dotychczas poczynione obserwacje świadczą, że jest to lek bezpieczny a zarazem skuteczny [2].

Atovaquone (Wellvone, Mepron) – silny związek pierwotniakobójczy stosowany w pneumocystowych zapaleniach płuc i toksoplazmowych zapaleniach mózgu również znalazł zastosowanie w leczeniu i profilaktyce zimnicy. Zaobserwowano, że skojarzone podawanie atovaquone i proguanilu (złożony preparat występuje pod nazwą Malarone) jest wielce korzystne i uzyskuje się wysoką skuteczność terapeutyczną [2, 4]. Zalecane dawkowanie lecznicze to 500 mg atovaquone i 200 mg proguanilu dwa razy dziennie przez 3 dni. Podobny, korzystny efekt uzyskuje się przy jednoczesnym podawaniu atovaquone i doksycykliny w dawkach odpowiednio 500 mg i 100 mg dwa razy dziennie przez 3 kolejne dni [1].

Niekwestionowaną karierę w ostatnim 10-leciu zrobiła artemizyna (qinghaosu) i jej pochodne. Pierwotny związek uzyskano ze starożytnego chińskiego zioła – *Artemisia annua* (piołun, bylica). Mechanizm działania leku nie został do końca poznany. Przyjmuje się wpływ artemizyny na żelazo hemowe zawarte w wakuolach pasożytniczych z następowym uwalnianiem wolnych rodników które hamują wzrost zarodków poprzez alkalizację białek pasożyta. Wyniki badań nad aktywnością struktur wewnątrzkomórkowych wskazują na wiązanie endoperoksydaz jako zasadniczy mechanizm aktywności przeciwpasożytniczej [1]. Obecnie, poza artemizyną, stosowane są powszechnie dwie pochodne: artemether i artesunate. Preparaty artemetheru przystosowano do podawania domięśniowego (Artemam = β -artemether amp. a 100 mg) oraz doustnego (Artemam tabl. a 50 mg). Artesunate jest do podawania dożylnego, doustnego oraz doodbytniczego w formie czopków (np. Paluther 80, Rectocaps-Plasmotrim) [2, 3]. Standardowe dawkowanie lecznicze przy nie powikłanych zarażeniach *Plasmodium sp.* przedstawia się następująco: artemether domięśniowo w dawce uderzeniowej 3.2 mg/kgcc, później 1.6 mg/kgcc raz na dobę przez 3–4 dni. W warunkach polowych, przy braku odpowiedniego sprzętu medycznego oraz przy złej tolerancji doustnych preparatów artemizyny lub jej pochodnych, leczenie doodbytnicze jest wygodną i skuteczną formą terapii. W przypadkach zarażeń szczepami *Plasmodium falciparum* o wielolekowej oporności zaleca się podawanie doodbytniczo 200 mg artesunate w następujących godzinach liczonych od pierwszej dawki: 4, 8, 12, 24, 36, 48, 60. Kuracja winna być zakończona podaniem meflokininy doustnie 750 mg w 72 godzinie i 500 mg w 84 godzinie leczenia. Powyższy schemat dotyczy dawkowania u dorosłych [1]. Prowadzone obecnie badania skoncentrowały się na uzyskaniu pochodnych o przedłużonym czasie rozkładu oraz metabolitów nie wykazujących działań niepożądanych, zwłaszcza neurotoksycznych. Zsyntetyzowane ostatnio trzy i cztery oksany wykazują in vitro większą od artemizyny aktywność pierwotniakobójczą. Kolejna pochodna – arteether jest w końcowej fazie badań klinicznych. Po podaniu artemizyny lub jej pochodnych efekt terapeutyczny uzyskuje się natychmiast, jednakże coraz częściej obserwuje się nawroty choroby w przypadku jednodawkowej terapii. Godnym uwagi związkiem jest fluorometanol zwany również benflumetolem lub lumefantrina. Wykazuje on silną aktywność schizontobójczą. Obecnie prowadzi się badania nad skojarzonym podawaniem fluorometanolu i artemetheru (Coartem, Co-artemether, CGP 56697). Z innych zestawów leków obiecującym wydają się połączenia biguanidów (proguanilu, jego aktywnej formy – cykloguanilu, analogu proguanilu znanego jako PS-15) z dapsonem lub krótko działającymi sulfonamidami [2]. Dotychczas, powszechne zastosowanie znalazły połączenia pyrimethaminy: z sulfadoksyną (Fansidar), z sulfadoksyną i meflokiną (Fansimef), z sulfalenem (Metakeflin), z dapsonem (Maloprim) [2, 4]. Pyrimethamina i sulfadoksyna były przez wiele lat najczęściej polecane do chemioprophylaktyki przeciwzimmniczej. Jednakże liczne doniesienia o działaniach niepożądanych (złuszczające zapalenie skóry, rumień wielopostaciowy, zespół Stevensa-Johnsona, agranulocytoza, zapalenie wątroby) spowodowały, że obecnie to połączenie nie jest rekomendowane [2, 3].

W przypadkach ciężkich zarażeń *Plasmodium falciparum* należy zawsze stosować leczenie skojarzone dwoma a nawet trzema preparatami przeciwzimmniczymi. Następujące zestawy leków przeciwmalarycznych są wykorzystywane i polecane: artemizyna z meflokiną, artemizyna z pyrimethaminą, artemizyna z doksycykliną, artemizyna z azitromycyną, chinina z doksycykliną, chinina z pyrimethaminą i sulfadoksyną, chinina z klindamycyną.

Piśmiennictwo

1. Krogstad D.J. Malaria (w:) Tropical Infectious Diseases (red.) Guerrant R.L., Walker D.H., Weller P.F. Churchill Livingstone 1999, Vol. 1, 736–766.
2. Taylor T.E., Strickland G.T. Malaria (w:) Hunter's Tropical Medicine and Emerging Infectious Diseases Eighth Edition (red.) Strickland G.T. W.B. Saunders Company 2000, 614–643.

Choroby odzwierzęce i pasożytnicze

3. White N.J., Breman J.G. Malaria and other diseases caused by red blood cell parasites, (w:) Harrison's Principles of Internal Medicine. 14 th Edition, (red.) Fauci A. S., Braunwald E., Isselbacher K.J., Wilson J.D., Martin J.B., Kasper D.L., Hauser S.L., Longo D.L. Me Graw Hill Companies Inc. 1998, 1185-1186.
4. Podlewski J.K., Chwalibogowska-Podlewska A. Leki Współczesnej Terapii 1999 Split Trading. Wydawnictwa Fundacji Buchnera.
5. Oduola A.M.J., Omitowoju G.O., Gerena L., et al. Reversal of mefloquine resistance with penfluridol in isolates of *Plasmodium falciparum* from southwest Nigeria. Trans R Soc Trop Med. Hyg 87: 81-83, 1993.

HEPATOLOGIA ZAKAZNA

Leczenie przewlekłych zapaleń wątroby etiologii HBV i HCV – stan obecny i perspektywy

Waldemar Halota

Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej
im. L. Rydygiera w Bydgoszczy

W ciągu lat zmieniały się strategie leczenia przewlekłych zapaleń wątroby. Większość dawnych leków została definitywnie zarzucona (kurantyl, katergen, izoprynozyna, lewamizol itd.), niektóre wcześniej stosowane wracają, jak np. TFX w postaci tymozyny. W przypadku zakażenia C stosowano amantadynę, rymantadynę, przeciwutleniacze i leki dostarczające grup sulfhydrylowych (witamina E i N-acetylocysteina). Analizowano wpływ leków przeciwzapalnych i innych (21).

Interferon-alfa od wielu lat stosowany w leczeniu przewlekłych zapaleń wątroby etiologii HBV i HCV traci na znaczeniu. Pozycja jego jest zagrożona ze względu na coraz większą liczbę nowych leków o potwierdzonym działaniu wirusostatycznym w stosunku do wirusów hepatotropowych.

Przesłanką do leczenia interferonem było wykrycie niskich stężeń tej cytokiny u osób z przewlekłymi zapaleniami wątroby, a też przy braku leków etiotropowych, atrakcyjna idea zwalczania zakażenia poprzez mobilizację naturalnych mechanizmów immunologicznych. Ponad 20-letnia kariera leku zwalnia z konieczności przedstawiania jego charakterystyki. Najogólniej mówiąc, interferon zwiększa ekspresję białek wirusowych i HLA klasy I na hepatocytach, aktywuje syntetazę oligoadenyłową oraz prowadzi do wzrostu stężenia TNF.

Problem w tym, iż wyniki leczenia interferonem przewlekłych zapaleń wątroby są mało zadowalające, niezależnie od tego, że efektywność terapii jest uwarunkowana wieloma czynnikami, między innymi dawką i okresem leczenia, wiekiem chorego i czasem trwania zakażenia, aktywnością biochemiczną choroby i stężeniem wirerii, zaawansowaniem morfologicznym, genotypem, mutacjami itd. Nieobojętne dla tych ocen były różnice przyjmowanych przez badaczy kryteriów skuteczności wyleczeń (8). Nie ma wątpliwości, że najbardziej pożądanym efektem terapii jest stały zanik wykładników replikacji wirusów, co jest warunkiem pełnego wyzdrowienia. Nie wydaje się, aby zdarzało się to częściej niż raz na 5–10 przypadków, częściej w zakażeniach HBV oraz w zakażeniach genotypem innym niż 1b HCV (9,10).

Do podobnych wniosków prowadzą obserwacje dotyczące zastosowania interferonu-alfa w przypadkach współistniejących zakażeń HDV. Działanie leku było przemijające, mimo stosowania wyższych dawek. Żeby jednak zachować bezstronność, nie można zapominać o tym, iż interferon nawet w przypadkach, w których nie dochodzi do ustępowania biochemicznych i wirusologicznych wykładników choroby wywiera korzystne działanie na morfologię wątroby. Wykazano ponadto, że przypadki, w których po okresie co najmniej 6-miesięcznego zaciśza biochemicznego w okresie interferonoterapii, dochodziło do powrotu aktywności aminotransferazy alaninowej do wartości sprzed leczenia, są zagrożone ryzykiem rozwoju raka pierwotnego wątroby w stopniu identycznym jak osoby z pełną odpowiedzialnością na leczenie (4).

Hepatologia zakaźna

Najczęściej stosowanymi kryteriami włączenia do tego leczenia jest obecność wykładników serologicznych i wirusologicznych, aktywności biochemicznej choroby oraz włóknienia w wątrobie. Nie ma wątpliwości, że ten ostatni warunek stoi w sprzeczności z tym, co napisano wcześniej o wpływie czasu zakażenia na efektywność terapii. Można przyjąć, iż im szybciej włączy się leczenie tym lepsze będą jego efekty. Pośrednim potwierdzeniem takiego poglądu jest fakt uzyskiwania dobrych wyników leczenia interferonem ostrych wirusowych zapaleń wątroby typu C - u leczonych, 4-krotnie częściej niż u nie leczonych obserwowano ustąpienie wiremii. Z drugiej strony nie sposób przewidzieć zejścia zakażenia, wskutek czego większość osób krótko zakażonych leczona byłaby niepotrzebnie.

Ograniczona skuteczność interferonu w leczeniu przewlekłych zapaleń wątroby skłania do poszukiwań innych leków. Zainteresowanie badaczy skoncentrowane jest między innymi na pochodnych nukleozydów. Należące do nich, inhibitory odwrotnej transkryptazy i proteazy, to leki powszechnie stosowane w leczeniu zakażenia HIV. W przypadku zakażenia wirusem C trwają prace nad wykorzystaniem inhibitorów proteazy serynowej NS3, helikazy i polimerazy RNA, RNA-zależnej (5,12,19,21).

Niewykluczone, iż zakażeni wirusami hepatotropowymi będą w przyszłości poddawani leczeniu wielolekowymi schematami terapeutycznymi, podobnie jak to się dzieje w HIV. Trzeba jednak pamiętać, że uzyskana w ten sposób potencjalizacja działania antywirusowego może pociągać za sobą kumulację działań niepożądanych. Do nowych nadziei terapeutycznych należą metody terapii genowej, których celem jest zablokowanie ekspresji genów dla obniżenia lub zahamowania replikacji wirusa (1,13,22).

W tej grupie terapeutyków uwagę koncentruje się na antysensownych oligodezoksynukleotydach, konstruktorach DNA, rybosymach, RNA drożdży (hamowanie translacji wewnątrz rybosomów, blokowanie miejsc wejścia) oraz aptamerach RNA (3,16,17,31,32). Dużo oczekiwań budzi - nie tylko hipotetyczna - możliwość blokowania swoistych receptorów komórkowych. W przypadku HCV trwają próby z blokowaniem receptora CD81 (25).

Nie traci na aktualności wspomniana wyżej metoda oddziaływania na wiremę poprzez stymulację naturalnych mechanizmów odpornościowych (szczepionki DNA, peptydowe i białkowe) oraz immunoterapię przystosowawczą.

W trakcie badań znajdują się propozycje terapeutyczne obejmujące inne interferony (beta, gamma, omega), interleukinę 12 czy TNF-alfa, które bądź hamują replikację wirusa bądź stymulują limfocyty T do niszczenia zakażonych komórek.

Tabela I Analogi nukleozydów o potencjalnym działaniu anty-HBV lub anty-HCV

Analogi guanozyny

Famcyklowir

Acyklowir i walacyklowir

Gancyklowir

Cyklopentylguanozyna

Lobukawir

Analogi adenozydy

VIRA-MP i VIRA-LSH

Adefowir

Fluorowane analogi uracylu

D-FMAU

D-FEAU

Analogi fosfonowane

PMEA

HPMPC

Analogi pirofosforanowe

Foskarnet

Rybawiryna (HCV)

L-nukleozydy

(-)3TC

(-)FTC

L-FddC

L-FMAU

L-Fd4C

Oczekuje się, iż coraz lepsza znajomość patomechanizmów omawianych zakażeń oraz istoty mechanizmów immunologicznych przybliży nas do bardziej skutecznych metod terapii. W pewnym uproszczeniu można przyjąć, iż zarówno korzystne zejście zakażenia, jak i wynik terapii są wypadkową między dynamiką wirerii a zdolnością „oczyszczania”. Wskazuje się, że średnia wiremia HCV w surowicy wynosi około 10^7 . Okres półtrwania wirusa HCV szacuje się na kilka godzin.

Okres półtrwania HBV w surowicy osobnika zakażonego wynosi około 24 godzin. Dzienna produkcja wynosi około 10^{11} cząstek wirusa, natomiast dzienny ładunek (load) około 2 razy 10^{11} . Okres połowicznego przeżycia hepatocytów zakażonych HBV wynosi od 10 do 100 dni. Szacuje się, że w ciągu doby ubywa ich od 1 do 7%. Na podstawie tych danych sformułowano pogląd, że nie można doprowadzić do eradykacji wirerii przed upływem rocznego leczenia. Szanse wyleczenia daje terapia trwająca od 1 do 5 lat (23,34).

Spośród leków wymienionych w tabeli wszystkie z wyjątkiem rybawiryny wykazują zdolność hamowania replikacji wirusów Hepadna. Najczęściej prowadzi się badania na wirusach HBV, WHV i DHBV. Problemem jest duża toksyczność niektórych z tej grupy leków. Z tego powodu nie znalazła się w tej tabeli fialurydyna (D-FIAU), lek który do niedawna kandydował do omawianej terapii.

Acyklowir, którego skuteczność terapeutyczna w stosunku do HBV została potwierdzona, stwarza przy podaniu dożylnym ryzyko wytrącania się w kanalikach nerkowych. Niewykluczone, że pozostanie on wyłącznie w postaci doustnej do leczenia przewlekłych zakażeń HBV o lżejszym przebiegu. Należy przyjąć, że większość analogów nukleozydów będzie stwarzać podobne problemy. Są w tej grupie jednak bardzo obiecujące leki. Należy do nich oznaczona symbolem BMS 200475 (cyklopentylganozyna) pochodna ganozyny o potencjale terapeutycznym 40-krotnie wyższym od lamiwudyny i dobrym profilem toksyczności (11). Podobne dobre opinie na temat toksyczności uzyskały adefowir, ETC, F-FddC, L-FMAU i lobukawir. Badania dotyczące łączenia interferonu z lamiwudyną lub famcyklowirem trwają, aczkolwiek dotychczas opublikowane wyniki nie są zachęcające (35).

Lekami, które są akceptowane obecnie do rutynowej terapii jest lamiwudyna i rybawiryna (2,33). Proponuje się monoterapię lamiwudyną przewlekłych zapaleń i marskości wątroby etiologii HBV. Z tego co wcześniej napisano, okres leczenia nie powinien być krótszy niż rok. Niektórzy wskazują, iż nie powinno się go przerywać przed wystąpieniem serokonwersji HBeAg/anty-HBe. Działania niepożądane tego leku w większości przypadków nie są groźne dla życia, problemem jest generowanie mutantów HBV i jest to konsekwencja stosowania zarówno lamiwudyny jak i famcyklowiru (18,20).

Niezależnie od tych rozważań, stosowanie lamiwudyny staje się standardem w leczeniu przewlekłych zapaleń wątroby typu B.

Analogi nukleozydów interferują z naturalnymi nukleozydami, zaburzając naturalny cykl budowy cząstki wirusa. Warunkiem jej powstania jest obecność pregenomowego mRNA, białek rdzeniowych oraz HBV-DNA polimerazy, która uczestniczy w procesie odwrotnej transkrypcji. Po połączeniu z płaszczem w siateczce endoplazmatycznej, dojrzała cząstka HBV opuszcza komórkę. W procesie tym dochodzić może do produkcji mutantów, które były przedmiotem licznych wcześniejszych opracowań.

Lamiwudyna (Zefix- GlaxoWellcome) wykazuje aktywność przeciwwirusową w stosunku do HBV i HIV, blokując RNA-zależną DNA polimerazę (odwrotna transkryptaza). Ten inhibitor odwrotnej transkrypcji jest enantiomerem 3'-tiacytydyny. Wbudowuje się on w miejsce naturalnego 5' trójfosforanu deoksytydyny, uniemożliwiając zakończenie syntezy łańcucha DNA.

W przypadku wirusów hepadna jego działanie przeciwwirusowe potwierdzono zarówno w doświadczeniach *in vitro* jak *in vivo*.

W badaniach klinicznych wykazano, że w przebiegu 12-miesięcznego leczenia lamiwudyną w dawce 100 mg/dziennie dochodzi do serokonwersji w układzie HBeAg/anty-HBeAg, normalizacji biochemicznej oraz regresji morfologicznej choroby – ustąpienia wykładników

zapalnych i zahamowania włóknienia. Niekiedy wspomniana serokonwersja nie występuje, co nie przesądza o nieefektywności tego leczenia. Dotyczy to również przypadków, w których w wyniku terapii doszło do powstania mutanta YMDD (zastąpienia metioniny walina lub izoleucyną w genie polimerazy DNA) (14,33).

Zaletą leku jest możliwość jego stosowania na każdym etapie zaawansowania choroby, również w okresie przygotowywania do transplantacji wątroby, a też jego skuteczność w stosunku do zmutowanych wirusów (24,30).

Okres półtrwania leku w surowicy krwi wynosi kilka godzin, natomiast wewnątrz komórki równa się on 17–19 godzin. W ciągu 24 godzin 70% leku podanego doustnie wydalą się z moczem w postaci niezmienionej, 5–10% tą samą drogą w postaci metabolitów. Biodostępność lamiwudyny oceniana się na 85–90%. Lek znajduje zastosowanie w leczeniu zarówno dorosłych jak i dzieci. Może on wykazywać interakcje z innymi lekami eliminowanymi z moczem. Lek jest dobrze tolerowany, rzadko wywołuje objawy niepożądane. Jak wspomniano wcześniej, nie wykazano, aby łączenie lamiwudyny z interferonem zwiększało efektywność terapeutyczną.

W leczeniu przewlekłych zapaleń wątroby typu C od 1999 roku rutynowo stosuje się leczenie skojarzone interferonem i rybawiryną („konsensus paryski”) (6). Zaleca on stosowanie interferonu alfa-2b 3 razy w tygodniu domięśniowo lub podskórnie w dawce 3 mU wraz z rybawiryną w dawce 1000 mg/dobę przez 6 miesięcy. Z później opublikowanych badań wynika, iż proponowany okres leczenia jest zbyt krótki w zakażeniu genotypem 1 HCV, wysokich poziomach wirerii i zaawansowanym włóknieniu w wątrobie. W tych przypadkach należy go wydłużyć do co najmniej 48 tygodni, a wczesnym kryterium skuteczności terapii winno być ustąpienie wirerii do szóstego miesiąca leczenia, a nie do trzeciego jak sugeruje „konsensus paryski” (26,27). Nie ma jednak wątpliwości, iż najlepiej rokują przypadki, w których eliminacja wirusa następuje w pierwszych dniach lub tygodniach terapii.

Rybawiryna jest syntetycznym, rozpuszczalnym N-nukleozydem, szybko penetrującym do eukariotycznych komórek, gdzie ulega fosforylacji, wskutek czego uzyskuje aktywność antywirusową. W skojarzeniu z interferonem występuje synergia i potencjalizacja działania. Biodostępność leku szacuje się na około 45–65%. Wydalana jest z moczem. Mechanizm działania nie jest znany. Rozważa się hamujący wpływ na syntezę HCV-RNA, zaburzenie translacji lub hamowanie aktywności polimerazy wirusa. Nie nasila ona działań ubocznych interferonu (28).

Przeciwwskazaniami do leczenia interferonem są psychozy (również w wywiadzie), neutropenia i małopłytkowość, przebyte transplantacje (z wyjątkiem wątroby), choroby serca i mózgu. Lek należy stosować ostrożnie w przypadkach niewyrównanej cukrzycy, chorób autoimmunologicznych, zwłaszcza tarczycy. Rybawiryna jest przeciwwskazana w krańcowej niewydolności nerek, niedokrwistości i hemoglobinopatiach oraz ciąży. Względnymi przeciwwskazaniami jest podeszły wiek i niewyrównana choroba nadciśnieniowa (6).

W zakażeniach skojarzonych HBV i HCV stosuje się schemat leczenia obowiązujący dla HCV. Wskazuje się, że terapia kombinowana (interferonem i rybawiryną) daje zachęcające wyniki u prawie połowy leczonych, co oznacza, że efektywność jej jest dwu, trzykrotnie wyższa od monoterapii interferonem (15). Lepsze wyniki uzyskuje się w przypadkach zakażenia genotypem innym niż 1, niskiej wirerii, płci żeńskiej i słabo zaznaczonego włóknienia w obrazie morfologicznym wątroby (7,29).

W konsekwencji przed kwalifikacją pacjenta do leczenia powinien być oznaczony genotyp zakażający.

Interferon alfa w monoterapii pozostał głównie dla pacjentów nie kwalifikujących się do leczenia skojarzonego ze względu na przeciwwskazania. Coraz więcej zwolenników ma tak zwana terapia pulsacyjna w zakażeniach HCV. Leczenie rozpoczyna się wysokimi dawkami interferonu (9–10 mU) podawanymi codziennie przez okres 2–4 tygodni, następnie stosuje się 3 mU 3 razy w tygodniu przez 22–24 tygodnie. Podno-

si to efektywność terapii do około 30%, przy czym przy zakażeniach genotypem 1b, nie więcej niż do 20%. Trwają próby łączenia takiego dawkowania interferonu-alfa z rybawiryną.

Dużym udogodnieniem dla pacjentów jest wprowadzany obecnie na rynek interferon o przedłużonym działaniu – Peginterferon alfa-2b (PEG-Intron), który podawany 1 raz w tygodniu stanowi duże udogodnienie dla pacjentów. Wskazuje się, że efektywność tego preparatu jest wyższa, co ma związek z lepszą farmakokinetyką leku. PEG-Intron jest połączeniem rekombinowanego interferonu alfa-2b z metoksy polietyleno glikolem. Eliminacja leku jest prawie 10-krotnie niższa, niż interferonu alfa-2b, natomiast okres półtrwania 7-krotnie wyższy. Wchłanianie i biodostępność są podobne.

Piśmiennictwo:

1. Bartenschlager R.: *Antiviral Chem Chemother* 1997; 8: 281–301.
2. Brillanti S., Garson J., Foli M. i wsp.: *Gastroenterology* 1994; 107: 812–817.
3. Das S., Ott M., Yamane A. i wsp.: *J Virol* 1998; 72: 563–567.
4. Degos F., Daurat V., Chevret S. i wsp.: *J.Hepatol.* 1998; 29: 224–232.
5. Dimasi N., Martin F., Volpari C. i wsp.: *J Virol.* 1997; 71: 7461–7469.
6. EASL International Conference on Hepatitis C. Consensus Statement. *J.Hepatol.* 1999, 30: 956–961.
7. Foster G.R., Goldin R.D., Main J. i wsp.: *BMJ* 1997, vol. 315: 453–458.
8. Hino K., Okuda M., Konishi T. i wsp.: *Dig.Dis.Sci.* 1995; 40: 14–20.
9. Iino S., Hino K., Yasuda K: *Intervirolgy* 1994; 37: 87–100.
11. Iino S.: *Intervirolgy* 1999; 42: 166–172.
12. Innaimo S.F., Seifer M., Bisacchi G.S., Standring D.N. i wsp.: *Antimicrob.Agents Chemother.* 1997; 41: 1444–1448.
13. Kakiuchi N., Komoda V., Komoda K. i wsp.: *FEBS Lett.* 1998; 421: 217–220.
14. Kumor P.K.R., Machida K., Urvil P.T.: *Virology* 1997, 237: 270–282.
15. Lai C.L., Chien R.N., Leung N.W.Y. i wsp.: *N.Engl.J.Med.* 1998, vol.339, 2: 61–68.
16. Lai M.Y., Kao J.H., Yang P.M. i wsp.: *Gastroenterol.* 1996, 111: 1307–1312.
17. Lieber A., He C.Y., Polyak S.J. i wsp. *J Virol* 1996; 70: 8782–8791.
18. Lohmann V., Korner F., Herian U. i wsp.: *J Virol* 1997; 71: 8416–8428.
19. Main J., Brown J., Howells C., Galassini R. i wsp.: *J.Viral.Hepatitis* 1996; 3: 211–215.
20. Martin F., Dimasi N., Volpari C. i wsp.: *Biochemistry* 1998; 37: 11459–11468.
21. Melegari M., Scaglioni P.P., Wands J.R.: *Hepatology* 1998; 27: 628–633.
22. Moradpour D., Blum H.E.: *Europ.J.Gastroenterol. Hepatol.* 1999, 11: 1199–1202.
23. Moradpour D., Kary P., Rice C.M. i wsp.: *Hepatology* 1998; 28: 192- 201.
24. Nowak M., Bonhoeffer S., Hill A., Boehme R. i wsp.: *Proc.Natl.Acad.Sci. USA* 1996; 93: 4398–4402.
25. Perrillo R., Rakela J., Dienstag J. i wsp.: *Hepatol.* 1999, vol. 29, 5: 1581–1586.
26. Pileri Pi., Uematsu Y., Campagnoli S.: *Science* 1998, 282: 938–941.
27. Poynard T., Mc Hutchison J.: *New Therapy Standards for Hepatitis C, Satellite Symposium on the occasion of the 34 th EASL Meeting. Neapol* 1999.
28. Poynard T.: *New Therapy Standards for Hepatitis C. Naples, Italy* 1999.
29. Schalm S., Hansen B., Chemello L. i wsp.: *J.Hepatol.* 1997, 26, 961–965.
30. Scheuer P.J.: *J.Hepatol.* 1995, 22: 112–114.
31. Tassopoulos N.C., Volpes R., Pastore G. i wsp.: *Hepatol.* 1999, vol. 29, 3: 889–896.
32. Wakita T., Moradpour D., Tokushige K. i wsp.: *J Med Virol* 1999; 57: 217–222.
33. Wakita T., Wands J.R.: *J Biol Chem* 1994; 269: 14205–14210.
34. ZeffixTM (lamivudine). *Product Monograph. GlaxoWellcome* 1999.
35. Zeuzem S. de Man R.A., Honkoop P., Roth W.K. i wsp.: *J.Hepatol.* 1997; 27: 431–436.
36. Zoulim F., Trepo C.: *Intervirolgy*, 1999; 42,2–3: 125–144.

Problemy terapii przewlekłych zapaleń wątroby u chorych dializowanych

Stanisław Czekalski, Andrzej Oko

Katedra i Klinika Nefrologii AM w Poznaniu

Chorzy na przewlekłą niewydolność nerek stanowią grupę wysokiego ryzyka zakażeń wirusami zapalenia wątroby. Podstawowymi drogami zakażenia są naruszenia ciągłości skóry lub błon śluzowych instrumentami medycznymi skażonymi wirusami typu B (HBV) i/lub C (HCV) zapalenia wątroby oraz przeniesienie zakażenia na uszkodzoną skórę przez zanieczyszczone krwią różne przedmioty. Współcześnie rzadko dochodzi do zakażenia przez przetoczenie krwi i jej produktów. Zakażenia HBV i HCV są w większości przypadków zakażeniami szpitalnymi. W Polsce przyjmuje się, że u 55–60% chorych na wirusowe zapalenie wątroby typu B można udowodnić związek z zabiegami medycznymi (1). Pacjenci z przewlekłymi chorobami nerek często wymagają wielokrotnych hospitalizacji, zwłaszcza w okresie rozwoju niewydolności nerek oraz zazwyczaj licznych interwencji zabiegowych diagnostycznych (np. gastroskopie) czy terapeutycznych (np. usuwanie ognisk zakażenia, interwencje urologiczne czy wytworzenie przetoki tętniczo-żylną jako dostępu naczyniowego do hemodializ). Ryzyko zakażenia HBV i HCV zwiększa się dodatkowo po rozpoczęciu przewlekłej hemodializoterapii. Według danych z 1981 r. oceniano ryzyko zakażenia HBV u chorych przewlekłe dializowanych jako 30-krotnie większe niż w próbie z populacji ogólnej. To wysokie ryzyko zakażenia wiązało się z wykonywanymi przeciętnie 3 razy w tygodniu zabiegami hemodializy, które wymagają każdorazowo wkłucia igieł do przetoki tętniczo-żylną, często dodatkowych manipulacji korygujących ułożenie igieł wprowadzanych do naczyń i długotrwałego ucisku miejsca wkłucia po zakończeniu zabiegu. W tych warunkach, przy trzymianowym codziennym wykorzystaniu stanowiska i aparatu dializacyjnego nawet niewielkie odstępstwa od rygorów sanitarnych przez chorych i personel stacji dializ sprzyjają zakażeniom. Upowszechnienie zasad profilaktyki zapobiegających rozprzestrzenianiu się zakażeń HBV w stacjach dializ i stosowanie szczepień ochronnych przyczyniło się do zmniejszenia procentu przewlekłe hemodializowanych chorych zakażonych tym wirusem zapalenia wątroby, ale nadal ryzyko zakażenia jest znacznie większe niż w populacji ogólnej. W 1997 r. obecność antygenu HBs (HBsAg) stwierdzano u 15% przewlekłe hemodializowanych chorych w Polsce (2) a w 1998 r. u 12,3% (3). Więcej niż połowa pacjentów wykazujących HBsAg w surowicy posiada także antygen HBe (HBeAg), co przemawia za aktywną replikacją HBV. U chorych przewlekłe hemodializowanych ostra faza zakażenia HBV przebiega często subklinicznie i w około 50% przypadków (30–70%) zakażenia HBV wywołuje przewlekłe zapalenie wątroby, gdyż chorzy tacy cechują się upośledzoną odpornością komórkową. Przewlekłe zapalenie wątroby wywołane HBV przebiega zazwyczaj skąpoobjawowo, aktywność aminotransferaz jest nieznacznie lub miernie podwyższona a postęp choroby jest powolny (4).

Aktualnie zalecane w Polsce zasady postępowania u chorych przewlekłe dializowanych w odniesieniu do ryzyka zakażeń HBV, ich rozpoznawania i leczenia obejmują kilka problemów. Podstawowe znaczenie ma profilaktyka zakażeń. Przed planowym włączeniem chorego na przewlekłą niewydolność do programu hemodializoterapii należy przeprowadzić diagnostykę w kierunku zakażenia HBV. Należy oznaczyć HBsAg i gdy jest on dodatni należy oznaczyć rutynowy zestaw markerów zakażenia HBV: HBeAg, anty-HBc i anty-HBcIgM oraz anty-HBs. Uzyskane wyniki należy odpowiednio zinterpretować (5) a chorego traktować jako zakażonego i dializować na wyodrębnionym stanowisku lub sali HBsAg+. U chorych HBsAg ujemnych należy sprawdzić czy posiadają oni

przeciwciała anty-HBs w surowicy i w jakim mianie. Osób z obecnością przeciwciał anty-HBs przy mianie powyżej 100IU/L nie należy szczepić, natomiast gdy miano to jest niższe, należy przeprowadzić szczepienie podwójną dawką szczepionki anty-HBV (40 mg) w odstępach miesięcznych, maksymalnie trzykrotnie. Przed każdą kolejną dawką należy skontrolować miano przeciwciał anty-HBs i przy mianie powyżej 100 IU/L nie podawać kolejnej dawki. Przyjmuje się, że ochronne stężenie przeciwciał anty-HBs wynosi powyżej 100 IU/L. Gdy u chorego nie stwierdza się przeciwciał anty-HBs w surowicy należy przeprowadzić szczepienie w schemacie 0–1,2,6 miesięcy dawką 40 mg szczepionki rekombinowanej domięśniowo. W miesiąc po 4-tej dawce szczepionki należy oznaczyć poziom przeciwciał anty-HBs. Przy mianie poniżej 100 IU/L należy przeprowadzić dodatkowe szczepienia jak to opisano wcześniej. Przy mianie powyżej 100 IU/L, nie należy podawać kolejnej dawki. Kontrola poziomu przeciwciał anty-HBs powinna następnie być przeprowadzana co 6 miesięcy, a w przypadku spadku miana poniżej 100 IU/L należy chorego doszczepić. Dowodem skuteczności szczepień w okresie co najmniej 3 miesięcy przed rozpoczęciem hemodializoterapii było nie stwierdzenie u żadnego pacjenta zakażenia HBV w okresie późniejszego leczenia i uzyskanie miana przeciwciał anty-HBs powyżej 100 IU/L u 73 % szczepionych (6). Natomiast w grupie chorych szczepionych tuż przed lub po rozpoczęciu przewlekłej hemodializoterapii częstość zakażenia HBV wynosiła 31% a u nie szczepionych nawet 85%.

U chorych HBsAg-seronegatywnych, leczenie hemodializami prowadzi się na wydzielonych „czystych” stanowiskach i salach dializacyjnych, wskazane jest oznaczenie u nich markerów wirusologicznych co 3 miesiące (przynajmniej HBsAg) i aktywności aminotransferaz w surowicy, które trzeba oznaczać także częściej w każdym przypadku podejrzenia zakażenia HBV. W określonych sytuacjach dużego ryzyka zakażenia HBV można choremu z ujemnymi przeciwciałami anty-HBs podać immunoglobulinę anty-HBV.

Rozpoznanie ostrego wirusowego zapalenia wątroby typu B u chorego dializowanego wymaga natychmiastowej konsultacji z kliniką lub oddziałem chorób zakaźnych i wspólnego ustalenia metod leczenia połączonego z hospitalizacją.

U chorych hemodializowanych rozpoznanie przewlekłego zapalenia wątroby typu B wymaga potwierdzenia badaniem histopatologicznym bioptatu wątroby z niezbędną oceną nasilenia zmian zapalnych i martwiczych (grading) oraz oceną zaawansowania włóknienia (staging). Przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby typu B potwierdzone badaniem histopatologicznym oraz z wykładnikami aktywnej replikacji wirusa (dodatni HBeAg, HBV DNA ewentualnie też wysoka aktywność polimerazy HBV DNA) jest wskazaniem do leczenia interferonem α u chorych przewlekłe dializowanych.

Przed zakwalifikowaniem do leczenia należy wykluczyć bezwzględnie przeciwwskazania do stosowania interferonu α (INF-alfa) takie jak: psychoza lub ciężka depresja, neutropenia (poniżej 1500) i/lub trombocytopenia (poniżej 80 000), zdekompensowana marskość wątroby, ciężka niewydolność krążeniowo-oddechowa, nie poddająca się leczeniu padaczka, alkoholizm. Względnymi przeciwwskazaniami do leczenia INF-alfa są: wiek powyżej 70 roku życia, niewyrównana cukrzyca, nefropatia cukrzycowa, choroby autoimmunologiczne, szczególnie zapalenie tarczycy.

Leczenie INF-alfa jest także przeciwwskazane u chorych ze stwierdzonymi w bioptacie wątroby niewielkimi zmianami zapalnymi bez włóknienia i z prawidłową aktywnością aminotransferazy alaninowej (ALAT) w surowicy mimo, że są oni HBsAg i HBeAg dodatni, jeżeli nie kwalifikują się do przeszczepienia nerki. Jeżeli jednak są kwalifikowani do przeszczepu – leczenie jest wskazane ze względu na potencjalny wpływ immunosupresji na przebieg zapalenia wątroby stosowanej po wykonaniu przeszczepu nerki.

W zasadzie przeciwwskazaniem do leczenia INF-alfa jest także rozpoznana histopatologicznie marskość wątroby u chorych HBsAg+ i HBeAg+ lub HBsAg+ i anty-HCV+, ale decyzje należy podejmować indywidualnie, po wnikliwej analizie ze specjalistą chorób zakaźnych, gdyż istnieją opinie uzasadniające podjęcie próby leczenia.

Wskazania do leczenia przewlekłego zapalenia wątroby typu B u chorych przewlekle hemodializowanych można, po wykluczeniu przeciwwskazań, sprecyzować w odniesieniu do sytuacji w których stwierdza się:

- HBsAg+, HBeAg+, w wątrobie przewlekle zmiany zapalne,
- HBsAg+, anty-HBe+, duża aktywność zmian zapalnych (należy u takich chorych przeprowadzić badanie anty-HDV, anty-HCV i w uzasadnionych przypadkach DNA HBV i HCV-RNA),
- HBsAg+, HBeAg+, anty-HCV i/lub HCV-RNA+ przy dużej aktywności zmian w bioptacie wątroby.

U chorych zakwalifikowanych do leczenia, rutynowo zalecana jest monoterapia INF-alfa 3–6 milionów IU (MU) 3 razy w tygodniu (po każdej hemodializie) przez 6–12 miesięcy. Celem leczenia jest uzyskanie remisji lub spowolnienie procesu zapalnego i włóknienia w wątrobie (poprawa w badaniu histopatologicznym bioptatu), normalizacja biochemicznych wykładników czynności wątroby (normalizacja aktywności ALAT), eliminacja HBeAg (serokonwersja do anty-HBe) i HBV DNA z surowicy.

Przy nieskutecznej monoterapii INF-alfa lub przy przeciwwskazaniach do jego stosowania zalecana jest lamiwudyna podawana doustnie. U chorych leczonych przewlekle hemodializami sugeruje się stosowanie lamiwudyny w dawce zredukowanej, czyli początkową 75 mg codziennie, a po uzyskaniu normalizacji aktywności ALAT 75 mg trzy razy w tygodniu (po każdej hemodializie) przez 6 miesięcy. Szanse uzyskania serokonwersji HBeAg do anty-HBe ocenia się na około 20% leczonych, ale sugeruje się lepsze wyniki przy przedłużeniu leczenia do 12 miesięcy. Odstawienie leku często powoduje jednak nawrót replikacji HBV. Rozważa się także leczenie skojarzone INF-alfa i lamiwudyną, ale brak dotychczas pełnej oceny skuteczności takiego postępowania.

W Polsce, ze względu na istniejącą sytuację ekonomiczną, w pierwszym rzędzie do leczenia INF-alfa powinni być kwalifikowani chorzy zgłoszeni jako biorcy przeszczepu nerki a dopiero w następnej kolejności wszyscy chorzy leczeni przewlekle hemodializami, po wykluczeniu przeciwwskazań do tego rodzaju terapii.

Monitorowanie leczenia zakażeń HBV polega na: badaniu aktywności aminotransferaz w surowicy co 4 tygodnie, minimum co 2 tygodnie kontroli liczby neutrofilów i trombocytów we krwi, co 2 miesiące oznaczeniu wskaźnika protrombinowego, który powinien mieścić się w zakresie normy.

Po zakończeniu leczenia należy oznaczyć HBsAg i przeciwciała anty-HBe w surowicy i powtórzyć te oznaczenia po 6 i 12 miesiącach od zakończenia leczenia. Po roku od zakończenia leczenia wskazana jest kontrolna biopsja wątroby z oceną histopatologiczną. Wyniki leczenia są zazwyczaj lepsze niż u chorych z wydolnymi nerkami.

Współcześnie, przy malejącej częstości zakażeń HBV w stacjach dializ głównym problemem stały się zakażenia HCV. Już pod koniec lat 80-tych, wkrótce po identyfikacji wirusa zapalenie wątroby typu C (HCV) stwierdzono dużą częstość występowania przeciwciał anty-HCV u chorych przewlekle dializowanych (7). Wykazano także obecność przeciwciał anty-HCV u 18,5% chorych na przewlekłą niewydolność nerek przed jej schyłkowym stadium (8). Wieloośrodkowe badania przeprowadzone w Hiszpanii i opublikowane w 1995 roku dostarczyły dowodów, że częstość występowania przeciwciał anty-HCV wynosiła 34,8% u chorych leczonych szpitalnymi hemodializami, 25,4% u chorych hemodializowanych w ośrodkach satelitarnych, 10,2% u chorych leczonych metodą ciągłej ambulatoryjnej dializy otrzewnowej (CADO) i 6,8% u chorych hemodializowanych w domu. (9). Ostatnio udowodniono przekonywująco, w oparciu o analizę molekularną i epidemiologiczną, że najbardziej prawdopodobnym wytłumaczeniem rozprzestrzeniania się zakażenia HCV w ośrodkach hemodializacyjnych jest wewnątrzszpitalne przekazywanie wirusa od pacjenta do pacjenta (10). Współcześnie, w różnych krajach częstość zakażenia HCV w ośrodkach hemodializacyjnych oceniana na podstawie obecności przeciwciał anty-HCV waha się w granicach 8–50%. W Pol-

sce w 1997r. obecność przeciwciał anti-HCV stwierdzano u 36% dializowanych, a ich pojawienie się po raz pierwszy w tym samym roku u 4% dializowanych (2). W następnych latach odsetek chorych anti-HCV dodatnich w Polsce zmniejszył się nieznacznie. Pod koniec 1998 r. odsetek ten wynosił prawie 33 (3). Większość chorych posiadających przeciwciała anti-HCV wykazuje obecność HCV RNA w surowicy, co świadczy o aktywnej replikacji wirusa, a ponadto obecność HCV RNA można stwierdzić u około 2–12% chorych nie wykazujących przeciwciał anti-HCV, co uzasadnia zalecenie oznaczania HCV RNA przynajmniej raz w roku u wszystkich dializowanych chorych.

Profilaktyka zakażeń HCV w stacjach hemodializ polega na ścisłym przestrzeganiu zasad sanitarno-epidemiologicznych, gdyż nie istnieje możliwość uodpornienia biernego lub czynnego przeciwko zakażeniu HCV. Zasadą powinno być oznaczenie przeciwciał anti-HCV testami III generacji u każdego chorego przed włączeniem do leczenia hemodializami, traktowane jako badanie przesiewowe a bezpośrednio przed rozpoczęciem hemodializoterapii wykonanie badania HCV RNA w surowicy. Chorzy z obecnością przeciwciał anti HCV i/lub obecnością HCV-RNA w surowicy powinni być, w aktualnej sytuacji epidemiologicznej w Polsce, hemodializowani na wydzielonych stanowiskach i przy użyciu wydzielonych aparatów dializacyjnych, a w razie możliwości na wydzielonych salach dializacyjnych. W krajach, w których częstość zakażeń HCV jest mała zalecenia podobne nie są uznawane za konieczne, pod warunkiem ścisłych rygorów sanitarno-epidemiologicznych. Natomiast w Polsce również pacjenci o nieokreślonym profilu antygenowym wobec wirusów zapalenia wątroby typu C, podobnie jak typu B, powinni być dializowani na wydzielonym stanowisku lub sali. Po każdej takiej dializie obowiązuje 3-krotna chemiczna i termiczna dezynfekcja aparatu oraz jednokrotna stanowiska.

U chorych nie zakażonych HCV w każdym przypadku podejrzenia zakażenia należy wykonać badanie na obecność antygenu HBs oraz przeciwciał anti-HCV testami III generacji, po uwzględnieniu okresu wylegania. W każdym uzasadnionym przypadku i co 3 miesiące należy wykonać oznaczenie aktywności aminotransferaz w surowicy oraz przeprowadzić badanie kontrolne na obecność przeciwciał anti-HCV testami III generacji (badanie przesiewowe) równoległe z badaniami na obecność HBsAg. Przynajmniej raz na rok, nawet przy braku przeciwciał anti-HCV należy wykonać badanie HCV RNA w surowicy.

Przebieg wirusowego zapalenia wątroby wywołany HCV jest skąpoobjawowy z nieznacznie lub miernie podwyższoną aktywnością aminotransferazy alaninowej (ALAT) z na ogół niskim poziomem wiremii i przedłużonym, czasem nawet do roku pojawieniem się przeciwciał anti-HCV w surowicy. Przewlekłe zapalenie rozwija się jednak u większości chorych i musi być potwierdzone badaniem histopatologicznym biopsjaty wątroby ze szczególną oceną nasilenie zmian zapalnych i włóknienia.

Potwierdzone badaniem histopatologicznym przewlekłe zapalenie wątroby typu C z aktywną replikacją wirusa udokumentowaną dodatnim wynikiem badania HCV-RNA w surowicy jest wskazaniem do leczenia INF-alfa, po wykluczeniu opisanych wcześniej bezwzględnych przeciwwskazań do tego rodzaju terapii i analizie indywidualnej przeciwwskazań względnych.

Wskazania do leczenia INF-alfa obejmują chorych dializowanych wykazujących:

obecność w surowicy przeciwciał anti-HCV i HCV RNA a w biopsji wątroby zmiany zapalne i włóknienie (po wykluczeniu choroby autoimmunologicznej),

obecność w surowicy przeciwciał anti-HCV i HCV RNA oraz prawidłową aktywność ALAT a w biopsji wątroby niewielkie zmiany zapalne bez włóknienia, jeżeli chorzy są zakwalifikowani do przeszczepu nerki.

Jeżeli natomiast chory z podobnym obrazem nie kwalifikuje się do przeszczepienia nerki to leczenie INF-alfa jest przeciwwskazane, podobnie jak w przypadkach marskości wątroby i gdy w biopsji wątroby stwierdza się zaawansowane zmiany zapalne a w surowicy obecność przeciwciał anti-HCV przy braku HCV-RNA i HBsAg, co sugeruje np. chorobę wątroby o podłożu autoimmunologicznym.

W obecnej sytuacji w Polsce w pierwszym rzędzie do leczenia INF-alfa powinni być kwalifikowani chorzy zgłoszeni jako biorcy przeszczepu nerki, a w następnej kolejności wszyscy chorzy leczeni nerkozastępczo. Zarysowuje się nadzieja, że chorzy hemodializowani kwalifikujący się do leczenia INF-alfa nie będą dyskryminowani w dostępie do terapii jak to miało miejsce dotychczas. Leczenie bowiem tej grupy chorych zostało zalecone podczas International Consensus Conference on Hepatitis C, w Paryżu w 1999 r.

W leczeniu rutynowo zalecana jest monoterapia INF-alfa stosowana w dawce 3–6 milionów IU (MU) 3 razy w tygodniu po każdej hemodializie przez 6 miesięcy. W przypadku normalizacji aktywności aminotransferaz w surowicy i eliminacji HCV RNA po 6 miesiącach leczenia, terapia powinna być przedłużona co najmniej do 12 miesięcy.

Monitorowanie leczenia INF-alfa przewlekłego zapalenia wątroby wywołanego HCV jest analogiczne jak opisane przy leczeniu zapalenia wywołanego HCV a jedyną różnicą jest oznaczenie HCV RNA w surowicy po 6 i 12 miesiącach leczenia i wskazanie do kontrolnego badania bioptycznego wątroby po 1 roku od zakończenia leczenia.

Celem leczenia jest uzyskanie remisji lub spowolnienie procesu zapalnego i włóknienia udokumentowane w badaniu histopatologicznym bioptatu wątroby, normalizacja biochemicznych wskaźników czynności wątroby, eliminacja HCV RNA z surowicy. Ponadto cele leczenia obejmują zmniejszenie zakaźności HCV i możliwości szerzenia się zakażenia w stacji dializ oraz zmniejszenie ryzyka rozwoju pierwotnego raka wątroby.

Rybawiryna jest przeciwwskazana u chorych hemodializowanych ze względu na wysokie ryzyko wywołania hemolizy, ale uzasadnione są podejmowania dobrze kontrolowanych prób klinicznych leczenia skojarzonego INF-alfa i rybawiryną w ośrodkach akademickich, aby uzyskać pewniejsze dowody kliniczne.

Ważnym uzasadnieniem dla celowości leczenia INF-alfa hemodializowanych chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby typu C jest wysoka (wyższa niż u chorych z prawidłową czynnością nerek) skuteczność leczenia ze względu na niski zazwyczaj poziom wirerii i zwiększoną aktywność terapeutyczną INF-alfa związaną z dodatkowym aktywowaniem przez błony dializacyjne, wolniejszej o 50% inaktywacji w porównaniu z osobami wykazującymi prawidłową czynność nerek (11). U hemodializowanych chorych szansa eliminacji HCV RNA wywołana leczeniem INF-alfa sięga 70% (12), co jest znacznie lepszym efektem leczenia niż uzyskiwanej u chorych z prawidłową czynnością nerek.

Uzasadnieniem dla leczenia w pierwszym rzędzie hemodializowanych chorych kwalifikowanych do przeszczepu nerki jest zwiększone ryzyko nasilenia replikacji zarówno HBV jak i HCV w czasie leczenia immunosupresyjnego po transplantacji co prowadzi do postępu zmian zapalnych a zwłaszcza włóknienia w wątrobie i marskości.

Niektóre dane wskazują na występowanie przewlekłego zapalenia wątroby typu B u 39% chorych z przeszczepioną nerką w drugim dziesięcioleciu po przeprowadzonym zabiegu i na śmiertelność u zakażonych HBV chorych sięgającą 54% po 10 latach (13). Inni autorzy spostrzegli u chorych zakażonych HBV nasilenie zmian histopatologicznych w wątrobie w 85% po 5 latach po przeszczepie, u 50% chorych utrzymującą się replikację HBV oraz występowanie marskości wątroby u 28% chorych, która była główną przyczyną zgonów (14). Na ogół uważa się jednak, że zakażenie HBV nie skraca czasu przeżycia przeszczepionej nerki, a część badaczy nie potwierdziła skrócenia przeżycia chorych zakażonych (15).

Chorzy zakażeni HCV, którzy otrzymali przeszczep nerki nie wykazywali różnic w przeżyciu 5-letnim w porównaniu do osób niezakażonych, natomiast 10-letnie przeżycie chorych zakażonych było gorsze z powodu zgonów spowodowanych przyczynami sercowo-naczyniowymi lub niewydolnością wątroby i posocznicy (16,17).

Podsumowując należy podkreślić, że przewlekle dializowani chorzy z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B i C powinni być leczeni interferonem-alfa o ile nie ma przeciwwskazań. Dotyczy to zwłaszcza chorych kwalifikujących się do przeszczepienia nerki, aby zapobiegać nasileniu zmian w wątrobie i innym powikłaniom po transplantacji. Należy jednak podkreślić, że chorzy zakażeni HBV i HCV bez biochemicznych objawów upośledzenia

Odległe wyniki leczenia przewlekłych wirusowych zapaleń wątroby typu B interferonem alfa

czynności wątroby nie powinni być dyskwalifikowani do zabiegu przeszczepienia nerki.

Wymagają oni jednak odpowiedniego dodatkowego leczenia po transplantacji.

Zalecenia postępowania profilaktycznego i leczniczego w zakażeniach wirusami zapalenia wątroby typu B i C u pacjentów z przewlekłymi chorobami nerek zostały opublikowane ostatnio w polskim piśmiennictwie (18).

Piśmiennictwo

1. Magdzik W.: *Hepatologia Polska* 1997, 4, Supl. 1, 5.
2. Puka J., Rutkowski B., Lichodziejewska-Niemirko M. i wsp.: Raport o stanie leczenia nerkozastępczego w Polsce - 1997, Gdańska 1998.
3. Puka J., Rutkowski B., Ślizień T. i wsp.: Raport o stanie leczenia nerkozastępczego w Polsce - 1998, Gdańska 1999.
4. Martin P., Frideman L., *Kidney Int.*, 1995, 47, 1231.
5. Juszczak J.: *Wydawnictwo Lekarskie PZWL*, Warszawa, 1999
6. Ślizień W., Biedunkiewicz B., Michalik D. i wsp.: *Hepatologia Polska* 1997, 4, 221.
7. Esteban J., Esteban R., Viladomiu L. et al.: *Lancet* 1989, 2, 294.
8. Garcia-Valdecasas J., Bernal M.C., Garcia F. et al.: *Nephrol. Dial. Transpl.* 1993, 8, 967.
9. Spanish Multicentre Study Group, coordinators: Barvil G., Traver J.A., *Nephrol. Dial. Transplant.* 1995, 10, Suppl. 6, 78.
10. Katsoulidou A., Paraskevis D., Kalapothaki V. et al.: *Nephrol. Dial. Transplant.* 1999, 14, 1188.
11. Isopet J., Rostaing L., Moussin F. et al.: *J. Inf. Dis.* 1997, 176, 1614.
12. Pol S., Thiers V., Carnot F. et al.: *Nephrol. Dial. Transplant.* 1996, 11, 58.
13. Rao K, Kasiske B., Anderson W.: *Transplantation* 1991, 51, 391.
14. Fornairon S., Pol S., Legendre C. Et al.: *Transplantation* 1996, 62, 297.
15. Pol S., Debure F., Degott C. et al.: *Lancet* 1990, 335, 878.
16. Gentil M., Rocha J., Rodriguez-Algarra G. et al.: *Nephrol. Dial. Transplant.* 1999, 14, 2455.
17. Legende C., Garrigue V., Bihan C. Et al.: *Transplantation* 1998, 65, 667.
18. Czekalski S., Cianciara J., Gładysz A. i wsp. *Nefrologia i Dializoterapia Polska* 1999, 3, 261

Odległe wyniki leczenia przewlekłych wirusowych zapaleń wątroby typu B interferonem alfa u dorosłych -doświadczenia polskie

Janusz Cianciara

Klinika Hepatologii i Nabytych Niedoborów Immunologicznych A.M. w Warszawie

Niniejsze opracowanie jest podsumowaniem wielośrodkowych badań dotyczących odległych wyników terapii przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B (pzw-B) preparatami IFN alfa. Dane pochodzą z następujących ośrodków hepatologicznych w Polsce*:

Nazwiska wszystkich osób, które brały udział w zebraniu danych, będą podane w publikacji w czasopiśmie medycznym

Hepatologia zakaźna

Klinika Hepatologii i Nabytych Niedoborów Immunologicznych A.M. w Warszawie
kierownik: prof. dr hab. Janusz Cianciara
Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych P.A.M. w Szczecinie
kierownik: prof. dr hab. Anna Boroń-Kaczmarek
Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych AM we Wrocławiu,
kierownik: prof. dr hab. Andrzej Gładysz
Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych A.M. w Bydgoszczy,
kierownik: prof. dr hab. Waldemar Halota
Klinika Chorób Zakaźnych A.M. w Poznaniu,
kierownik: prof. dr hab. Jacek Juszczyk
Klinika Chorób Zakaźnych A.M. w Gdańsku,
p.o. kierownika: dr med. Anna Trocha

Leczenie pzw-B preparatami IFN alfa w Polsce rozpoczęto w latach 1989 – 1990. Początkowo był to IFN limfoblastoidalny (Wellferon), a następnie preparaty rekombinowanego IFN alfa (Intron A i Roferon). Odległe wyniki leczenia preparatami IFN alfa, w oparciu o dane uzyskane z 6 ośrodków hepatologicznych w Polsce, są przedmiotem niniejszej analizy. Badaniami objęto 142 chorych z pzw-B (HBsAg+, HBeAg+), 47 kobiet i 95 mężczyzn w wieku 18 – 67 lat, średnia wieku 44 lata. Byli oni leczeni w latach 1989 – 1995 i następnie obserwowani przez kolejne 5 – 9 lat. Preparaty interferonu naturalnego stosowano w dawkach 10 Mj.m., trzy razy w tygodniu, przez 16 tygodni. U większości chorych dawki te były zmniejszane ze względu na objawy uboczne i niepożądane. Preparaty interferonu rekombinowanego podawano w latach 1990 – 1992 w dawkach 3 Mj.m. (Intron A) i 3 – 4,5 Mj.m. (Roferon – A), zwiększając dawkę w latach następnych odpowiednio do 5 i 6 Mj.m. Pełna terapia trwała 16 tygodni.

W latach 1989 – 1995 w ocenie zmian histopatologicznych w wątrobie stosowano stare nazewnictwo i takie będzie używane w niniejszym opracowaniu. Liczby chorych z przewlekłym zakażeniem HBV i różnymi rozpoznaniem w badaniach morfologicznych wątroby przed leczeniem przedstawiały się następująco:

przewlekłe przetrwałe zapalenie wątroby – 48 (34%)
przewlekłe aktywne zapalenie wątroby – 74 (52%)
przewlekłe zapalenie wątroby
z zaawansowanym włóknieniem – 15 (10%)
marskość aktywna wątroby – 5 (4%)

Za dobrą odpowiedź na leczenie IFN uznawano serokonwersję do anty-HBe i normalizację aktywności aminotransferaz. Taką reakcją na leczenie obserwowano u 59 chorych (41%). W 5 przypadkach (8,5%) obserwowano również serokonwersję do anty-HBs. Częściej dobrą odpowiedź obserwowano u chorych, u których w biopsji wyjściowej stwierdzono przewlekłe aktywne zapalenie niż przewlekłe przetrwałe zapalenie wątroby. Biopsje wątroby wykonano w okresie roku po leczeniu u 36 chorych (61%). W 29 przypadkach obserwowano w obrazie histopatologicznym różnego stopnia remisję zmian zapalno – martwiczych. Dostępne wyniki badań nie pozwoliły w większości przypadków na ocenę włóknienia przed i po leczeniu. U żadnego chorego nie stwierdzono prawidłowego obrazu histopatologicznego wątroby. W 7 przypadkach wynik biopsji wątroby nie różnił się w sposób istotny od badania histopatologicznego sprzed terapii.

Za brak reakcji na leczenie IFN alfa uznano nie wystąpienie serokonwersji do anty-HBe i utrzymywanie się nieprawidłowej aktywności aminotransferaz po terapii. Taką reakcją stwierdzono u 83 chorych (59%). Biopsji wątroby w okresie roku po leczeniu u tych chorych nie wykonywano.

Wszystkich chorych obserwowano przez 5 – 9 lat, średnio 6 lat i po tym okresie podsumowano odległe wyniki terapii IFN alfa.

U 47 chorych (79,5%) po skutecznej terapii pzw-B preparatami IFN alfa, przez średnio 6 lat, utrzymuje się remisja choroby. Jest ona potwierdzona badaniami klinicznymi i biochemicznymi oraz u 17 osób wynikiem badania morfologicznego wątroby. W żadnym z przypadków pzw-B (HBsAg+, anti-HBe+) nie stwierdzono prawidłowego obrazu morfologicznego wątroby. Najczęściej stwierdzano obrazy histopatologiczne minimalnego i przewlekłego przetrwałego zapalenia wątroby. (hepatitis chronica minima i hepatitis chronica suavis wg nowego nazewnictwa). W części przypadków jednoznaczne potwierdzenie remisji choroby nie było możliwe z powodu nie wykonania kontrolnych biopsji wątroby. W okresie obserwacji u 6 chorych z tej grupy stwierdzono eliminację HBsAg i serokonwersję do anti-HBs.

U 12 chorych (20,5%) pomimo serokonwersji do anti-HBe i remisji po leczeniu, w kolejnych latach obserwowano progresję choroby. W 5 przypadkach (8,5%) dotyczyło to osób u których stwierdzono reserokonwersję do HBeAg. Zjawisko to występowało zwykle w okresie roku od zakończenia leczenia IFN alfa. We wszystkich przypadkach podjęto dalsze próby leczenia – w 3 przypadkach reterapią IFN i u 2 chorych lamiwudyną. U dwóch z tych chorych po 5 – 6 latach obserwacji rozpoznano marskość wątroby.

U 7 dalszych chorych (12%) po serokonwersji do anti-HBe za postęp choroby była prawdopodobnie odpowiedzialna replikacja mutanta „e – minus” HBV. W 5 przypadkach zjawisko to obserwowano u chorych z podwyższoną nieznacznie aktywnością aminotransferaz. W jednym przypadku po 7 latach rozpoznano marskość wątroby. U osób z pzw-B (HBsAg+, anti-HBe+, HBV DNA+), u których wyniki badań biochemicznych i histopatologicznych wskazują na aktywny proces zapalny, a badanie HBV DNA testem PCR potwierdza replikację tego wirusa, wskazane jest podjęcie prób leczenia przeciwwirusowego. Do niedawna w Polsce nie podejmowano leczenia w przypadkach pzw-B (HBsAg+, anti-HBe+, HBV DNA+). Jest to zatem nowy problem diagnostyczny i terapeutyczny.

Zaostrzenie choroby u osób, które dobrze odpowiedziały na leczenie IFN, może być również związane z nadkażeniem HAV, HCV i HDV. Badania w kierunku superinfekcji HAV nie są zwykle w takich sytuacjach wykonywane. W 2 przypadkach w czasie obserwacji stwierdzono nadkażenie HCV. Badania w kierunku zakażenia HDV wykonano w około połowie analizowanych przypadków i w żadnym nie stwierdzono współistnienia zakażenia tym wirusem.

U 50 chorych (60%), którzy nie odpowiedzieli na leczenie IFN, stwierdzono w czasie kilkuletniej obserwacji progresję choroby. Potwierdziły ją wyniki kompleksowych badań klinicznych i w 23 przypadkach zmiany w badaniach morfologicznych wątroby. W 12 przypadkach rozpoznano marskość wątroby – u 8 chorych w oparciu o obraz kliniczny (m.in. żylaki przełyku) i u 4 na podstawie zmian w obrazie histopatologicznym wątroby. Pięciu chorych z marskością wątroby zmarło (3 chorych z powodu krwotoku do przewodu pokarmowego i 2 w wyniku niewydolności wątroby). W dwóch przypadkach rozpoznano pierwotnego raka wątroby, w obu stwierdzono marskość wątroby jeszcze przed leczeniem IFN alfa.

U dalszych 21 chorych (25%) z tej grupy nie stwierdzono objawów klinicznych i biochemicznych progresji choroby. W 16 przypadkach (76 %) dotyczyło to chorych u których przed leczeniem rozpoznawano zmiany opisywane jako przewlekłe przetrwałe zapalenie wątroby. W 7 przypadkach wykonano biopsję wątroby i we wszystkich zmiany morfologiczne były podobne do opisanych w badaniu przed leczeniem. Brak wyników badań histopatologicznych wątroby aż u 14 chorych nie pozwala na pewną ocenę aktywności zapalenia i postępu choroby (zaawansowania stopnia włóknienia).

U 12 chorych (14,5%), którzy nie odpowiedzieli na leczenie IFN alfa, w kolejnych latach stwierdzono serokonwersję do anti-HBe. W 8 przypadkach była ona samoistna,

Hepatologia zakaźna

natomiast u 4 chorych wystąpiła po kolejnej próbie leczenia. W jednym z tych przypadków obserwowano również serokonwersję do anty-HBs.

Tabela Odległe skutki leczenia IFN alfa chorych z pzw-B i marskością wątroby oceniane średnio po 6 latach od zakończenia terapii

Ocena po 6 latach	chorzy z dobrą odpowiedzią (n = 59)	chorzy bez odpowiedzi (n = 83)
remisja bez progresji	47 (79,5%)	12 (14,5%)*
progresja	–	21 (25,5%)
progresja w tym:	12 (20,5%)*	50 (60%)*
marskość	3	12
hepatoma	–	2
zgon	1	5

* w części tych przypadków podejmowano kolejne próby leczenia

Interesujące są wyniki odległych badań, które przeprowadzono u chorych z zaawansowanym włóknieniem wątroby i marskością leczonych IFN alfa. Dotyczyły one 15 chorych z przewlekłym zapaleniem wątroby i zaawansowanym włóknieniem (3 stopień włóknienia wg aktualnie stosowanej skali Knodella) oraz 5 osób z marskością wyrównaną wątroby. We wszystkich tych przypadkach stosowano dawki IFN alfa 3 Mj.m., trzy razy w tygodniu, zwykle przez okres krótszy niż 16 tygodni. U 7 chorych (35%), w tym u 2 z marskością wątroby, nie stwierdzono progresji w okresie 5 – 6 lat obserwacji po leczeniu IFN. W 5 przypadkach dotyczyło to chorych u których po terapii obserwowano serokonwersję do anty-HBe i normalizację aktywności aminotransferaz. Wszyscy ci chorzy przeżyli 5 – 6 letni okres obserwacji. W pozostałych 13 przypadkach, w których nie stwierdzono serokonwersji do anty-HBe, odległe wyniki badań wykazały progresję choroby u 11 chorych. U 8 chorych z pzw i objawami zaawansowanego włóknienia stwierdzono kliniczne objawy marskości wątroby. Dwóch z tych chorych zmarło. Trzech chorych z marskością wyrównaną wątroby nie odpowiedziało na leczenie IFN alfa. W okresie obserwacji dwóch z nich zmarło, a u jednego stwierdza się objawy niewydolności wątroby. Przedstawione wyniki sugerują dłuższy czas przeżycia u chorych z zaawansowanym włóknieniem, którzy odpowiedzieli na leczenie IFN alfa, ale zbyt mała grupa chorych nie pozwala na wyciąganie ostatecznych wniosków

Ponowną terapię zastosowano u 23 chorych (37%) z pzw-B, którzy nie odpowiedzeli trwałą poprawą na leczenie IFN alfa. W 8 przypadkach (35%) obserwowano serokonwersję do anty-HBe i normalizację lub poprawę aktywności aminotransferaz. Stwierdzona poprawa utrzymywała się w tych przypadkach do końca 6 letniego okresu obserwacji.

Stosowano następujące metody leczenia:

reterapia IFN	8 chorych	(poprawa u 2)
glikokortykosteroidy przed IFN	2 chorych	(bez poprawy)
lamiwudyna	8 chorych	(poprawa u 5)
famciklowir	4 chorych	(poprawa u 1)
terapia szczyponkowa	u 1 chorego	(brak wyniku)

Ponowna terapia u chorych z pzw-B nie była stosowana aż u 39 osób (63%) z progresją choroby. Częściowo było to związane z brakiem metod alternatywnych dla IFN

Odległe wyniki leczenia przewlekłych wirusowych zapaleń wątroby typu B interferonem alfa

alfa. W ostatnich kilku latach w takich przypadkach podejmowane są, często z powodzeniem, próby leczenia analogami nukleozydowymi, najczęściej lamiwudyną.

Biopsje kontrolne wątroby wykonano do roku po leczeniu u 61% chorych z pzw-B. Aktualnie wykonywanie biopsji kontrolnych tuż po leczeniu IFN alfa nie jest zalecane. Znacznie większą wartość mają badania histopatologiczne biopsyjnych wycinków wątroby, które są wykonywane po kilku latach od zakończenia terapii. Powinny być one wykonywane przede wszystkim u chorych, u których utrzymuje się podwyższona aktywność aminotransferaz, niezależnie od serokonwersji do anty-HBe.

W analizowanej grupie chorych z pzw-B kontrolne biopsje wątroby po 2 - 5 latach od zakończenia terapii wykonano u 32% chorych. Brak wyników badań histopatologicznych wątroby w większości przypadków utrudnia właściwą ocenę skuteczności leczenia i progresji choroby (włóknienia) oraz podejmowania kolejnych prób leczenia.

Podsumowanie

1. U większości chorych z pzw-B (79,5 %), którzy odpowiedzieli na terapię IFN serokonwersją do anty-HBe i normalizacją aminotransferaz, utrzymuje się długotrwała 5-6 letnia remisja.
2. Część chorych zakażonych HBV (około 30%) z zaawansowanym włóknieniem i marskością wątroby odpowiedziała na terapię IFN alfa kilkuletnią remisją i prawdopodobnie spowolnieniem progresji choroby.
3. Pomimo serokonwersji do anty-HBe i remisji choroby tuż po leczeniu w 12 przypadkach (20,5%), w następnych kilku latach obserwowano progresję, która była związana z:
 - reaktywacją replikacji wirusa „dzikiego” w 5 przypadkach
 - replikacją mutantu „e - minus” u 7 chorych
1. Konieczna jest wieloletnia prospektywna obserwacja chorych z pzw-B (anty- -HBe + , HBV DNA+) niezależnie od tego czy serokonwersja do anty-HBe wystąpiła po leczeniu IFN alfa, czy samoistnie. Możliwość progresji choroby u tych chorych, przede wszystkim u osób z podwyższoną aktywnością A1AT, wskazuje na celowość wykonywania biopsji kontrolnych wątroby - zwykle kilka lat po serokonwersji do anty-HBe. Wskazane jest wykonywanie w tych przypadkach badań w kierunku nadkażenia HAV, HDV i przede wszystkim HCV.
2. W zależności od przyczyny progresji choroby u osób z pzw-B (anty-HBe + , HBV DNA +) należy podejmować różne próby leczenia.
3. U większości chorych z pzw-B (60 %), którzy nie odpowiedzieli na terapię IFN alfa obserwowano progresję choroby. Konieczne jest podejmowanie dalszych prób leczenia tych chorych. W analizowanym materiale podjęto je tylko w 37% przypadków - najczęściej stosowano analog nukleozydowy lamiwudynę, rzadziej terapię IFN alfa.
4. U 8 chorych (9,5%) bez dobrej reakcji na leczenie IFN obserwowano samoistną serokonwersję do anty-HBe, zwykle 2-3 lata po zakończeniu leczenia. W 3 przypadkach nie towarzyszyła temu normalizacja aminotransferaz.
5. Informacje zawarte w niniejszym opracowaniu dotyczą 142 chorych przewlekle zakażonych HBV o których dane uzyskano z nadesłanych ankiet. Liczba chorych z pzw-B leczonych preparatami IFN alfa w analizowanym okresie była na pewno znacznie większa. Można jednak sądzić, że uzyskane wyniki są reprezentatywne dla większej populacji chorych z pzw-B leczonych IFN alfa w Polsce.

Efektywność leczenia przeciwwirusowego przewlekłego zapalenia wątroby typu C (wieloośrodkowe badania polskie)

Opracowanie: J. Juszczyk, B. Bolewska, J. Flieger, K. Świętek
(Klinika Chorób Zakaźnych Instytutu Mikrobiologii i Chorób Zakaźnych Akademii Medycznej im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu).

W badaniach uczestniczyli:

Bytom: Adamek B., Biskupska-Karasińska M.;

Gdańsk: Witczak-Malinowska K., Trocha H.;

Kielce: Kryczka W.; **Lublin:** Daniluk J., Słomka M.;

Łódź: Zarębska-Michaluk D., Kuydowicz J., Niwicka-Michałowska A.;

Poznań: Bolewska B., Flieger J., Juszczyk J., Świętek K.;

Sosnowiec: Gonciarz Z., Machniak M.;

Szczecin: Boroń-Kaczmarek A., Wawrzynowicz-Syczewska M.;

Warszawa (1): Cianciara J., Kozłowska J.;

Warszawa (2): Dudziak M., Zaborowski P.;

Wrocław: Gładysz A., Piszko P.

W ciągu ostatnich lat w leczeniu przewlekłych wirusowych zapaleń wątroby standardowo stosowano interferon-alfa (IFN) przez minimalny okres pół roku (najczęściej trzy razy w tygodniu) i na ogół w dawkach od 3-6 MU (mega units, milionów jednostek). Schematy te były w różny sposób modyfikowane w celu ustalenia optymalnej dawki i czasu trwania terapii. Ten typ leczenia prowadzono także w naszym kraju. Kilka kontrolowanych badań klinicznych wykazało jednak, iż o wiele lepsze wyniki w odpowiedzi na leczenie przeciwwirusowe uzyskuje się po zastosowaniu leczenia kombinowanego: IFN z Ribawiryną. Obecnie, zgodnie z międzynarodowym porozumieniem, przyjętym także w Polsce, optymalne leczenie to stosowanie 3,0 MU IFN trzy razy w tygodniu łącznie z Ribawiryną podawaną codziennie w dawce 1000-1200 mg (w zależności od masy ciała). Poniżej przedstawiamy wyniki terapii IFN przy zastosowaniu różnych schematów terapeutycznych, jak również Ribawiryną na podstawie kilkuletnich doświadczeń rodzimych. Jest to pierwsze takie studium przeprowadzone w naszych warunkach u osób dorosłych. Szczegółowo zostanie ono przedstawione w formie odrębnych artykułów.

Ocenie poddano następujące schematy terapeutyczne u osób dorosłych (stosowano „In- tron-A oraz Ribavirin produkcji Firmy Schering)

Grupa A. IFN w dawce 3 mU 3 razy w tygodniu przez 6 mies. [216 MU/kurację] u 115 osób

Grupa B. IFN w dawce 5 mU 3 razy w tygodniu przez 6 mies. [360 MU/kurację] u 235 osób

Grupa C. IFN w dawce 5 mU 3 razy w tygodniu przez 6 mies., a następnie 2 razy w tygodniu przez 12 mies. [480 MU/kurację], łącznie 18 miesięcy, u 37 osób

Grupa D. IFN w dawce 3 mU 3 razy w tygodniu + Ribavirin codzienne w dawce 1000-1200 mg przez 6 mies. u 58 osób.

Łączna liczba leczonych wynosiła 445 (117 kobiet i 328 mężczyzn).

Do terapii kwalifikowano chorych spełniających następujące kryteria:

- a) Zakażenie HCV: > 6 mies.
- b) Aktywność A1AT: > 2,5 x norma

Efektywność leczenia przeciwwirusowego przewlekłego zapalenia wątroby typu C

c) HCV-RNA met. RT-PCR: dodatni

d) Histopatologia wątroby (biopsja): hepatitis z lub bez włóknienia (bez marskości)

W ocenie wyników brano pod uwagę następujące kryteria:

1. Odpowiedź wirusologiczna

Zanik HCV-RNA (oznaczanie metodą RT-PCR) z surowicy po zakończeniu leczenia i 6 mies. po zakończeniu leczenia.

2. Odpowiedź biochemiczna

Normalizacja aktywności A1AT bezpośrednio po leczeniu lub 6 mies. po leczeniu.

3. Odpowiedź wirusologiczna i biochemiczna: normalizacja A1AT i zanik HCV-RNA bezpośrednio i w 6 mies. po terapii.

Odpowiedź histopatologiczną pozostawiono do dalszej analizy.

W metodach statystycznych dla porównania efektywności terapii pomiędzy wszystkimi czterema grupami zastosowano test chi-kwadrat, w razie potrzeby z poprawką Yatesa¹¹

Analiza statystyczna nie wykazała różnic statystycznie znamiennej pomiędzy grupami w odpowiedzi wirusologicznej (odpowiedź w grupach: A-36%, B-32%, C-45%, D- 45%) bezpośrednio po zakończeniu leczenia. Po upływie 6 miesięcy od zakończenia leczenia uzyskano następujące wyniki w odpowiedzi wirusologicznej w poszczególnych grupach: A- 14%, B-14%, C-37,8%, D-37%. Różnice znamienne statystycznie obejmowały grupy: A/C, A/D, B/C, B/D. Nie było różnic pomiędzy grupami: A/B i C/D.

Odpowiedź biochemiczna bezpośrednio po leczeniu dała wyniki w poszczególnych grupach: A-44%, B-40%, C-62%, D-89%. Różnice znamienne statystycznie dotyczyły porównania wyników między grupami: A/D, B/C, B/D i C/D. Nie było różnic pomiędzy grupami: A/B i A/C. Po upływie 6 miesięcy odpowiedź biochemiczna w poszczególnych grupach wynosiła: A-29,5%, B-21,7%, C-48,6%, D-47,2%. Różnice znamienne statystycznie dotyczyły następujących grup: A/C, A/D, B/C, a nie było ich pomiędzy grupami: A/B i C/D.

Odpowiedź biochemiczna i wirusologiczna w poszczególnych grupach bezpośrednio po leczeniu: A-8,6%, B-8,5%, C-43,2%, D-41,8%. Różnice znamienne statystycznie dotyczyły grup: A/C, A/D, B/C, B/D, a ich brak: A/B i C/D. Pół roku po zakończeniu terapii odpowiedź kształtowała się w poszczególnych grupach: A-14%, B-14%, C-37,8%, D-34,0%. Różnice znamienne statystycznie dotyczyły grup: A/C, A/D i B/C, a nie było ich między grupami: A/B i C/D.

Objawy niepożądane nie odbiegały od opisywanych w literaturze przedmiotu. Będą one tematem odrębnej analizy.

Z przeprowadzonych badań można wysnuć następujące wnioski:

Najlepsze wyniki (odpowiedź wirusologiczna i biochemiczna) uzyskano u chorych po stosowaniu IFN-alfa 2b przez 1,5 r. lub IFN-alfa2b +Ribavirin przez pół roku (nieco ponad 40% w obu schematach terapeutycznych).

2. Dawki IFN-alfa2b 3 MU (216 MU) i 5 MU (360 MU) przez pół roku są suboptymalne i taki schemat nie powinien być stosowany.

1-Trzy rodzaje odpowiedzi na terapię w czterech zastosowanych schematach daje następującą zależność: odpowiedź biochemiczna>odpowiedź wirusologiczna biochemiczna + wirusologiczna.

(Jest to sprawozdanie z badań. Pełny tekst jest przygotowywany do druku).

Dziękujemy Panu Prof. Piotrowi Zaborowskiemu za przeprowadzenie analizy statystycznej.

Uwagi do prognozowania skuteczności leczenia przewlekłych zapaleń wątroby typu C interferonem-alfa i rybawiryną w świetle własnych obserwacji – doniesienie wstępne

Małgorzata Pawłowska¹, Andrzej Horban², Waldemar Halota¹, Hanna Berak²,

¹ Katedra i Klinika Chorób Zakaźnych AM w Bydgoszczy

² Oddział Obserwacyjny Wojewódzkiego Szpitala Zakaźnego w Warszawie

W leczeniu przewlekłych zapaleń wątroby typu C standardem jest obecnie terapia kombinowana interferonem alfa i rybawiryną. Przewyższa ona skutecznością uprzednio stosowaną monoterapię interferonem zarówno u pacjentów wcześniej nie leczonych jak i podanych reterapii (1,2,3,4).

Od czasu wprowadzenia interferonu do leczenia przewlekłych zapaleń wątroby uwagę skupia określenie czynników prognozujących odpowiedź na leczenie, która jest bardzo zróżnicowana. W opublikowanym w 1999 roku „konsensusie paryskim” dotyczącym leczenia przewlekłych zapaleń wątroby typu C, jako wczesne kryteria prognozy skuteczności leczenia interferonem i rybawiryną, a jednocześnie wykluczenia lub kontynuacji terapii przyjęto oznaczenie obecności HCV-RNA w surowicy krwi w trzecim miesiącu leczenia (5).

Populacja polska jest zakażona głównie typem I HCV, któremu przypisuje się wysoką zdolność replikacyjną (6,7,8,9). Okres 3 miesięcy może być za krótki do wyeliminowania wirerii u chorych z wysokimi wyjściowymi poziomami HCV-RNA.

Analizie poddano 168 chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu C leczonych interferonem i rybawiryną w latach 1997–2000 w Oddziale Obserwacyjnym Szpitala Zakaźnego w Warszawie i w Katedrze i Klinice Chorób Zakaźnych AM w Bydgoszczy. W wymienionych ośrodkach od 1997 roku do leczenia skojarzonego interferonem i rybawiryną włączono 217 chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu C. Chorzy najwcześniej leczenia otrzymywali interferon-alfa 3 razy w tygodniu po 5 milionów jednostek oraz rybawirynę 1,0–1,2 g codziennie przez 6 miesięcy. Chorych, którzy rozpoczęli leczenie w 1999 roku leczono wg analogicznego schematu przez okres 12 miesięcy. U 22 pacjentów terapię interferonem i rybawiryną poprzedzono 3-miesięczną monoterapią interferonem. Pacjentów tych nie analizowano w przedstawianej pracy.

Spośród 195 chorych leczonych terapią skojarzoną 6 lub 12 miesięcy u 19 (9%) przerwano leczenie z powodu niepożądanych działań leków. Były to:

- niedokrwistość – 16 przypadków;
- zaburzenia funkcji tarczycy – 11;
- zaostrzenie choroby wieńcowej – 6;
- małopłytkowość – 4;
- leukopenia – 3.

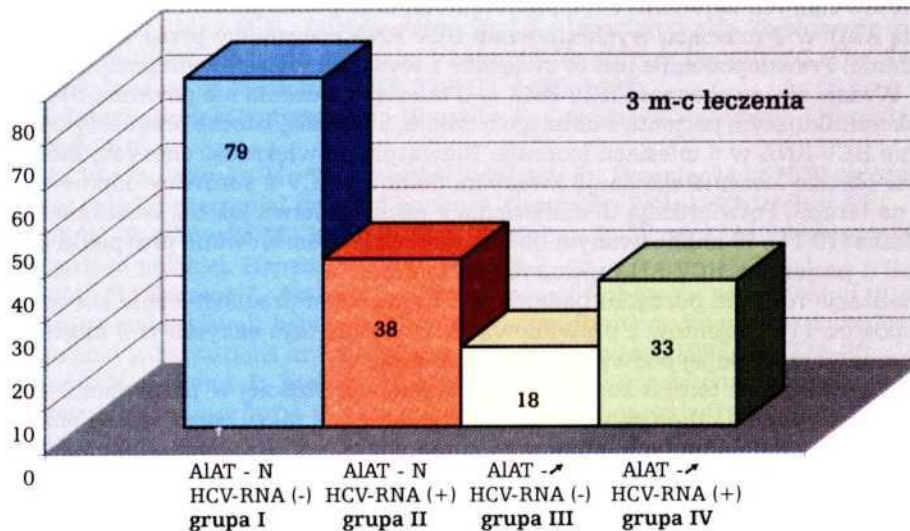
U jednej osoby do przerwania leczenia skłoniło wystąpienie objawów psychotycznych, inna przedwcześnie ukończyła leczenie na własne żądanie.

U 168 pacjentów, u których przez minimum 6 miesięcy stosowano skojarzone leczenie interferonem-alfa i rybawiryną analizowano zachowanie się aktywności aminotransferazy alaninowej oraz HCV-RNA w surowicy krwi w III i VI miesiącu leczenia.

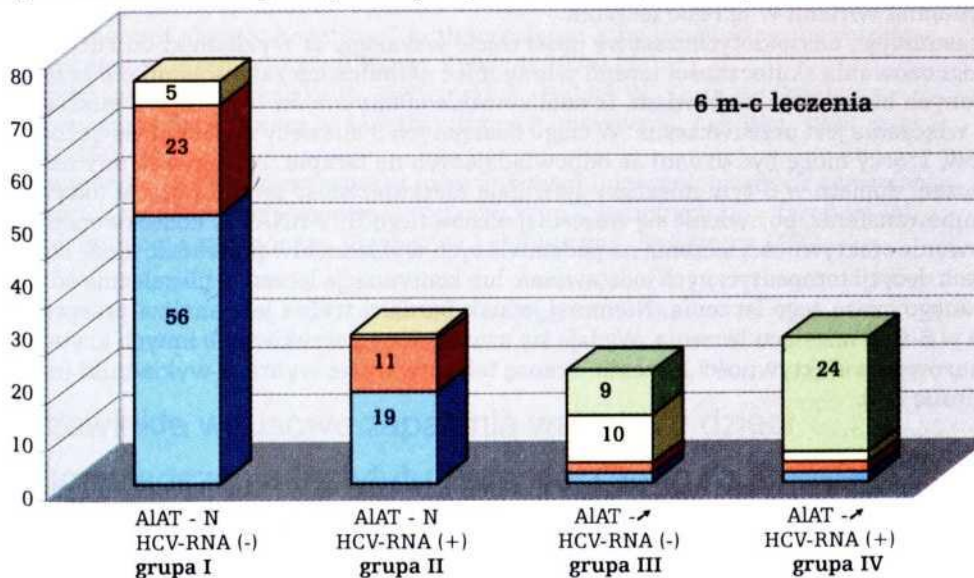
W trzecim miesiącu obserwacji u 117/168 (69%) leczonych doszło do normalizacji aktywności ALAT. Spośród nich u 79 nie wykrywano w tym czasie HCV-RNA w surowicy krwi. U pozostałych 38 chorych normalizacji ALAT towarzyszyła obecność HCV-RNA.

U 51/168 pacjentów obserwowano w 3 miesiącu leczenia podwyższoną aktywność ALAT. U 18 z tych osób nie wykrywano w surowicy HCV-RNA, 33 nadal replikowały HCV (ryc.1).

Rycina 1 Aktywność ALAT i HCV-RNA w surowicy krwi chorych w 3 miesiącu leczenia interferonem i rybawiryną.



W 6 miesiącu leczenia prawidłową aktywność ALAT stwierdzano u 116/168 chorych. U 84 spośród nich nie wykrywano w surowicy krwi HCV-RNA. W grupie tej oprócz 56 pacjentów, u których w 3 miesiącu leczenia stwierdzano prawidłową aktywność ALAT i zanik HCV-RNA w surowicy krwi, znalazło się 23 z obecnym HCV-RNA w surowicy w 3 miesiącu leczenia oraz 5 z podwyższoną w tym okresie aktywnością ALAT.



Rycina 2 Aktywność ALAT i HCV-RNA w surowicy krwi chorych w 6 miesiącu leczenia interferonem i rybawiryną.

Spośród 38 chorych, którzy w 3-cim miesiącu leczenia mieli wykrywane HCV-RNA w surowicy u 23 (60%) doszło do zaniku replikacji HCV do szóstego miesiąca leczenia. Wśród

chorych z podwyższoną w trzecim miesiącu aktywnością ALAT (grupa IV) również obserwowano zanik HCV-RNA pomiędzy 3-cim a 6-tym miesiącem leczenia u 9/33 (27%) (ryc.2).

Prawie 1/3 chorych HCV-RNA (+) z podwyższoną oraz ponad połowa z prawidłową aktywnością ALAT w 3 miesiącu wyeliminowała HCV-RNA z surowicy przez kolejne 3 miesiące leczenia. Prawdopodobnie jest to związane z wysokim wyjściowym poziomem wirerii HCV. Wydaje się, że obecność HCV-RNA w 3 miesiącu leczenia nie powinna być kryterium dyskwalifikującym pacjenta z dalszego leczenia, a bardziej istotne prognostycznie jest oznaczenie HCV-RNA w 6 miesiącu leczenia. Niewątpliwie większość chorych, którzy we wczesnym okresie leczenia eliminują kwasy nukleinowe HCV z surowicy odpowiada korzystnie na terapii. Potwierdzają to doniesienia z piśmiennictwa jak też wcześniejsze badania własne (10,11). W analizowanym dużym materiale obserwowano przypadki nawrotu wirerii u pacjentów HCV-RNA ujemnych w 3 miesiącu.

Normalizacja ALAT na początku badania jest czynnikiem prognostycznie korzystnym. Tylko 8 spośród 117 pacjentów z prawidłową aktywnością tego enzymu w 3 miesiącu leczenia charakteryzowało jej podwyższenie w 6 miesiącu.

Objawy niepożądane terapii kombinowanej występują częściej w porównaniu do monoterapii interferonem (13). Wpływ na ich wykrywanie ma także coraz lepsze poznawanie mechanizmów działania tych leków przy coraz większych doświadczeniach z ich stosowaniem, zwłaszcza w odniesieniu do chorób serca, tarczycy i zaburzeń ze strony centralnego układu nerwowego.

Z przeprowadzonej analizy wynika, iż niecelowe wydaje się oznaczenie wirerii HCV w 3 miesiącu leczenia jako czynnika prognozującego odpowiedź na leczenie. W przedstawionym materiale wykazano, że wielu pacjentów eliminuje HCV-RNA z surowicy pomiędzy 3 a 6 miesiącem leczenia, stąd dyskwalifikacja w 3 miesiącu chorych z wykrywanym HCV-RNA w surowicy krwi byłaby nietrafna. Niewątpliwie ilościowe oznaczenie wirerii HCV pozwoliłoby na bardziej wnikliwą analizę problemu w kontekście oceny zachowania się dynamiki wirerii w okresie leczenia.

Reasumując, nasze dotychczasowe obserwacje wskazują, iż wykładniki do rutynowego prognozowania skuteczności terapii winny mieć ograniczone zastosowanie. Z przeprowadzonych badań wynika bowiem, iż analizowanie efektywności terapii po 3 miesiącach od jej włączenia jest przedwczesne. W ciągu następnych 3 miesięcy zwiększa się liczba pacjentów, którzy mogą być uznani za odpowiadających na terapię. Z drugiej strony niektórzy leczeni dopiero w 6-tym miesiącu ujawniają nieskuteczność terapii (wzrost aktywności aminotransferaz, pojawienie się wcześniej nieobecnego HCV-RNA). W konsekwencji prognozowanie efektywności leczenia na podstawie tych wykładników prowadzić może do nietrafnych decyzji terapeutycznych (odstawienie lub kontynuacja leczenia) niezależnie od analizowanego czasu tego leczenia. Niemniej jednak bardziej trafna jest analiza przeprowadzona w 6-tym miesiącu leczenia. Wydaje się uzasadnione poszukiwanie innych kryteriów prognozowania efektywności leczenia. Szansę taką stwarzają wybrane wykładniki immunologiczne (14).

Piśmiennictwo:

1. Lai M.Y., Kao J.H., Yang P.M., Wang J.T., Chen P.J., Chan K.W., Chu J.S., Chen D.S.: Long-term efficacy of ribavirin plus interferon alfa in the treatment of chronic hepatitis C. *Gastroenterology* 1996, 111: 1307-1312.
2. Poynard T., Marcellin P., Lee S.S., Niederau C., Minuk G., Ideo G., Bain V., Heathcote J., Zeuzem S., Trepo c., Albrecht J.: Randomized trial of interferon alpha-2b plus ribavirin for 48 weeks or for 24 weeks versus interferon alpha-2b plus placebo for 48 weeks for treatment of chronic infection with hepatitis C virus. *Lancet* 1998, 352: 1426-1432.
3. Davis G.I., Esteban-Mur R., Rustgi V., Hoefs J., Gordon S.C., Trepo C., Shiffman M.L., Zeuzem S., Craxi A., Ling M.H., Albrecht J.: Interferon alfa-2b alone or in

- combination with ribavirin for the treatment of relapse of chronic hepatitis C. The New England Journal of Medicine 1998, 339(21): 1493-1499.
4. McHutchison J.G., Gordon S.C., Schiff E.R., Shiffman M.L., Lee W.M., Rustigi V.K., Goodman Z.D., Ling M.H., Cort S., Albrecht J.K.: Interferon alfa-2b alone or in combination with ribavirin as initial treatment for chronic hepatitis C. The New England Journal of Medicine 1998,339(21): 1485-1492.
 5. EASL International Conference on Hepatitis C. Consensus Statement J.Hepatol. 1999, 30: 956-961.
 6. Halota W., Pawłowska M., Topczewska-Staubach E.: Prevalence of HCV serotypes among Polish nosocomial infected patients. Gastr.Clin.Biol. 1997, 21(10): 53.
 7. Halota W., Pawłowska M., Bulik F., Kłos M., Kołtan S., Wysocki M.: Serotypy HCV w populacji polskiej. Hepatol.Pol.1998, 5(1): 3-7.
 8. Enomoto N., Sakuma I., Asahina Y.: Comparison of full-length sequences of interferon-sensitive and resistant hepatitis C virus 1b - sensitivity to interferon is conferred by amino acid substitutions in the NS5a region. J.Clin.Invest. 1995, 96: 224-30.
 9. Enomoto N., Sakuma I., Asahina Y.: Mutations in the nonstructural protein 5A gene and response to interferon in patients with chronic hepatitis C virus 1b infection. N.Engl.J.Med. 1996, 334: 77-81.
 10. Ampurdanes S., Olmedo E., Maluenda M.D., Fornis X., Lopez-Labrador EX., Costa J., Sandez-Tapias J.M., Jimenez de Anta M.T., Rodes J.: Permanent response to alpha-interferon therapy in chronic hepatitis C is preceded by rapid clearance of HCV-RNA from serum. J.Hepatol. 1996, 25: 827-832.
 11. Pawłowska M., Halota W., Topczewska E., Kuziemski A.: Interferon and ribavirin in the treatment of chronic hepatitis C - preliminary report. Gastroenterologia 1998, 5(Supl.1), 106.
 12. Bonetti P., Chemello L., Antona C., Breda A., Brosolo P., Casarin P., Crivellaro C., Dona G., Martinelli S., Rinaldi R., Zennaro V., Santonastaso M., Urban F., Pontisso P.: Treatment of chronic hepatitis C with interferon-a by monitoring the response according to viremia. J.Viral Hepat. 1997, 4: 107-112.
 13. Pawłowska M., Smukalska E., Kuziemski A., Halota W., Dura B.: Działania niepożądane interferonu w świetle własnych obserwacji. Lek.Woj. 1998, supl.2: 157-160.
- H. Pawłowska M.: Wybrane aspekty uwarunkowań immunologicznych zdrowienia chorych na przewlekłe zapalenie wątroby typu C leczonych interferonem lub interferonem i rybawiryną. Rozprawa habilitacyjna, Bydgoszcz 1999.

Przewlekłe wirusowe zapalenia wątroby u dzieci – doświadczenia Instytutu Pomnika Centrum Zdrowia Dziecka

M. Woynarowski

Klinika Gastroenterologii Hepatologii i Żywienia IP CZD

Przewlekłe wirusowe zapalenie wątroby jest tematem, któremu w Centrum Zdrowia Dziecka poświęca się wiele uwagi. W latach osiemdziesiątych w CZD prowadzono obserwację naturalnego przebiegu zakażenia oraz próby leczenia przy pomocy krótkotrwałej steroidoterapii a w początkach lat dziewięćdziesiątych wprowadzono leczenie zakażeń HBV

przy pomocy interferonu. Z racji swojego usytuowania w systemie ochrony zdrowia w Polsce, Centrum Zdrowia Dziecka miało istotny wpływ na sposoby diagnostyki i leczenia, dzięki temu CZD stało się ośrodkiem gromadzącym dane epidemiologiczne i dane o wynikach leczenia,

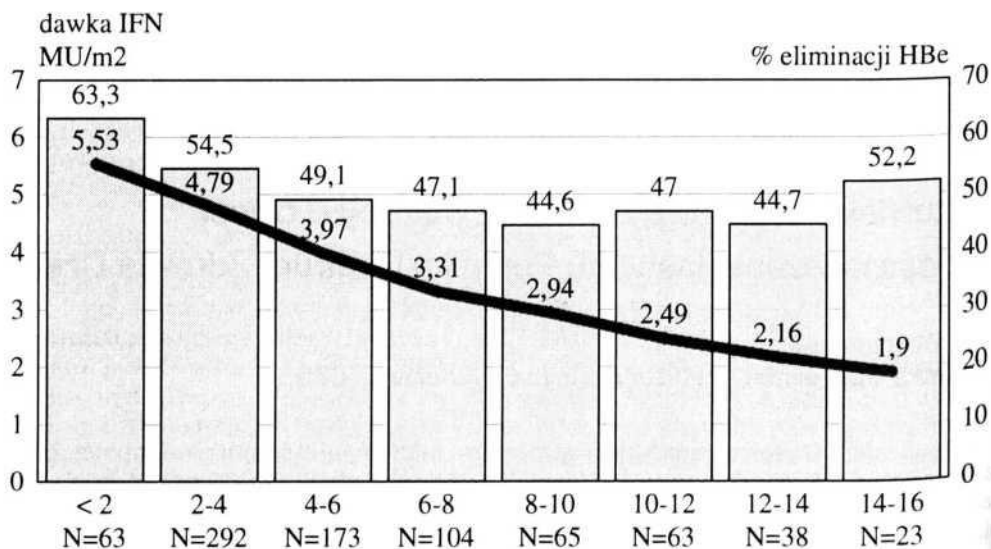
Współpraca wielu ośrodków rozpoczęła się w 1993r. Formalnym momentem jej rozpoczęcia był dokonany przez MZiOS zakup interferonu i wyznaczenie CZD jako ośrodka koordynującego wykorzystanie leku. Wprowadzony w 1993r. jednolity schemat rejestrowania danych umożliwił zebranie wyników leczenia 1688 dzieci. Wszystkie dzieci były leczone interferonem w dawce 3 MU podawanej 3 x w tygodniu przez 20 tygodni. W dniu zakończenia leczenia eliminację antygenu HBe stwierdzano u 29.5% a antygenu HBs u 4.8% pacjentów. W rok po zakończeniu leczenia antygenu HBe nie wykrywano u 51.5% a antygenu HBs u 10.2% leczonych. Eliminację antygenu HBe stwierdzano częściej u dzieci z wyższą aktywnością ALAT oraz niższym stężeniem polimerazy DNA.

W początku lat dziewięćdziesiątych najbardziej narażona na zakażenie grupą wiekową były najmłodsze dzieci. U części z tych dzieci stwierdzano bardzo nasilony proces zapalny z bardzo wysoką aktywnością ALAT. Leczenie tych dzieci interferonem dało nadspodziewanie dobre wyniki. Ponad 60% pacjentów wyeliminowało antygen HBe a prawie 20% wyeliminowało antygen HBs. W odróżnieniu od innych grup wiekowych u najmłodszych dzieci leczonych interferonem stwierdzano większą częstość występowania drgawek gorączkowych będących następstwem wzrostu temperatury ciała po podaniu interferonu. Nie obserwowano natomiast innych trwałych niekorzystnych następstw terapii.

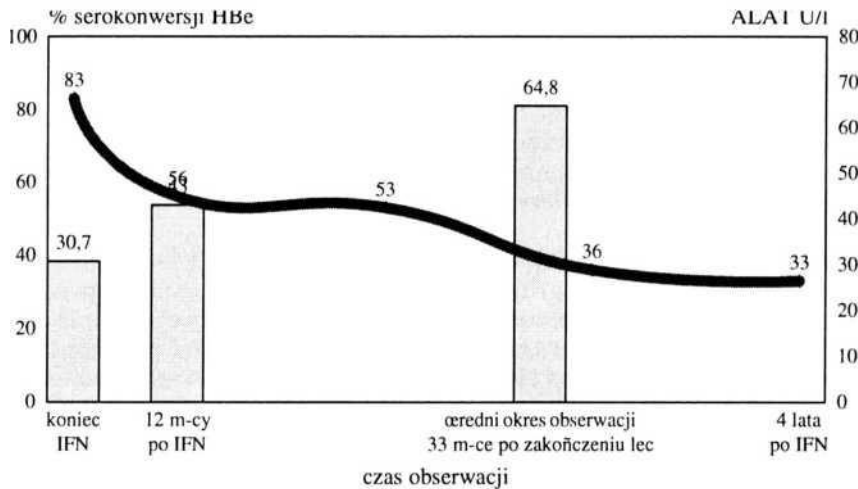
W porównaniu z większością schematów europejskich w Polsce stosowano niższe dawki interferonu w przeliczeniu na powierzchnię ciała dziecka. Wynikało to z przyczyn ekonomicznych i dążenia do zapewnienia leczenia jak największej liczbie pacjentów. Podsumowanie wyników wskazuje, że niższe dawki interferonu mają skuteczność zbliżoną do skuteczności wyższych dawek (Ryc. 1).

Część z pacjentów, którzy byli leczeni interferonem z powodu zakażenia HBV jest objęta dalszą, długofalową kontrolą. Obecnie grupa ta liczy 281 pacjentów, którzy zakończyli leczenie średnio przed 33 miesiącami, ale najdłuższy okres obserwacji sięga już 7 lat.

Ryc. 1. Częstość eliminacji antygenu HBe i średnia dawka interferonu w przeliczeniu na powierzchnię ciała w różnych grupach wiekowych.



Ryc. 2. Wyniki długofalowej obserwacji dzieci z przewlekłym zapaleniem wątroby typu B leczonych interferonem.



U 64,8% z tych dzieci nie stwierdza się już obecności antygenu HBe, co daje średnią roczną serokonwersję na poziomie około 10–15% (Ryc.2).

U części dzieci, które mimo leczenia interferonem nie wyeliminowały antygenu HBe i nadal miały podwyższoną aktywność ALAT oraz zmiany histopatologiczne zastosowano powtórzną kurację interferonem w dawce 6 MU podawanej 3 x w tygodniu, którą prowadzono przez 6 miesięcy, przez co sumaryczna dawka ponownej terapii była 2,5 krotnie wyższa od dawki pierwotnej. Część pacjentów zakończyła już leczenie i 6-cio miesięczną obserwację a u części jest ona jeszcze w toku dlatego dane o skuteczności tej formy leczenia są niepełne. W grupie 49 dzieci, które ukończyły leczenie eliminację HBe zanotowano tylko u 20%. Odsetek ten po 6 miesiącach obserwacji wzrósł do 25% ale liczba pacjentów, którzy doszli do tego etapu jest bardzo mała.

Inną eksperymentalną metodą leczenia zakażenia HBV u dzieci, które nie odpowiedziały na leczenie interferonem była swoista immunoterapia. Do prowadzonego w CZD randomizowanego, kontrolowanego placebo badania włączono 19 dzieci, z których 10 otrzymało szczepionkę a 9 placebo. Po zakończeniu cyklu szczepień i obserwacji stwierdzono, że antygen HBe wyeliminowało 3 dzieci z grupy otrzymującej placebo i tylko 1 dziecko z grupy otrzymującej szczepionkę. Eliminację HBV DNA obserwowano jedynie u 2 dzieci z grupy kontrolnej. Wobec tak nie zadawalających wyników swoista immunoterapia nie jest więcej stosowana.

Od końca ubiegłego roku reterapię interferonem zastąpiono leczeniem lamiwudyną. Należy spodziewać się, że z racji drogi podania oraz porównywalnej z interferonem skuteczności leczenia lek ten będzie coraz chętniej stosowany.

Dane o skuteczności leczenia interferonem zakażeń HCV są zbierane przez CZD od 1997r. Pierwsza grupa pacjentów obejmuje 75 dzieci, które otrzymywały interferon alfa w dawce 3 MU 3 x w tygodniu przez 6 miesięcy. Eliminację HCV-RNA uzyskano u około 25% leczonych dzieci.

W 1998r w CZD zaprojektowano badanie mające porównać skuteczność różnych form leczenia zakażeń HCV. Wyniki 6-cio i 12-to miesięcznego leczenia interferonem porównywano z wynikami uzyskanymi u dzieci leczonych interferonem i rybawiryną oraz z częstością eliminacji HCV-RNA u dzieci nie otrzymujących terapii przeciwwirusowej. Wyniki są w końcowej fazie opracowywania ale już można powiedzieć, że monoterapia interferonem niezależnie od długości trwania powodowała eliminację HCV-RNA u oko-

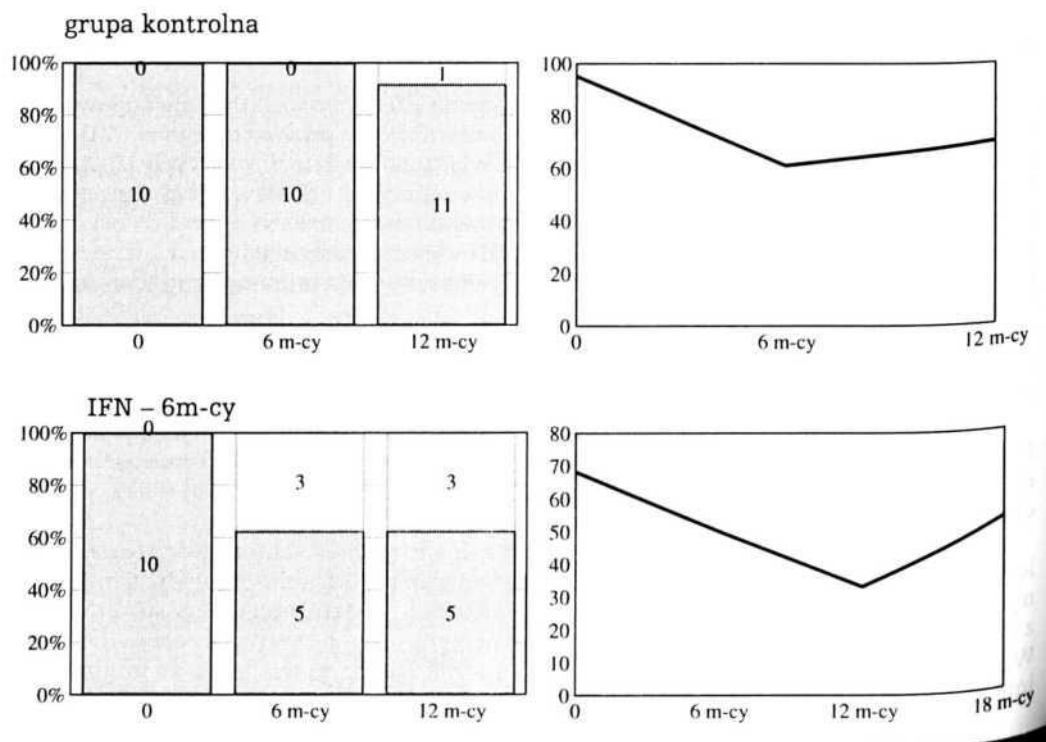
Hepatologia zakaźna

10 30% dzieci podczas gdy odsetek eliminacji HCV-RNA u dzieci otrzymujących leczenie skojarzone sięga 80%. Wyniki takie świadczą o przewadze terapii skojarzonej nad monoterapią i z tego powodu zrezygnowano z leczenia dzieci z zakażeniem HCV samym interferonem.

Od początku 2000r. prowadzony jest kolejny program leczenia dzieci z zakażeniem HCV, w którym będzie porównywana skuteczność 24 i 48 tygodniowego leczenia skojarzonego interferonem i rybawiryną. Tak jak w latach poprzednich program jest koordynowany przez CZD, gdzie jest przechowywany lek i gdzie spływają wszystkie informacje o wynikach leczenia. Podobnie jak stało się to w przypadku zakażeń HBV liczymy, że pozwoli on na wskazanie optymalnego sposobu leczenia dzieci z zakażeniem HCV.

Opisane wyżej doświadczenia są wynikiem pracy niezależnych ośrodków dziecięcych, które utworzyły nieformalną grupę osób i instytucji zainteresowanych prowadzeniem leczenia dzieci z chorobami wątroby. Działalność tej grupy skupiała się wokół pacjentów z wirusowymi zapaleniami wątroby a jej centralnym punktem był dokonywany corocznie centralny zakup leków przeciwwirusowych. Zachodzące obecnie zmiany w zasadach finansowania i organizacji służby zdrowia stanowią zagrożenie dla dalszej działalności tej grupy, jednak mamy nadzieję, że również w nowych warunkach będzie możliwe utrzymanie jednolitego standardu opieki nad dziećmi i gromadzenie danych o skuteczności naszego postępowania. W imieniu zespołu koordynującego prace składamy serdeczne podziękowania wszystkim Koleżankom i Kolegom, którzy brali udział w ustalaniu zasad współpracy, prowadzeniu leczenia, gromadzeniu i opracowywaniu wyników.

Ryc.3. Częstość eliminacji HCV RNA i średnia aktywność ALAT u dzieci nie leczonych (grupa kontrolna) oraz u dzieci leczonych interferonem przez 6 lub 12 miesięcy albo leczonych interferonem i rybawiryną przez 12 miesięcy.



Korelacja kliniczno-morfologiczna obrazu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B

Lista ośrodków uczestniczących w programie:

1. III Klinika Chorób Dzieci AM w Białymstoku - kierownik prof. M. Kaczmarski,
2. Wojewódzki Szpital Zespolony w Bielsku Białej - kierownik dr M. Mikina,
3. Klinika Gastroenterologii AM w Bydgoszczy - kierownik prof. M. Czerwionka- -Szaflarska,
4. Wojewódzki Szpital Zakaźny w Bydgoszczy - ordynator dr E. Smukalska,
5. II Klinika Chorób Dzieci AM w Gdańsku - kierownik prof. M. Korzon,
6. Wojewódzki Szpital Zespolony w Gdańsku - kierownik dr H. Trocha,
7. Krakowski Szpital Specjalistyczny im. Jana Pawła II - kierownik dr J. Mizerski,
8. Wojewódzki Szpital Zespolony w Kielcach - kierownik dr A. Mierzejewska- -Rudnicka,
9. Klinika Onkologii i Hematologii AM w Lublinie - kierownik prof. J. Kowalczyk,
10. Wojewódzki Szpital Zakaźny w Lublinie - kierownik dr A. Kuropieska-Świć,
11. Klinika Chorób Zakaźnych AM w Łodzi - kierownik prof J. Kuydowicz,
12. Klinika Chorób Dzieci IP CZMP-WAM - kierownik prof. I. Planeta-Malecka,
13. Szpital Specjalistyczny w Nowej Hucie - kierownik dr M. Kownacka,
14. Oddział Chorób Zakaźnych WSZ w Olsztynie - kierownik dr A. Zdanowska-Ruskan
15. Klinika Chorób Zakaźnych AM w Poznaniu - kierownik prof. W. Służewski,
16. Wojewódzki Szpital Zespolony w Poznaniu - kierownik doc. J. Wysocki,
17. Wojewódzki Szpital Zespolony w Szczecinie - kierownik dr W. Chlebcewicz-Szuba,
18. Wojewódzki Szpital Zespolony w Toruniu - kierownik dr E. Strawińska,
19. Szpital Zakaźny im. Dzieci Warszawy - kierownik dr T. Chmurska Motyka,
20. Klinika Chorób Zakaźnych Wieków Dziecięcego AM w Warszawie - kierownik dr B. Kowalik-Mikołajewska,
21. Klinika Gastroenterologii, Hepatologii i Żywienia IP CZD
- kierownik prof. J. Socha,
22. Klinika Chorób Zakaźnych Wieków Dziecięcego AM we Wrocławiu
- kierownik prof. I. Kacprzak-Bergman.
23. Klinika Chorób Zakaźnych AM we Wrocławiu - kierownik prof. A. Gładysz
24. Klinika Ogólnopediatria Ś1AM w Zabrzu - kierownik prof. K. Karczevska.

Korelacja kliniczno-morfologiczna obrazu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B u dzieci w zależności od wieku i drogi zakażenia

Wojciech Służewski, Arleta Kowala-Piaskowska, Iwona Mozer-Lisewska
Klinika Obserwacyjno-Zakaźna Instytutu Pediatrii Akademii Medycznej
im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

WSTĘP

Przewlekłe zakażenia wirusem zapalenia wątroby typu B (HBV) u dzieci, związane z nimi trudności diagnostyczne, terapeutyczne oraz następstwa stanowią nadal poważny problem.

Efektywna odpowiedź immunologiczna na zakażenie w dużej mierze zależy od dojrzałości układu odpornościowego i jego prawidłowej funkcji. Elementem kształtującym obraz ostrego i przewlekłego zakażenia HBV jest wzajemne oddziaływanie pomiędzy antygenami wirusa i mechanizmami odpornościowymi.

Hepatologia zakaźna

W związku z istnieniem kilku możliwych dróg zakażenia, spotyka się różne podziały sposobów szerzenia się infekcji. Transmisja zakażenia HBV może być wertykalna lub horyzontalna. Inny podział, to zakażenie na drodze:

- parenteralnej
 - wewnątrzrodzinnej
 - oraz przekazanie zakażenia w okresie okołoporodowym przez matkę zakażoną HBV.
- W ostatnich latach coraz większego znaczenia nabiera droga wewnątrzrodzinna. Wśród członków rodzin nosicieli wirusa, odsetek dodatnich markerów HBV wynosi do 40% [2, 11, 19].

Wprowadzenie do rutynowych badań klinicznych biopsji wątroby pozwoliło na stworzenie jednolitego mianownictwa i systematyki przewlekłego zapalenia wątroby (pzw).

W 1997 roku pzw podzielono na następujące grupy:

- przewlekłe przetrwałe zapalenie wątroby (ppzw),
- przewlekłe aktywne zapalenie wątroby (pazw),
- przewlekłe zrazikowe zapalenie wątroby (pzzw).

Za główne kryterium różnicujące poszczególne postaci zapaleń wątroby uznano umiejscowienie i nasilenie zmian uszkodzających, wysiękowych i wytwórczych [7,14].

W ostatnich latach podjęto próbę zmiany klasyfikacji pzw, uznając jako podstawę czynnik etiologiczny, ponieważ od niego zależy przebieg, rokowanie i leczenie pacjenta. Oceniając stopień aktywności histologicznej (histological activity index-HAI) w przewlekłym wirusowym zapaleniu wątroby uzyskujemy ocenę nasilenia procesu martwiczo-zapalnego. Poszczególne systemy punktacji zmian w pzw są oparte na 4 podstawowych komponentach, które tworzą system zmian wg Knodella [10]:

1. martwica okołobramna z martwicą mostkową lub bez niej (0–10 punktów),
2. zmiany degeneracyjne hepatocytów i martwica ogniskowa wewnątrzrazikowa (0–4 punkty),
3. nacieki zapalne w przestrzeniach bramnych (0–4punkty),
4. włóknienie (0–4punkty).

Szeroka skala punktacji umożliwia wnikliwą ocenę wielu elementów zmian histopatologicznych, a jest szczególnie przydatna, kiedy zmiany wykazują niewielkie nasilenie. W następnych latach okazało się, że połączona ocena powyższych kategorii jest ważniejsza niż odrębne ocenianie każdej z nich. Ustalono wówczas tzw. *grading* oparty na pomiarze procesu zapalno-martwiczego i *staging* określający włóknienie [7].

W szeregu publikacji podkreśla się, że ocena biopsji wątroby wykonana techniką mikroskopii elektronowej poprawia wydolność badania morfologicznego. Obrazy uchwytnie dla mikroskopu świetlnego powstają zdecydowanie później, aniżeli te możliwe do identyfikacji w mikroskopie elektronowym. Od lat 70-tych najpierw na drodze rutynowych badań mikroskopowo-elektronowych, a następnie technikami immunocytochemii przedstawiono klasyczne obrazy zmian w jądrach komórkowych i cytoplazmie zakażonych hepatocytów [17,18].

Mając na uwadze wysokie nosicielstwo HBV w społeczeństwie polskim, z czym wiąże się większe ryzyko zakażenia tym wirusem oraz zdecydowanie mniejsze szanse młodego organizmu na wyeliminowanie wirusa, wydaje się być uzasadnionym podjęcie badań mających na celu określenie związku pomiędzy przebiegiem pzw B u dzieci, a drogą i wiekiem w chwili zakażenia.

CEL PRACY

Celem pracy jest przeprowadzenie analizy:

- obrazu klinicznego i ewolucji pzw u dzieci w różnych fazach zakażenia HBV oraz ocena
- charakteru zmian morfologicznych zachodzących w wątrobie, ich rozległości, nasilenia destrukcji tkanki zrazików, obecności wirusów w zależności od wieku i drogi na jakiej doszło do zakażenia.

MATERIAŁ I METODY

Analizie poddano grupę 30 dzieci (7 dziewczynek i 23 chłopców) w wieku od 2 do 14 lat hospitalizowanych w Klinice Obserwacyjno-Zakaźnej Instytutu Pediatrii Akademii Medycz-

nej w Poznaniu w latach 1984–1992 z rozpoznaniem na podstawie obrazu klinicznego oraz oceny morfologicznej bioptatu wątroby pzw B.

Całość materiału podzielono na grupy w zależności od wieku, w którym doszło do zakażenia oraz w zależności od drogi zakażenia.

Na podstawie oceny morfologicznej bioptatu wątroby dokonano podziału na chorych z pzw (21) i ppzw (9).

Za główne kryterium różnicujące poszczególne postaci zapaleń wątroby uznano umiejscowienie i nasilenie zmian uszkodzających, wysiękowych i wytwórczych.

Przyjęto 3 drogi, na których doszło do zakażenia:

- droga parenteralna,
- droga wewnątrzrodzinna,
- zakażenie w okresie okołoporodowym.

W pracy posługiwano się następującymi metodami:

A. Metody kliniczne:

1. Dokładna analiza wywiadu dotycząca: nosicielstwa matki w zakresie antygenu „s” HBV (HBsAg) lub ostrego wirusowego zapalenia wątroby (owzw) B w ciąży lub w późniejszym okresie, przebytych przez dziecko chorób, hospitalizacji, zabiegów z przerwaniem ciągłości tkanki, kontaktu z chorymi lub nosicielami HBV, przebycia przez dziecko owzw.
2. Badanie przedmiotowe – oceniano stan ogólny, zażółcenie powłok, powiększenie wątroby i śledziony.
3. Obserwacja kliniczna, również po zwolnieniu ze szpitala w ramach Poradni Hepatologicznej Kliniki Obserwacyjno-Zakaźnej IP AM (do 1997 roku).

B. Metody laboratoryjne:

1. Aktywność aminotransferazy alaninowej (AlAT) oznaczanej optymalizowaną metodą kinetyczną (norma 5–40 U/l).
2. Badania serologiczne: HBsAg, antygen „e” HBV (HBeAg), anty-HBe, anty-HBc oznaczone metodą enzymatyczną na zestawach firmy Abbott oraz przeciwciała w surowicy w kierunku: cytomegalii, opryszczki zwykłej, zapalenia wątroby typu C.
3. Badania morfologiczne bioptatu wątroby uzyskiwanego drogą biopsji cienkoigłowej zestawem Menghiniego oceniano w Pracowni Mikroskopii Elektronowej Katedry i Zakładu Patomorfologii Klinicznej AM w Poznaniu.
4. Oznaczanie aktywności polimerazy DNA swoistej dla HBV metodą Kaplana i wsp. Wykonywano w Pracowni Immunopatologii Instytutu Chorób Zakaźnych i Pasożytniczych AM w Warszawie.

WYNIKI

Analizując wywiad próbowano ustalić moment zakażenia HBV. Zwracano uwagę na związek czasowy pomiędzy stwierdzeniem po raz pierwszy markerów zakażenia HBV, a pobytem w szpitalu, prowadzonym leczeniem lub diagnostyką, kontaktem z chorymi zakażonymi HBV. Ustalono, że prawie połowa (14) analizowanych dzieci uległo zakażeniu w pierwszym roku życia, a następne 5 w drugim roku życia, 2 w trzecim, 4 w piątym, 3 w szóstym i 2 w jedenastym roku życia.

Na podstawie wywiadu przeprowadzono analizę prawdopodobnych źródeł zakażenia. Czworo badanych dzieci (13,3%) urodziło się z matek zakażonych HBV, sześcioro (20%) uległo zakażeniu na drodze kontaktów wewnątrzrodzinnych, u pozostałych dzieci – 20 (66,6%) zakażenie nastąpiło na drodze parenteralnej.

Stan ogólny u wszystkich omawianych dzieci był dobry, u żadnego dziecka nie stwierdzono zażółcenia białówek i powłok skórnych, wątroba była miękka, brzég równy, łagod-

Hepatologia zakaźna

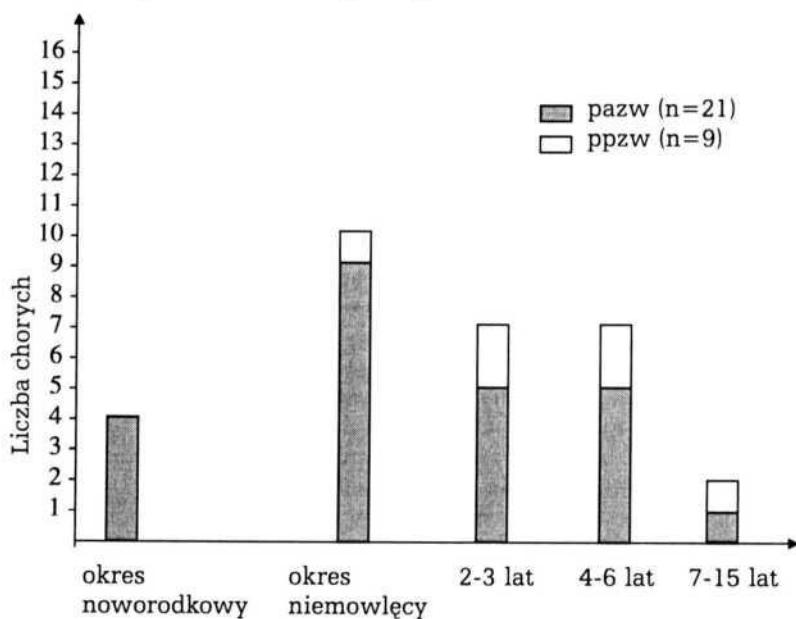
ny, powierzchnia gładka (maksymalne powiększenie - 4 cm stwierdzono u 12 dzieci), śledziona gładka, równy brzeg (maksymalne powiększenie - 3 cm, badano u 2 dzieci). Odchylenia w badaniu przedmiotowym dotyczyły głównie dzieci zakażonych w okresie niemowlęcym i w wieku 2-6 lat, głównie na drodze parenteralnej.

Analizowano średnią aktywność aminotransferazy alaninowej (AlAT) uzyskaną z 3-7 oznaczeń w ciągu roku obserwacji, dane przedstawiono w Tab.1.

Tab. 1. Średnia aktywność AlAT (U/l) w zależności od wieku, w którym nastąpiło prawdopodobne zakażenie i od drogi zakażenia.

Wiek w momencie prawdopodobnego zakażenia	Liczba chorych	Średnia aktywność AlAT U/l
okres noworodkowy	4	79 ± 76,5
okres niemowlęcy	10	85 ± 42,5
2 - 3 lat	7	122 ± 77,0
4 - 6 lat	7	73 ± 49,5
7 - 15 lat	2	59 ± 21,9
Droga zakażenia		
zakażenie w okresie okołoporodowym	4	79 ± 76,5
parenteralna	20	98 ± 60,4
wewnątrzrodzinna	6	64 ± 27,3

Ryc. 1. Liczba chorych w poszczególnych przedziałach wiekowych z uwzględnieniem rozpoznania morfologicznego (n=30).



U żadnego dziecka nie stwierdzono serologicznych wykładników zakażenia mieszanego, HBsAg oraz przeciwciała przeciw antygenowi „c” HBV (anty-HBc) były dodatnie u wszystkich chorych. HBeAg był obecny u dzieci zakażonych w okresie noworodkowym, w wieku 4–6 lat i 7–15 lat (przeciwciała anty-HBe ujemne). Natomiast u 4 z 20 dzieci zakażonych parenteralnie (dwoje zakażonych w okresie niemowlęcym i 2 w wieku 2–3 lat) nastąpiła serokonwersja w tym układzie.

Czas trwania infekcji HBV u 4 dzieci zakażonych w okresie okołoporodowym wynosił od 4 do 11 lat, u wszystkich morfologicznie rozpoznano pazw. U zakażonych na drodze kontaktów wewnątrzrodzinnych (6 chorych) infekcja HBV trwała od 1 do 6,5 lat, u 2 rozpoznano pazw, a u 4 ppzw. Wśród zakażonych na drodze parenteralnej infekcja trwała od 1 roku do 11 lat, było 5 dzieci z ppzw i 15 z pazw.

Analiza wieku dzieci, w którym nastąpiło prawdopodobnie zakażenie HBV w powiązaniu z obrazem morfologicznym wątroby przedstawia ryc. 1.

Wszystkie dzieci zakażone w okresie noworodkowym i większość zakażonych w okresie niemowlęcym miały morfologiczne wykładniki pazw. Przewagę zmian o charakterze pazw zaobserwowano również w kolejnym przedziale wiekowym (2–3 lat) – 5 przypadków, u 2 dzieci rozpoznano ppzw. U zakażonych w wieku 4 do 6 lat stwierdzono: pazw u 2 dzieci i ppzw u 5 dzieci.

Badaniem morfologicznym u wszystkich dzieci z ppzw występowały cechy aktywnej replikacji HBV, co oznacza, że 100% dzieci miało badaniem mikroskopowo-elektronowym potwierdzoną obecność nukleokapsydów wirusów w jądrach komórek wątrobowych. U 88,9% obserwowano jądra pozbawione w części swego obszaru struktury kwasów nukleinowych, co w mikroskopie świetlnym sprawia wrażenie „dziur” w chromatynie, 33,3% badanych miało powiększone, aktywne jąderka, a 22,2% jąderka liczne. Obecność nacieków śródzrazikowych potwierdzono u 77,8% chorych, a w przestrzeniach bramno-żółciowych u 100% dzieci. Nacieki zapalne składały się z: limfocytów, makrofagów, monocytów. Cechy włóknienia miało 66,7% chorych, pęczki kolagenu stwierdzono u 33,3% chorych, komórki Ito u 77,8%. Stłuszczenie hepatocytów, reprezentowane wakuolami lipidowymi, obserwowano u 55,5%. U żadnego dziecka nie stwierdzono wewnątrzwątrobowej cholestazy i rozpadu hepatocytów. Wszyscy chorzy z pazw mieli również cechy aktywnej replikacji HBV. U 100% stwierdzono nukleokapsydy wirusów w jądrach komórek wątrobowych i znaleziono opustoszenia jąder hepatocytów („dziury”), 19% miało jądra wrębiaste. Powiększone i aktywne jąderka stwierdzono u 76,2%, a jąderka liczne u 38,1%. Nacieki zapalne były widoczne zarówno w przestrzeniach bramno-żółciowych – 100%, jak i śródzrazikowo – 66,7%, składały się z limfocytów, monocytów i makrofagów. Włóknienie miało miejsce u 80,9% pacjentów, kolagen w „pęczkach” widoczny był u 66,7%, liczne komórki Ito stwierdzono u 47,6% chorych. Blizny od przestrzeni bramno-żółciowej do przestrzeni bramno-żółciowej obecne były u wielu chorych. Cholestazę wewnątrzwątrobową stwierdzono u 19,0%, a rozpad hepatocytów u 100%.

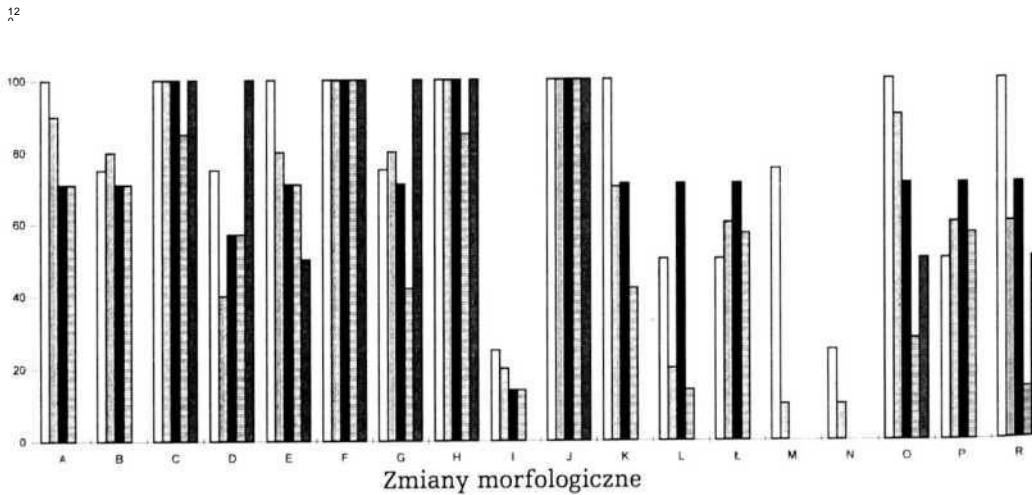
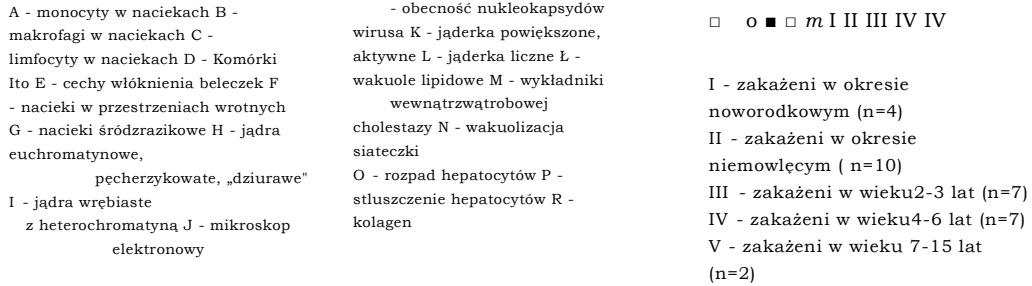
Następnie dokonano analizy występowania zmian histologicznych w badanej grupie, biorąc pod uwagę wiek i drogę zakażenia.

Analiza przedstawionych elementów oceny obrazu morfologicznego składających się na końcowe rozpoznanie ppzw lub pazw wykazuje występowanie większego odsetka rozpadu hepatocytów z następnym włóknieniem i produkcją kolagenu u dzieci zakażonych we wczesnym okresie życia. Dotyczy to głównie okresu noworodkowo-niemowlęcego i w wieku 2–3 lat. Zakażeni w późniejszym wieku mają rzadziej wyraźne cechy zapalenia aktywnego. Interesująco wygląda występowanie w/wym elementów w zależności od drogi zakażenia. Zakażeni w okresie okołoporodowym prezentowali aktywniejszą postać zapalenia, podobnie jak chorzy zakażeni na drodze parenteralnej. W grupie zakażeń wewnątrzrodzinnych rzadziej występował rozpad hepatocytów czy włóknienie, dominowała postać przetrwała zapalenia.

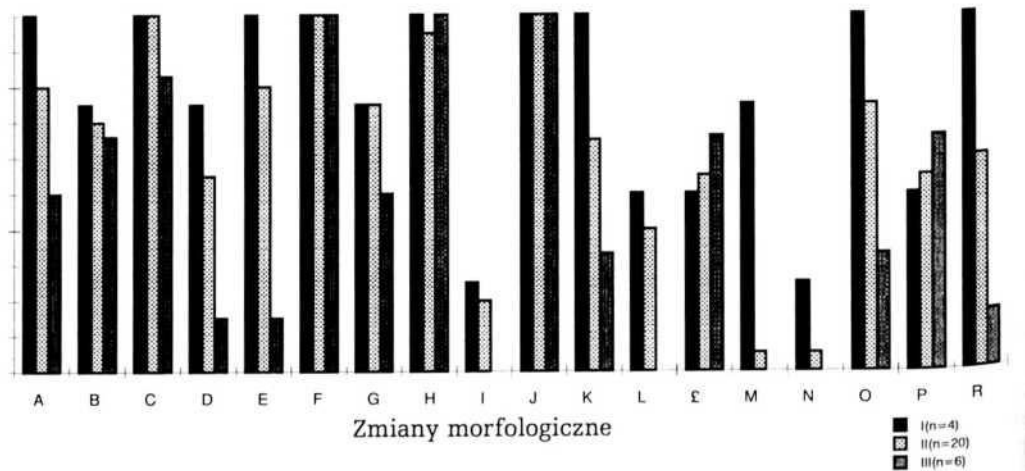
Wszystkie dzieci zakażone w okresie noworodkowym i większość zakażonych w okresie niemowlęcym miały morfologiczne wykładniki pazw. Przewagę zmian o charakterze pazw zaobserwowano również w kolejnym przedziale wiekowym (2–3 lat) – 5 przypadków, u 2 dzieci rozpoznano ppzw. U zakażonych w wieku 4 do 6 lat stwierdzono: pazw u 2 dzieci i ppzw u 5 dzieci.

Hepatologia zakaźna

Ryc. 2. Procentowy udział zmian morfologicznych ocenianych w mikroskopie świetlnym i elektronowym z uwzględnieniem wieku, w którym doszło do zakażenia.



Ryc. 3. Procentowy udział zmian morfologicznych ocenianych w mikroskopie świetlnym i elektronowym u dzieci w zależności od drogi zakażenia.



Korelacja kliniczno-morfologiczna obrazu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B

OMÓWIENIE

Czas, jaki upływa od zakażenia do postępowania diagnostycznego jest bardzo różny i w niniejszej pracy kształtował się w przedziale od 1 roku do 11 lat. W zdecydowanej większości przypadków HBsAg był wykryty przypadkowo, najczęściej w trakcie hospitalizacji z innych przyczyn (np. infekcje dróg oddechowych, badania diagnostyczne przed planowanym zabiegiem operacyjnym), a także w trakcie badań domowników chorego na ostre lub przewlekłe wzv B.

Tak długi czas, jaki upływa od momentu zakażenia do postawienia rozpoznania wynika z bardzo skąpych lub w ogóle nie występujących dolegliwości subiektywnych oraz z podkreślanego przez wielu autorów mało charakterystycznego obrazu klinicznego przewlekłego zapalenia wątroby typu B (pzw B) u dzieci [13].

W pracy wykazano, że największym ryzykiem zakażenia HBV jest obarczony okres noworodkowy i niemowlęcy oraz dalsze dwa lata życia. Ogółem w ciągu trzech pierwszych lat życia infekcji HBV uległo 70% analizowanych chorych. Najczęstszą drogą wniknięcia wirusa w tym okresie była droga parenteralna (66,6%), później zakażenie w okresie okołoporodowym (19%), a następnie droga kontaktów wewnątrzrodziny (14,3%). Wydaje się, że w związku z powszechnym wprowadzeniem szczepień u noworodków przeciwko wzv B, w najbliższych latach powinien nastąpić spadek infekcji HBV u dzieci najmłodszych.

Uważa się, że grupą dużego ryzyka są rodziny, w których choć jeden z członków wykazuje markery zakażenia HBV. Istotnym czynnikiem decydującym o rozprzestrzenianiu się zakażenia w rodzinie jest czas trwania nosicielstwa HBsAg. Im dłuższe nosicielstwo, tym większy odsetek członków rodzin wykazuje obecność markerów zakażenia HBV [2]. W materiale polskim markery zakażenia HBV wykryto u blisko 40% członków rodzin nosicieli HBsAg [2].

W analizowanej grupie aż 66,6% dzieci z pzw B uległo infekcji na drodze parenteralnej w związku z pobytem w szpitalu, diagnostyką lub leczeniem ambulatoryjnym. Zdecydowanie najliczniejszą grupę stanowiły dzieci, które były hospitalizowane wielokrotnie, głównie z powodu infekcji dróg oddechowych lub przewlekłe z powodu choroby rozrostowej. Mimo coraz szerszego stosowania drobnego sprzętu jednorazowego użytku, pobyt w szpitalach nadal wiąże się ze zwiększonym ryzykiem zakażenia HBV, a endemie na oddziałach pediatryczno-onkologicznych mogą dotyczyć 90% pacjentów [15].

Przebieg kliniczny pzw B u dzieci w większości doniesień piśmiennictwa ma łagodny charakter [20]. Najczęstszym odchyleniem w badaniu przedmiotowym jest powiększenie narządów mięsnych, spotykane w różnym odsetku przypadków [4, 6, 12]. W badanej grupie najczęściej spotykano odchylenia u zakażonych na drodze parenteralnej i w okresie niemowlęcym i wieku 2-6 lat.

W żadnej analizowanej podgrupie nie było prawidłowych średnich wartości AlAT. Najwyższą wartość zaobserwowano w grupie dzieci zakażonych w wieku 2-3 lat, a biorąc pod uwagę drogę zakażenia, najwyższe wartości stwierdzano u zakażonych na drodze parenteralnej. Wartości AlAT były bardzo zmienne, jednak zawsze w poszczególnych grupach większe od normy. Podkreślają to również inni autorzy, którzy sugerują, iż może to być parametr pomocny w określeniu zbliżającej się serokonwersji w układzie „e” [13, 16].

W analizowanej grupie, w zdecydowanej większości, występował następujący wzór serologiczny: HBsAg(+), HBeAg(-), anti-HBe(-), anti-HBc(-). Tylko 4 dzieci wyeliminowało antygen „e”, byli to chorzy zakażeni w wieku niemowlęcym (dwoje) i w wieku 2 lat (dwoje), wszyscy ulegli zakażeniu na drodze parenteralnej. Nie obserwowano eliminacji HBeAg u żadnego dziecka z pozostałych grup.

Ciekawym wydaje się, że u 2 dzieci - HBsAg(+), HBeAg(-), anti-HBe(+)- z punktu widzenia morfologicznego występowało pzw, mimo, że uważa się, iż eliminacja „e” wiąże się ze zmniejszeniem aktywności procesu zapalnego [16]. Wielu autorów podaje, że na około rok przed eliminacją HBeAg następuje „pogorszenie w obrazie histologicznym [13,16]. U

Hepatologia zakaźna

omawianych 2 dzieci z pazw nie można wiązać tego rozpoznania z eliminacją HBeAg, ponieważ serokonwersja u nich dokonała się około 2 lata wcześniej.

W piśmiennictwie istnieje rozbieżność poglądów dotyczących reprezentatywności materiału pobranego drogą biopsji cienkoigłowej. Część autorów uważa, że ślepo pobrany, niewielki wycinek mięszu nie może być miarodajny dla oceny rozległości procesu zapalnego w całym narządzie. Jednak z uwagi na praktyczną stronę diagnostyki hepatologicznej wszyscy autorzy podkreślają znaczenie biopsji, jej stosunkowo niewielką inwazyjność w porównaniu z laparotomią oraz dobrą korelację zmian morfologicznych w porównaniu z oceną histopatologiczną całego narządu. Wg wielu autorów niezbędnym kryterium dla właściwej oceny bioptatu wątroby jest występowanie w nim co najmniej 3 przestrzeni bram- no-żółciowych [3].

W analizowanej grupie chorych pazw rozpoznano u 21 pacjentów, a ppzw u 9. U wszystkich dzieci zakażonych w okresie okołoporodowym rozpoznano pazw, z towarzyszącymi w 75% przypadków wykładnikami cholestazy. W oparciu o obserwowane włóknienie, w tym szczególnie produkcję kolagenu, można wnioskować, że obraz ten zależy od długości zakażenia. Im młodsze dziecko w momencie zakażenia, tym większe ryzyko wystąpienia aktywnej postaci zapalenia. Niewątpliwie istotną rolę może odgrywać tutaj niedojrzałość układu immunologicznego [1,6]. U dzieci zakażonych na drodze kontaktów wewnątrzrodzinnych u większości pacjentów 67% rozwinęła się postać przetrwała zapalenia. W dostępnej literaturze nie znaleziono wytłumaczenia tego zjawiska.

W ocenie mikroskopowo-światłowej dominowały nacieki zapalne w przestrzeniach bram- no-żółciowych i u niektórych śródzrakowe. Jako następstwo procesów destrukcyjnych pojawiło się włóknienie. U niektórych pacjentów z pazw obserwowano mostki portalno-po-rtalne, u nikogo nie zauważono mostków portalno-centralnych i centralno-centralnych, co może świadczyć o mniejszym nasileniu procesu aktywnego [3].

Badanie w mikroskopie elektronowym wykazało obecność charakterystycznych cząstek nukleokapsydu HBV u wszystkich analizowanych chorych. Nukleokapsydy wirusa wypełniały niekiedy całe jądra z pozostawieniem wąskiego rąbka chromatyny. Niejednokrotnie pojedyncze cząstki udało się wykryć w cytoplazmie, poza zbiornikami siateczki endoplazmatycznej lub w świetle jej kanałów. Na uwagę zasługuje fakt, że u 4 pacjentów, u których wzór serologiczny był następujący: HbsAg(+), HBeAg(-), anty-HBe(-) następowała również aktywna replikacja wirusów. Potwierdzają to doniesienia innych autorów mówiące, że serokonwersja w układzie „e” nie zawsze jest związana z zakończeniem replikacji wirusa [5, 8, 9].

WNIOSKI

1. Niezależnie od drogi zakażenia i wieku w momencie zakażenia przebieg kliniczny pazw B u dzieci jest na ogół bezobjawowy i do wykrycia choroby dochodzi najczęściej przypadkowo.
2. U dzieci zakażonych HBV w pierwszych 3 latach życia dochodzi częściej do rozwoju pazw, a u zakażonych w późniejszym okresie rozwija się najczęściej postać przetrwała pazw niezależnie od drogi zakażenia.
3. Czas trwania infekcji HBV nie ma wpływu na postać pazw.
4. Badanie bioptatu wątroby w mikroskopie elektronowym wykazuje obecność nukleokapsydów HBV w jądrach i niekiedy cytoplazmie u wszystkich chorych, nawet u tych, u których nastąpiła serokonwersja w układzie „e”.

PIŚMIENNICTWO

1. Bartolotti E, Calzia R., Cadrobbi P. i wsp. J. Pediatr. 1990; 116: 552-555
2. Burczyńska B., Pawłowska J., Bąk W. i wsp. Zesz. Hepatolog. 1991; 4: 84-93
3. Chadwick R.G., Galizzi J., Heathcote Jr.J. i wsp. Gut. 1979; 20: 372-377

4. Czerwionka-Szaflarska M., Halota W., Janczewska M. i wsp. *Pediat. Pol.* 1992; 67-Suplement do nr 1-2: 42-46
5. Davis G.L., Hoofnagle J.H. *Gastroenterology.* 1987; 92: 2028-2030
6. Drapińska I., Styczyński J., Smukalska E i wsp. *Pediat. Pol.* 1992; 67-Suplement do nr 1-2: 30-32
7. Gabriel A., Ziolkowski A. *Hepatology.* 1997; 4-Suplement 1: 18-24
8. Gandhi B.M., Irshad M., Acharya S.K. i wsp. *Gastroenterol.Jpn.* 1990; 25: 258-264
9. Juszczak J. *Hepatitis B, D i C Warszawa 1992*, str. 25-59
10. Knodell R.G., Ishak K.G., Black W.C. i wsp. *Hepatology* 1991; 1: 431
11. Kowala-Piaskowska A., Wysocki J.: Intrafamilial spread of hepatitis B virus (HBV) infection as a cause of chronic hepatitis in children. *Basel Liver Week 1992, Basel, October 18-20, 1992. Materiały.*
12. Nałęcz A., Janowicz W., Burczyńska B. i wsp. *Pediat. Pol.* 1991; 66: 3-7
13. Nałęcz A., Woynarowski M., Pawłowska J. I wsp. *Pediat. Pol.* 1992; 67-Suplement do nr 1-2: 55-61
14. Nazarewicz de Mezer T., Nowosławski A. *Choroby wątroby i dróg żółciowych, PZWL, Warszawa 1991: 262-277*
15. Pawłowska J., Burczyńska B., Socha J. I wsp. *Pediat. Pol.* 1992; 67-Suplement do nr 1-2: 120-126
16. Ruiz-Moreno M., Camps T., Aguado J.G. i wsp. *Arch. Dis. Child.* 1989; 64: 1165-1169
17. Sherlock S. *Lancet* 1976; 14: 354-356
18. Vazquez J.J. *Histol. Histopathol.* 1990; 5: 379-386
19. Wysocki J., Służewski W., Kowala-Piaskowska A. I wsp. *Post. Neonat.* 1992; 3: 374-382
20. Zancan L., Chiatamonte M., Ferrarese N. I wsp. *J. Pediatr. Gastroenterol. Nutr.* 1990; 11: 380-384

Kliniczne aspekty bąblowicy wątroby

Anna Grzeszczuk, Danuta Prokopowicz

Klinika Obserwacyjno-Zakaźna Akademii Medycznej w Białymstoku

Człowiek bywa żywicielem pośrednim trzech gatunków tasiemców z rodzaju *Echinococcus* (E.): *E. granulosus*, *E. multilocularis* i *E. vogeli*. W wyniku połknięcia inwazyjnego jaja rozwijają się postacie larwalne, różniące się obrazem morfologicznym i powodujące odmienny przebieg choroby. Inwazje *E. vogeli* występują wyłącznie w Ameryce Południowej [22].

Obraz kliniczny

Bąblowica jednojamowa

W praktyce klinicznej najczęściej mamy do czynienia ze zmianami ogniskowymi, spowodowanymi rozwojem tasiemca jednojamowego – *E. granulosus*. Są one zwykle wykrywane przypadkowo podczas badań obrazowych. Postacie larwalne pasożyta rosną do rozmiarów 5–10 cm podczas pierwszego roku i mogą pozostawać bezobjawowe przez kolejne lata. Larwa rozwija się najczęściej w prawym płacie wątroby (50 – 70%), w płucach (20 – 30%), rzadziej w innych narządach, jak mózg, serce, kości (<10%) [22].

Rozrost torbieli może doprowadzić do klinicznych następstw pod postacią:

- zakażenia cysty z powstaniem ropnia;
wrośnięcia do przewodów żółciowych (lub drzewa oskrzelowego) i zamknięcia światła z możliwością wtórnej infekcji bakteryjnej;
 - pęknięcia torbieli z następową reakcją alergiczną, w skrajnych przypadkach przebiegającą pod postacią wstrząsu anafilaktycznego;
 - rozsięwu inwazji po naturalnym lub jatrogennym przerwaniu ciągłości ścian torbieli.
- Następstwa te dotyczą poniżej 10% zarażonych, gdyż choroba zwykle jest samoograniczająca się i część zarażonych nie szuka pomocy medycznej.

Wstępne rozpoznanie opiera się na wynikach badań obrazowych, najczęściej ultrasonografii, rzadziej tomografii komputerowej i rezonansu magnetycznego. Metody te pozwalają śledzić naturalny przebieg inwazji a także monitorować odpowiedź na leczenie. Najnowsza klasyfikacja, opracowana przez Caremani i wsp. [6] grupuje torbiele w 7 typów i pozwala śledzić historię naturalną inwazji, tj. okres proliferacji i inwolucji.

Znajomość charakterystycznych cech obrazu ultrasonograficznego jest szczególnie istotna, gdyż testy serologiczne, stosowane do potwierdzenia zarażenia w lokalizacji wątrobowej są czułe w 80 – 100% a specyficzne w 88 – 96%, zaś w przypadku inwazji płuc czułość ta obniża się do 50 – 56% [22]. Aktualnie najczęściej stosowane są testy hemaglutynacji pośredniej i ELISA. W praktyce klinicznej ujemny wynik testu serologicznego nie wyklucza tej parazytozy.

Bąblowica wielojamowa

Inwazje *E. multilocularis* wzbudzają ostatnio duże zainteresowanie ze względu na agresywny charakter rozwoju pasożyta i złe rokowanie [4, 24].

Pierwszy w Polsce opis zarażenia człowieka *E. multilocularis* pochodzi z 1955 roku [29]. W następnych latach opisywano pojedyncze przypadki zarażeń, w tym wykrytych badaniem autopsyjnym [2, 11, 15, 24]. W 1996 Sokolewicz-Bobrowska i wsp. [27] zidentyfikowali ogniskowe, endemiczne występowanie bąblowicy wielojamowej u pacjentów z okolic Kętrzyna, w tym dwa zachorowania rodzinne [3]. Jest to pierwszy w Polsce udokumentowany opis zachorowania zbiorowego na tę bąblowicę. Aktualnie prowadzony jest ogólnoeuropejski rejestr zachorowań, koordynowany w Polsce przez prof. Pawłowskiego. Potwierdzono 16 przypadków bąblowicy wielojamowej w latach 1996–1998 [23].

Rozwijająca się z pojedynczej onkosfery postać larwalna zagnieżdża się najczęściej w wątrobie, rzadziej w płucach, mózgu, skórze także innych narządach [4, 32]. Pierwotne, pozawątrobowe umiejscowienie pasożyta jest niezwykle rzadkie [32]. Rozwój larwy jest powolny i może upłynąć 10 lat od zarażenia do wystąpienia pierwszych objawów choroby [1].

Wzrost bąblowca w miększu wątroby, powolny, naciekający w postaci tubularnych struktur, prowadzi do nieuchronnej destrukcji tego narządu. Klinicznie przypomina to rozrost nowotworowy. Cechą charakterystyczną jest brak torebki żywiciela wokół wzrastającego pasożyta oraz nieciągłość warstwy rozrodczej, co warunkuje „agresywność” procesu. Postęp choroby prowadzi do niszczenia wątroby, dróg żółciowych i naczyń, powodując zażółcenie powłok, nadciśnienie wrotne z jego klinicznymi konsekwencjami: krążeniem obocznym, wodobrzuszem, żylakami przełyku wraz z krwotokami. Z wątroby inwazja szerzy się przez ciągłość bądź drogą przerzutów [32]. Zrozumiała jest więc ważność wczesnej diagnostyki. Zmiany chorobowe niezaburzające wydolności wątroby mogą być skutecznie leczone. Choroba prowadzi do zgonu w ciągu 10 – 15 lat u ponad 90% osób nieleczonych [32]. Do niedawna uważano, iż nieleczone zarażenie *E. multilocularis* prowadzi nieuchronnie do śmierci. Obecnie wiadomo, iż pod wpływem mechanizmów obronnych żywiciela, larwa może ulec zwyrodnieniu, zwapnieć i zaniknąć. Proces taki prowadzi do samowyleczenia, jednak częstość jego występowania jest nieznana [32].

W kontroli inwazji pasożytniczej *E. multilocularis* odgrywają rolę indywidualne czynniki immunologiczne gospodarza. Jedynie u 10 – 30% osób eksponowanych na zarażenie rozwinię się kliniczna postać bąblowicy wielojamowej. Badania Eiermana i wsp. [10]

określające antygeny układu HLA u zarażonych ludzi wykazały, iż HLA-DRB1*11 może stanowić ochronę w przebiegu inwazji, zaś HLA-DQB1*02 – wskazuje na ryzyko postępu choroby.

Diagnostyka bąblowicy wielojamowej oparta jest na wywiadzie epidemiologicznym, ocenie klinicznej, badaniach serologicznych [32] i obrazowych, jak: ultrasonografia (USG), komputerowa tomografia (KT) oraz rezonans magnetyczny [4]. W USG stwierdza się zazwyczaj obszary o niejednorodnej echogeniczności z licznymi hiperechogenicznymi ogniskami zwapnień i ogniskami hipoechogenicznymi odpowiadającymi zmianom martwiczym. Obrzeże zmiany jest nieostro ograniczone, o niskiej echogeniczności. [7]. Badanie USG pozwala na wykazanie nacieku i wtórnego poszerzenia dróg żółciowych, naciekania łożyska wrotnego i układu żył wątrobowych, jak też pozawątrobowej lokalizacji zmian. W badaniu KT stwierdza się zazwyczaj niewzmocniający się po podaniu środka kontrastowego obszar hypodensji, rzadziej zmiana jest izodensyjna w badaniu bez środka kontrastowego [21].

Badania inwazyjne (biopsje torbieli i tkanki ją otaczającej) są zawsze ryzykowne i często nie dają jednoznacznej odpowiedzi wobec rozległych ognisk martwicy współistniejących z aktywnym procesem inwazji pasożytniczej.

Nowością w ostatnich latach jest próba wykorzystania pozytronowej tomografii emisyjnej w ocenie aktywności procesu chorobowego [25]. Jest to o tyle istotne, iż wobec niemożności oceny czy ma się do czynienia z wciąż żywym i aktywnym pasożytem w przypadkach nieoperacyjnych, chory skazany jest na wieloletnią chemioterapię [32].

Czułe i swoiste, zarówno w rozpoznawaniu jak i w różnicowaniu bąblowicy jedno- i wielojamowej są testy serologiczne z antygenem Em2, Em2 plus [16] i Em18 [17]. Jest to rzeczisty postęp.

Leczenie

Na podstawie długoletnich doświadczeń zaobserwowano, że łatwiej jest udowodnić brak efektu leczenia niż jego skuteczność [26].

Bąblowica jednojamowa (*E. granulosus*)

Do niedawna jedyną możliwością było leczenie operacyjne, obarczone jednak możliwością nawrotów choroby oraz śród- i pooperacyjną śmiertelnością [26, 32]. Wynosiła ona w związku z pierwszym zabiegiem od 0,5% do 4% i rosła przy kolejnych interwencjach [wg 32].

Powikłaniem resekcji torbieli bąblowcowej i stosowania środków skoleksobójczych może być cholangitis scleroticans [31].

Ponad 20 letnie doświadczenia ze stosowaniem pochodnych benzimidazolu, dowiodły iż preparaty te mają działanie parazytobójcze a nie „parazytostatyczne” jak pierwotnie sądzono [26]. W badaniach Franchi i wsp. [14] wykazano większą skuteczność albendazolu (82%), niż mebendazolu (65%), co zgodne jest z wcześniejszymi obserwacjami [9, 32]. W obserwacji tych autorów 882 cyst występujących u 448 pacjentów 74% wykazywało zmiany degeneracyjne, potwierdzone obrazami USG lub KT po 3–6 miesięcznym ciągłym podawaniu albendazolu bądź mebendazolu. Dalsza obserwacja po zaprzestaniu leczenia potwierdziła zmiany degeneracyjne w dalszych 25% cyst; jednak w 25% torbieli obserwowano cechy regeneracji pod postacią wzrostu wielkości, upłynnienia treści czy ponownego przylegania błon do ściany torbieli [14]. Częstość niepowodzeń terapeutycznych była podobna przy stosowaniu każdego z tych leków, jednak brak efektów leczenia obserwowano częściej w torbielach zawierających cysty siostrzane, zlokalizowanych w płucach i wśród dzieci [14]. Ponad ¾ nawrotów wystąpiło w ciągu 2 lat od zaprzestania leczenia, jednak obserwowano korzystny efekt leczenia w ponad 90% powyższych cyst po ponownym włączeniu terapii.

Zalecane aktualnie dawki albendazolu to 10 – 15 mg/kg masy ciała na dobę, zaś mebendazolu, 40 – 50 mg/kg masy ciała. Wchłanianie albendazolu zwiększa przyjmowanie leku z pokarmami tłustymi [22].

Hepatologia zakaźna

Pojawiły się doniesienia o wyższej skuteczności skojarzonej terapii albendazolem i prazikwantelem (25 mg/kg/dobę) w porównaniu ze stosowaniem jedynie albendazolu zarówno w bąblowicy wątroby [20] jak i brzusznej [8].

Zaletą chemioterapii jest jej nieinwazyjność oraz niewielka toksyczność [26, 32]. Objawami niepożądanymi długotrwałego leczenia bywają: neutropenia, wzrost aktywności wątrobowych enzymów wskaźnikowych odwracalne po przerwaniu leczenia oraz wyłysienie [22, 26].

Postępem ostatnich lat jest wprowadzenie przezskórnej puncji, połączonej z aspiracją, podaniem środka protoskoleksobójczego z następową reaspiracją, pod osłoną chemioterapii, - PAIR (puncture, aspiration, injection, reaspiration) [12, 13, 18]. Próby zastosowania tej techniki podjęto w Klinice Chorób Pasożytniczych i Tropikalnych w Poznaniu [20]. Jakkolwiek stanowi to wyzwanie wobec klasycznych powikłań bąblowicy, jak rozsiew czy reakcja anafilaktyczna, to doświadczenia pochodzące od ponad 1000 pacjentów dowodzą bezpieczeństwa, skuteczności i uzasadnienia ekonomicznego tej metody wg Filice i wsp oraz Khuroo i wsp. [12, 13, 18].

Bąblowica wielojamowa (*E. multilocularis*)

Leczenie bąblowicy wielojamowej, mimo postępu ostatnich lat, pozostaje trudne. W przypadkach operacyjnych zalecana jest resekcja całej zmiany ogniskowej [32] z marginesem zdrowej tkanki, analogicznie do procesu nowotworowego. Chirurgiczne usunięcie zmiany chorobowej nie zwalnia z konieczności chemioterapii. W przypadkach nieoperacyjnych, pozostaje długoletnie leczenie lekami przeciw pasożytniczymi [32]. Najskuteczniejszy jest albendazol.

W przypadkach znacznego uszkodzenia wątroby, prowadzącego do niewydolności narządu, możliwy jest przeszczep [32]. Światowe doświadczenia w tym zakresie wykazują, że immunosupresja po przeszczepie wątroby stwarza zagrożenie ponownym rozwojem bąblowca w przeszczepionym narządzie [5].

W warunkach doświadczalnych prowadzone są badania nad zastosowaniem interferonu gamma u myszy z bąblowicą wielojamową [19].

Tabela Charakterystyka chorych z bąblowicą wielojamową aktualnie obserwowanych

w Klinice Obserwacyjno-Zakaźnej AM w Białymstoku

	wiek w chwili rozpoznania	miejsce zamieszkania	okres obserwacji	leczenie	badania serologiczne	powikłania	uwagi, rokowanie
1. T.W.	19	okolice Kętrzyna	1994-2000	hemihepatectomia	OHB1:200	narastanie cholestazy, kwalifikowany do przeszczepu	Zachorowanie rodzinne rokowanie złe
2. G. S-K.	40	Kętrzyn	1994-2000	wielokrotne operacje, resekcja zmiany ogniskowej; operacje naprawcze dróg żółciowych, zentel (15 x 4 tygodnie)	Em2plus - dodatni	nawracające zapalenia dróg żółciowych	rokowanie dobre
3. W.S.	33	okolice Kętrzyna	1998-2000	częściowa resekcja zmiany, protezowanie dróg żółciowych, krótkotrwała chemioterapia (zentel 4 x 4 tygodnie)	OHB 1:200 Em2plus - dodatni	narastanie cholestazy, postęp choroby	rokowanie trudne
4. I.P.	27	okolice Kętrzyna	1994-2000	krótkotrwała chemioterapia (zentel 4 tygodnie, praziquantel, 3 miesiące)	Em2plus - dodatni	postęp choroby nie stwierdzany	rokowanie dobre

Obserwacje własne

Coraz częstsze wykrywanie bąblowców, zarówno u zwierząt jak i u ludzi, stwarza konieczność określenia stopnia ryzyka zarażenia populacji ludzkiej, a w szczególności wykrycia środowisk endemicznych, źródeł i dróg szerzenia inwazji, potencjalnych grup ryzyka i częstości zarażeń wśród ludzi. Zebranie tych informacji pozwoli na profilaktyczne stosowanie leków przeciw pasożytniczych u zwierząt wolno żyjących, głównie lisów, co zminimalizuje ryzyko zarażenia ludzi.

Zdobyte przez lata doświadczenie kliniczne, postęp metod diagnostycznych, uwrażliwienie lekarzy na tę pasożytozę stwarza szansę uratowania bądź przedłużenia życia osób zarażonych.

Piśmiennictwo

1. Ammann R., Eckert J.: *Gastroenterol Clin North Am* 1996, 25, 655.
2. Barwójuk-Machała M., Sobaniec Łotocka M., Panasiuk A. *Pol Tyg Lek* 1994, 49, 623.
3. Bobrowska E., Grzeszczuk A., Barwójuk-Machała M. i wsp. *Przeł Epidemiol* 1996, 50, 287.
4. Brehm K., Kern P., Hubert K., Frosch M.: *Parasitol. Today* 1999, 15, 351.
5. Bresson-Hadini S., Koch S., Beurton I i wsp. *Hepatology* 1999, 30, 857.
6. Caremani M i wsp. *Clin Ultrtrasound* 1996, 24, 421.
7. Choji K, Fujita N. Chen M. i wsp. *Clin Radiol* 1992, 46, 103.
8. Cobo F., Yarnoz C., Sesma B. i wsp. *Trop Med Int Health* 1998, 3, 462.
9. Davis A., Dixon H., Pawłowski Z. *Bull World Health Org.* 1989, 67, 503.
10. Eierman T.H., Bettens F., Tiberghien P. i wsp. *Tissue-Antigens* 1998, 52, 124.
11. Felczak-Korzybska I.: *Biul Met Org IMMiT* 1994, 27, 186.
12. Filice C., Brunetti E. *N Engl J Med* 1998, 338, 392.
13. Filice C., Brunetti E. *Acta Tropica* 1997, 64, 95
14. Franchi C., Di-Vico B., Teggi A. *Clin Infect Dis* 1999, 29, 304-9.
15. Głuszcza A., Kalczak M. *Pol Tyg Lek* 1960, 15, 559.
16. Gottstein B., Jacquier P., Bresson-Hadini S. *J Clin Microbiol* 1993, 31, 373.
17. Ito A., Schantz P.M., Wilson J.F. *Am J Trop Med Hyg* 1995, 52, 41.
18. Khuroo M.S., Wani N.A., Javid G i wsp. *N Engl J Med* 1997, 337, 881.
19. Liance M., Richard-Blum S., Emery I. i wsp. *Parasite* 1998, 5, 231.
20. Mahomed A.E., Yasawy M.I., Al-Karawi M.A. *Hepatogastroenterology* 1998, 45, 1690.
21. Maier W. *Hepatogastroenterology* 1983, 30, 83.
22. Mandell G.L., Bennett J.E., Dolin R.: *Mandell, Douglas and Bennett's principles and practice of infectious diseases. Fourth edition.* Churchill Livingstone Inc. 1995, New York.
23. Nahorski W., Kacprzak E., Stefaniak J., Grzeszczuk A. *Hepatol Pol* 2000, w druku
24. Pawłowski Z.S. *Hepatol Pol* 1995, 2, 31-32.
25. Reutr S., Schirrmeyer H., Kratzer W. i wsp. *Clin Infect Dis* 1999, 29, 1157.
26. Schantz P.M. *Clin Infect Dis* 1999, 29,
27. Sokolewicz-Bobrowska E., Grzeszczuk A., Barwójuk-Machała M. *Falk Symposium No 92. New trends in hepatology. St. Petersburg, Russia* 1996.
28. Sokolewicz-Bobrowska E., Grzeszczuk A., Wierzbicka I. i wsp. *Wiad Parazytol* 1999, 45, 225.
29. Sowiakowski J. *Pol Tyg Lek* 1955, 10, 46.
30. Stefaniak J. *Rozprawa habilitacyjna, Poznań* 1996.
31. Stianow G., Genchev G., Dimitrow A. *Khirurgia-Sofia* 1998, 51, 40.
32. WHO informal working group on echinococcosis. *Bull World Health Organ.* 1996, 74, 231.

CHOROBY PRZENOSZONE DROGĄ PŁCIOWĄ

Nowe kierunki terapii HIV/AIDS oraz problemy związane z jej realizacją

Andrzej Gładysz, Brygida Knysz

Postęp w badaniach nad patogenezą i terapią zakażeń HIV, jaki dokonał się w ostatnich latach, doprowadził do opracowania metod leczenia, które hamują replikację wirusa w stopniu pozwalającym na wykrywanie wirerii nawet przez 2–3 lata. Efekt ten można obecnie uzyskać stosując leki antyretrowirusowe działające na dwa elementy cyklu biologicznego HIV, a mianowicie hamujące aktywność odwrotnej transkryptazy i proteazy.

Niestety, pomimo niekwestionowanej skuteczności takiej terapii, nie udało się dotychczas uzyskać całkowitej eradykacji wirusa. (1,40)

Istotne znaczenie dla kontroli zakażeń HIV ma dokładne poznanie zjawisk związanych z replikacją wirusa oraz mechanizmów rozwijających się zaburzeń immunologicznych. Uważa się, że kompleksowa terapia antyretrowirusowa powinna zawierać leki o punktach uchwytu (38):

A. hamujące poszczególne etapy replikacji wirusa HIV.

B. wpływające na poprawę ilościową i jakościową układu immunologicznego.

Do pierwszej grupy należą preparaty hamujące fuzję wirusa z komórką, jego replikację i dojrzewanie, do drugiej zaś związki powodujące wzmocnienie istniejącej odpowiedzi immunologicznej, produkcję nowych grup komórek immunologicznych oraz generację swoistej odpowiedzi immunologicznej skierowanej przeciwko komórkom zakażonym HIV.

Celem kompleksowej terapii antyretrowirusowej jest redukcja wirerii, odnowa układu immunologicznego oraz ochrona wrażliwych komórek przed zakażeniem (38).

Ad A:

I. Terapia związana z wczesną fazą replikacji HIV.

–Fuzja wirusa z komórką

Szczególnie istotne jest opracowanie leków działających na wczesne fazy replikacji, co pozwoliłoby na zahamowanie rozprzestrzeniania zintegrowanych z komórkami gospodarza prowirusów. Jest to podstawowy, na obecnym etapie terapii, problem uniemożliwiający eradykację HIV. Takie leczenie polega na hamowaniu wiązania i fuzji wirusa z komórką gospodarza. Są to zjawiska złożone, wymagające interakcji wirusowych białek receptorowych gp120 i gp41 z receptorami komórkowymi i koreceptorami (5). Glikoproteina gp41 poprzez C-koniec jest zakotwiczona w komórcie wirusa. Zmiany konformacyjne gp41 prowadzą do interakcji końców C i N i zbliżenia błon obu komórek ułatwiającego fuzję (4). Udało się opracować peptyd naśladujący C-koniec gp 41, o nazwie pentafuzyd -T20 (20). Obecnie prowadzone są badania I i II fazy oceniające skuteczność i bezpieczeństwo tego preparatu. Wykazano, że dożylne podawanie pentafuzydu osobom zakażonym HIV przez okres kilku tygodni powoduje spadek wirerii o 99%. Do innych inhibitorów związanych z glikoproteinami należą inhibitory glukozydazy komórkowej (16). Glikozylacja jest zjawiskiem związanym z syntezą m.in. glikoprotein HIV. Dotychczas opracowano kilka inhibitorów glu-

Nowe kierunki terapii HIV/AIDS oraz problemy związane z jej realizacją

kozydazy m.in. kastanosperminę (39). Niestety preparaty te, z powodu nieselektywnego hamowania glikozylacji również komórkowej, nie zostały poddane dalszym badaniom.

Blokujące działanie na gp120 wywierają naładowane ujemnie polianiony, które łączą się z dodatnio naładowanymi cząstkami glikoproteiny.

- Chemokiny i receptory dla chemokin jako cel terapii antyretrowirusowej

Niezwykle istotnym odkryciem było wykazanie w 1995 roku, że do zakażenia komórki przez HIV niezbędne są receptory dla chemokin (7). Badania nad samymi chemokinami poszły w dwóch kierunkach:

1. identyfikacji chemokin, receptorów i ich roli jako koreceptorów swoistych dla HIV (3,7, 23).
2. opracowania terapii mającej na celu zapobieganie wykorzystaniu przez HIV receptorów dla chemokin (7,23).

Zakażenie HIV inicjuje interakcje glikoproteiny otoczki wirusowej (gp120/41) z receptorem CD4+ i koreceptorem. Szczepy HIV o tropizmie do makrofagów namnażają się m.in. w makrofagach i limfocytach CD4+, wykorzystując receptor CCR5 (3, 7, 28, 30). Ze względu na rodzaj koreceptora te szczepy sklasyfikowano jako R5. Koreceptor CCR5 wykorzystywany jest przez wszystkie szczepy pierwotne HIV, niezależnie od podtypu genowego. Szczepy HIV o tropizmie do limfocytów CD4+ replikują się pierwotnie w tych komórkach, wykorzystując jako koreceptor receptor CXCR4 i dlatego należą do grupy X4 (3, 7). Wirusy, które jako koreceptory wykorzystują zarówno CCR5 i CXCR4 określa się terminem R5X4(3,7,28,30). Typ R5 należy do najczęściej przekazywanych między ludźmi i jest obecny we wczesnej fazie zakażenia (30).

Celem terapii związanej z chemokinami jest uniemożliwienie interakcji otoczki wirusa z powierzchnią komórki gospodarza. Można to uzyskać przez blokowanie ekspresji koreceptorów na powierzchni komórki lub blokowanie koreceptorów (5, 23,28),.

•Regulacja ekspresji koreceptorów.

Wykazano, że obniżenie liczby koreceptorów z 2000 do 700/komórkę w znacznym stopniu ogranicza wrażliwość na zakażenie (28). Również wykazano, że osoby z delecją w 32 parze zasad kodujących CCR5. będące homozygotami w tym zakresie wykazują wysoką oporność na zakażenie HIV-1. Oporność jest wynikiem obniżonej ekspresji CCR5 na powierzchni komórki. Jednocześnie nie stwierdzono, aby taka mutacja wpływała na rozwój jakichkolwiek chorób (23). Z przedstawionych powyżej obserwacji wynikają badania nad opracowaniem terapii polegającej na sterowaniu ekspresją CCR5.

Zaobserwowano, że aktywacja limfocytów CD4+ za pomocą przeciwciał monoklonalnych skierowanych przeciw białkom powierzchniowym limfocytów CD23+ i CD28 + prowadzi do powstania komórek pamięci immunologicznej, które regulują ekspresję CCR5 i produkują czynniki hamujące replikację wirusów R5 (30). Komórki aktywowane w ten sposób są odporne na infekcję typami R5, lecz wrażliwe na zakażenie R4. Ponadto wykazano, że w ten sposób indukowana oporność na zakażenie ma charakter przejściowy i zanika w ciągu tygodnia od usunięcia czynnika stymulującego (30).

Przeprowadzono badania polegające na podaniu osobom zakażonym HIV-1, we wlewie kropkowym, trzykrotnie ich własnych limfocytów, które uprzednio stymulowano w hodowlach komórkowych przeciwciałami monoklonalnymi skierowanymi przeciw epitopom CD3 + i CD28+. U dwóch z trzech osób poddanych badaniu liczba limfocytów CD4+ była podwyższona przez ponad cztery miesiące. Mała liczba przypadków wynikająca z wysokich kosztów badań oraz niedogodności związanych z drogą podawania limfocytów nie pozwalają na wyciągnięcie ostatecznych wniosków. Niemniej jednak uzyskane wyniki badań sugerują, że manipulacja sygnałem z CD28 + , poprzez ograniczenie ekspresji koreceptora CCR5, może mieć znaczenie terapeutyczne (30).

Do ograniczenia ekspresji koreceptorów na powierzchni komórki wykorzystano rybo- zymy, niedawno odkryte cząstki RNA o właściwościach enzymatycznych, posiadające zdol

Choroby przenoszone drogą płciową

ność cięcia innych łańcuchów RNA (15). Cięcie mRNA przez rybozomy może zapobiegać lub osłabiać translację białek kodowanych przez sekwencje przeciwko którym skierowane są rybozomy. Przeprowadzono badania, w których użyto rybozomy skierowane przeciwko sekwencjom gag i sekwencji liderowej na końcu 5' genomu HIV-1. Sekwencja liderowa nie ma zdolności kodowania, ale posiada sygnały umożliwiające właściwe umiejscowienie na mRNA rybosomów dokonujących jego translacji. Obecnie udało się stworzyć rybozomy swoiste dla CCR5 i wykazano in vitro zdolność cięcia. Niestety ten rodzaj terapii genowej jest w znacznym stopniu ograniczony z powodu wysokich kosztów badań i problemów technologicznych (15).

•Blokowanie receptorów dla chemokin

Od chwili odkrycia chemokin zwrócono uwagę, że względu na mechanizm ich działania, na możliwość wykorzystania ich jako preparatów antyretrowirusowych blokujących koreceptory dla HIV (7), co jest mało prawdopodobne z powodu prozapalnego działania chemokin, krótkiego okresu półtrwania, małej biodostępności. Zaobserwowano również w badaniach in vitro, że dodanie RANTES, MIP-1 alfa i MIP-1 beta do komórek zakażonych HIV-1 zwiększało replikację wirusa, chociaż istnieją badania nie potwierdzające tej obserwacji (7, 26).

Celem prowadzonych badań jest taka modyfikacja chemokin, która w sposób wybiórczy będzie tylko hamowała replikację HIV-1. Trwają prace nad modyfikacją N końca chemokin, co ma prowadzić do powstania preparatów wykazujących jedynie działanie antyretrowirusowe. Inne modyfikacje polegały na dodaniu do RANTES reszty metioninowej (met-RANTES) lub grupy aminooksypentanowej (AOP-RANTES) (26).

AMD 3100, T22 i ALX 40-4C stanowią rozpuszczalne, syntetyczne cząstki blokujące wnikanie do komórek szczepów T-tropowych oraz chemotaksję pod wpływem SDF-112,13).

Do czynników blokujących receptory należą tzw. samobójcze wektory- wirusy (np. wściekliczny, ospy wietrznej i półpaśca), które zostały zmodyfikowane w taki sposób, że wykazują na swojej powierzchni ekspresję cząstek CD4+ i koreceptorów (32). Posiadają zdolność wiązania się z komórkami zakażonymi HIV-1 przez interakcję z gp 120, a następnie zabijania tych komórek. Dodatkową korzyścią wiążącą się ze stosowaniem takich wektorów jest możliwość przenoszenia leków w sposób celowany do zakażonej komórki. Trudno jest jednak ocenić skutki użycia żywych wektorów wirusowych u osób z deficytem immunologicznym (32). Próbowano również stosować przeciwciała monoklonalne przeciwko receptorom dla chemokin. Opracowano przeciwciała zarówno przeciwko CXCR4 (12 GS— mysie przeciwciała monoklonalne) i CCR5 (12 D7, 3A9). Pomimo, że praktyczne znaczenie takiego postępowania mogłoby być istotne w profilaktyce poekspozycyjnej, w tym również zapobieganiu transmisji matczyno-płodowej HIV-1, wysokie koszty oraz trudności w osiągnięciu komórek docelowych w sposób istotny ograniczają ten kierunek badań (41).

II. Białka pomocnicze jako cel terapii antyretrowirusowej

Białka pomocnicze (regulatorowe) HIV-1, podobnie jak geny je kodujące, stanowią ważny cel badań nad lekami przeciwwirusowymi, albowiem odgrywają istotną rolę w replikacji i patogenezie HIV. Każde z nich spełnia kilka funkcji w replikacji HIV.

- Białko Tat i Rev przedstawiono w dalszej części pracy na temat terapii genowej.
- Do innych białek regulatorowych spełniających liczne istotne funkcje związane z replikacją HIV należą Nef, Vif, Vpr i Vpu (11, 14, 34, 42).

*Nef (czynnik negatywny) ulega aktywacji we wczesnej fazie replikacji HIV. Jego funkcja polega na hamowaniu krążenia receptora CD4+, oddolnej regulacji ekspresji antygenów zgodności tkankowej klasy I oraz Fas (co chroni komórki przed apoptozą). W badaniach na modelu zwierzęcym wykazano, że delekcja Nef ma związek z niską aktywnością replikacyjną HIV-1, utrzymaniem prawidłowej liczby limfocytów CD4+ i bra-

Nowe kierunki terapii HIV/AIDS oraz problemy związane z jej realizacją

kiem objawów klinicznych U osób nie wykazujących progresji zakażenia wykrywano szczepy net-defektywne.

Wykazano, że hamowanie aktywności komórkowej kinazy tyrozyny redukowało aktywność Nef (8,42).

*Vpr (białko wirusowe R) i MA (białko macierzy) biorą udział w transporcie do jądra materiału genetycznego wirusa, będącego w formie kompleksu przedintegracyjnego.

W ten sposób przyczyniają się do integracji prowirusowego genomu z genomem komórki zakażonej (11). Ponadto Vpr wykazuje działanie cytostatyczne, umożliwiające replikację większej liczby cząstek wirusowych. Trwają obecnie badania nad opracowaniem inhibitorów MA (11).

*Vpu (białko wirusowe u) wpływa na uwalnianie wirionów z zakażonych komórek (14).

III. Terapia genowa:

Replikacja wirusowa jest wynikiem interakcji pomiędzy genomami HIV i komórki, wirusowymi białkami regulatorowymi i czynnikami komórkowymi. Wśród białek regulatorowych niezwykle ważną rolę we wczesnej fazie replikacji odgrywają Tat i Rev (24, 25).

Białko Tat bierze udział w wydłużaniu mRNA, działając poprzez sekwencje TAR (Tat responsive element) wchodzące w skład regionu promotorowego LTR (long terminal repeat). Opracowano polimery TAR, które przenoszone w wektorach wirusowych (RSV-Rous sarcoma virus) lub plazmidach do hodowli komórkowych w znacznym stopniu hamowały replikację HIV. Mechanizm działania polegał na wyłapywaniu białka Tat przez wiązanie z syntetycznym TAR. Interakcje Tat-TAR są wysoce konserwatywne i takie same u wszystkich szczepów HIV, dlatego mało prawdopodobne byłoby powstanie lekoopornych mutantów (25).

*Białko Rev odgrywa rolę w syntezie wirusowych białek strukturalnych. Działa poprzez sekwencje RNA określone terminem RRE (Rev-responsive element), zlokalizowane w obrębie genów strukturalnych kodujących białka otoczki. Wpływa na transport materiału genetycznego wirusa z jądra do cytoplazmy. Zaobserwowano, że mutacje Rev mają związek ze spadkiem syntezy wirusowych białek strukturalnych. Opracowano geny dla mutantów określonego terminem M10. Wykazano in vitro hamowanie replikacji HIV po dodaniu do hodowli zakażonych HIV komórek, wektora RSV zawierającego geny M10 (24).

Również wyprodukowano hybrydy składające się z genów kodujących sekwencje TAR wyłapujące Tat i genów kodujących M10. Badania przeprowadzono tylko in vitro i nie można dotychczas ocenić jednoznacznie skuteczności preparatu, choć wydaje się, że kombinowaną terapię genową w porównaniu z monoterapią może charakteryzować wyższa skuteczność antyretrowirusowa (24,25).

*Inne możliwości terapii genowej wiążą się z opracowaniem genów inhibitorowych dla gag (25).

"Zastosowanie rybozymów przedstawiono wcześniej, w części pracy dotyczącej ekspresji CCR5.

Najczęściej stosowanymi w terapii genowej wektorami są retrowirusy, pozbawione zdolności replikacji (18). Stanowią system łatwo integrujący się z genomem gospodarza. Niestety istnieje możliwość rekombinacji genetycznej zintegrowanego wirusa, co może prowadzić do zmiany genów funkcjonalnych lub aktywacji onkogenów. Należy również pamiętać o nieodwracalności objawów ubocznych, ponieważ informacja genetyczna jest sta

le wbudowywana w genom komórkowy. Ponadto na dotychczasowym etapie badań istnieje mała wydajność transdukcji ludzkich limfocytów CD4+ (18).

Próbuje się stosować inne wektory takie jak adenowirusy, wirusa opryszczki zwykłej, oraz syntetyczne wektory jak polimery, poliaminy itp. Układy takie wymagają dalszych badań (2, 18, 33). Problemy związane z opracowaniem wektorów to ich mała biodostępność, indukcja odpowiedzi immunologicznej przeciw wektorom, ich mała penetracja do komórki (mało swoiste receptory) i do jądra (2).

Ad B:

Terapia immunologiczna:

Do istotnych zaburzeń układu immunologicznego w przebiegu zakażenia HIV należy przede wszystkim uszkodzenie ilościowe i jakościowe komórek pamięci CD4 (CD45RO+), natywnych CD4(CD45RA+), a także zaburzenie swoistej odpowiedzi komórkowej związanej z zakażeniem HIV (zwłaszcza o fenotypie TH1). Niestety nawet stosowanie HAART nie powoduje całkowitej rekonstrukcji układu immunologicznego (6,9). Dlatego dąży się do opracowania takich metod leczenia, które będą miały wpływ bezpośrednio na układ immunologiczny. Taka terapia ma prowadzić do wzmocnienia istniejącej odpowiedzi immunologicznej, produkcji nowych grup komórek immunologicznych oraz generacji swoistej odpowiedzi skierowanej przeciwko komórkom zakażonym HIV (6, 38).

Obecnie badania nad terapią immunologiczną poszły w dwóch kierunkach

I. zastosowania cytokin (9, 35, 37)

II. zastosowania szczepionek terapeutycznych (19, 29).

I. Cytokiny:

W bezobjawowej fazie zakażenia HIV dominują cytokiny produkowane przez limfocyty o fenotypie TH1 (produkujące interleukinę 2 (IL-2), interleukinę 12 (IL-12) i interferon gamma. Progresa zakażenia wiąże się z przewagą funkcji komórek o fenotypie TH2 i wyższą produkcją interleukiny 4 (IL-4) i interleukiny 10 (IL-10). Dlatego pod uwagę bierze się stosowanie IL-2, IL-12 oraz przeciwciał przeciwko IL-4 i IL-10. Najbardziej zaawansowane badania dotyczą IL-2. IL-2 jest glikoproteiną, która pobudza bezpośrednio limfocyty T, B, i komórki NK, a wtórnie m.in. interferon gamma, GM-CSF, czynnik martwicy nowotworów (TNF). Te cytokiny z kolei są stymulatorami limfocytów T cytotoksycznych, komórek NK, makrofagów i monocytów (35). Stwierdzono, że stosowanie IL-2 może stanowić istotny element terapii kombinowanej. W przeprowadzonych badaniach klinicznych obserwowano stymulację poliklonalną limfocytów CD4+, w równym stopniu wzrost liczby komórek natywnych i pamięci (9). Skuteczność IL-2 podawanej dożylnie i podskórnie była podobna (10, 31, 37). Objawy uboczne zależały od dawki, drogi podania i schematu stosowania preparatu (10, 22). Wyższe dawki, zwłaszcza podawane we wlewie dożylnym korelowały z większą częstością i nasileniem objawów ubocznych. Najczęściej obserwowano gorączkę, dreszcze, jądłowstręt, nudności, wymioty i biegunkę, czasem nacieki w miejscu podania leku. Te zazwyczaj łagodne objawy uboczne ustępowały samoistnie w ciągu kilku dni od chwili przerwania leczenia (10). Zespół przecieku włósniczkowego przebiegający ze spadkiem ciśnienia tętniczego, obrzękiem płuc, zaburzeniem funkcji nerek stanowi poważne powikłanie stosowania IL-2, ale występuje na szczęście rzadko. (10, 22)

Większość badań klinicznych dotyczących stosowania IL-2 była prowadzona przed erą HAART i już wówczas wykazano, że podawanie IL-2 łącznie z lekami antyretrowirusowymi powodowało większy wzrost liczby limfocytów CD4+ i spadek wirēmii do wartości niewykrywalnych u wyższego odsetka osób zakażonych HIV (10, 31, 37).

Obecnie trwają badania kliniczne nad stosowaniem IL-2 i HAART. Wstępne wyniki są obiecujące. Hengge i wsp. przeprowadzili randomizowane badania porównujące skuteczność terapii kombinowanej zawierającej IL-2 i HAART z HAART (17). Po roku terapii w grupie pacjentów, u których stosowano IL-2 i HAART, w przeciwieństwie do osób otrzymujących tylko HAART obserwowano wzrost liczby limfocytów CD4+ średnio o 100 komórek/uL.

Nowe kierunki terapii HIV/AIDS oraz problemy związane z jej realizacją

W obu grupach nie wykazano wzrostu wirerii. U żadnej osoby otrzymującej IL-2 i HA-ART nie stwierdzano w ciągu następnych 11 miesięcy zakażeń oportunistycznych, w odróżnieniu od pacjentów leczonych HAART, gdzie w 3 przypadkach rozpoznano mięsaka Ka- posiego. Równie obiecujące wyniki badań związane ze stosowaniem HAART i IL-2 uzyskali Stellbrink i wsp., Tambussi i wsp., Ruiz i wsp. (31, 36, 37).

I. Szczepionki terapeutyczne.

Celem stosowania szczepionek terapeutycznych jest ochrona przed progresją zakażenia. Istotną rolę w kontroli replikacji HIV odgrywają limfocyty T cytotoksyczne (CTL) (21). Brak progresji zakażenia wiąże się z silną odpowiedzią CTL skierowaną przeciwko białkom kodowanym przez Gag (p24, p 17) i słabą przeciwko glikoproteinie otoczki gp 120, jak również silną odpowiedzią limfocytów TH1 (jak wspomniano wcześniej). Odpowiedź immunologiczna CTL anty-gag skierowana jest przeciw licznym epitopom konserwatywnym, co może tłumaczyć związek z brakiem progresji zakażenia u osób HIV+ (21). Wykazano też (27), że pod wpływem HAART spada liczba CD8 CTL. Zjawisko to, nie do końca poznane, próbuje się tłumaczyć spadkiem wirerii, a tym samym brakiem antygeny stanowiącego bodziec aktywujący CTL. Rozważa się stosowanie szczepionki terapeutycznej w momencie obniżenia wirerii do wartości niewykrywalnych, kiedy układ immunologiczny nie podlega już skrajnej aktywacji prowadzącej do anergii. Wówczas antygen szczepionkowy stanowi dodatkowy bodziec pobudzający swoistą odpowiedź immunologiczną, być może skuteczniej niż to jest obecnie możliwe, eliminując także cząstki prowirusa (19, 29). Podanie antygeny szczepionkowego w kombinacji z HAART, jak również cytokinami może stanowić ważny element terapeutyczny (6). Najbardziej zaawansowane badania dotyczą obecnie trzech szczepionek:

- Remune (inaktywowana szczepionka zawierająca całe cząstki wirusa), badania I fazy (6)
- p24 - VLP (szczepionka produkowana na komórkach drożdży wykazujących ekspresję p24 i p 17), badania II fazy (1 9)
- Vaxsyn (szczepionka rekombinowana gp160). (29)

Uzyskane wyniki badań wskazują na skuteczność wymienionych powyżej szczepionek, wyrażającą się spadkiem wirerii. Jednakże brak jest obecnie obserwacji dotyczących stosowania szczepionek jednocześnie z HAART.

Badania przedstawione powyżej stanowią tylko część obecnie prowadzonych. Zwraca uwagę ich wielokierunkowość z uwzględnieniem coraz liczniejszych punktów uchwytu dla terapii. Wielokrotnie podkreśla się potrzebę stosowania terapii kombinowanej. Należy zadać pytanie do jakiego stopnia będzie to leczenie wymagające stosowania wielu leków i jak wielu, w celu osiągnięcia optymalnego efektu w postaci całkowitej eliminacji HIV. Na obecnym etapie wiedzy nie można powiedzieć, który z badanych leków będzie najskuteczniejszy i jaki kierunek badań przyniesie najlepszy efekt.

Piśmiennictwo:

- 1- Autran B., Carcelain G., Tubiana R.: Effects of antiretroviral therapy on immune reconstitution. Sixth Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections. Chicago, 1999, Abstract S44
1. Behr P.J.: Gene delivery with polyamines. Abstract of Book; NASI, Targeting drugs: Strategies of gene constructs and delivery, 1999, 33.
2. Bleul C.C., Farzan M., Choe H.: The lymphocyte chemoattractant SDF-1 is a ligand for LESTR/fusin and blocks HIV-1 entry. Nature, 1996, 382, 829
3. Chan D., Fass U., Berger J.: Core structure of gp41 from the HIV envelope glycoprotein. Cell. 1997, 89, 263
4. Chan D. Kim P.S.: HIV entry and its inhibition. Cell, 1998, 93, 681
5. Churdboonchart V., Moss R.B., Sirazaraporn W.: Effect of HIV-specific immune-based therapy in subjects infected with HIV-1 subtype E in Thailand. AIDS, 1998, 12, 1521
6. Cocchi F., De Vico A.L., Garzino D.A., Identification of RANTES, MIP-1 alpha, and

Choroby przenoszone drogą płciową

- MIP-1 beta as the major HIV-suppressive factors produced by CD8+ T cells. *Science*, 1995, 270, 1811.
7. Collins K.L., Chen B.K., Kalams S.A.: HIV-1 Net protein protects infected primary cells against killing by cytotoxic T lymphocytes. *Nature*, 1998, 188, 2199
 8. Connors M., Kovacs S.: HIV infection induces changes in CD4+ T-cell phenotype and depletions within the CD4+ T-cell repertoire that are not immediately restored by antiviral or immune based therapies. *Nature Med.* 1997, 3, 533
 9. Davey R.T. Jr, Chait D.G., Piscitelli S.C., Subcutaneous administration of interleukin-2 in human immunodeficiency virus type 1-infected persons. *J Infect Dis.* 1997, 175, 781
 10. DiMarzio P., Choe S., Ebrigh M., Knoblauch R.: Mutational analysis of cell cycle arrest, nuclear localization and virion packing of human immunodeficiency virus type 1 Vpr. *J Virol*, 1996, 69, 7909
 11. Donzella G., Schols D., Lin S.W.: AMD3100, a small molecule inhibitor of HIV-1 entry via the CXCR4 co-receptor. *Nat Med* 1998, 4, 72
 12. Doranz B., Grovit-Ferbas K., Sharron M.: A small molecule inhibitor directed against the chemokine receptor CXCR4 prevents its use as an HIV-1 coreceptor. *J Exp Med* 1997, 186, 1395
 13. Ewart G.D., Sutherland T., Gage P.: The Vpu protein of human immunodeficiency virus type 1 forms cation-selective ion channels. *J.Virol.* 1996, 70, 7108
 14. Gonzalez M., Serrano F., Llorente M.: A hammerhead ribozyme targeted to the human chemokine receptor CCR5. *Biochem and Biophys Res Comm*, 1998, 251, 592
 15. Gruters R.A., Neeffjes J.J., Tersmette M.: Interference with HIV-induced syncytium formation and viral infectivity by inhibitors of trimming glucosidase. *Nature*, 1997, 330, 74
 16. Hengge UR., Goos M., Esser S.: Randomized, controlled phase II trial of subcutaneous interleukin-2 in combination with highly active antiretroviral therapy (HAART) in HIV patients. *AIDS*, 1998, 12, F225
 17. Jolly D.J.: Clinical therapy with directly administered retroviral vectors. *Abstract Book, NASI, Targeting drugs: Strategies of gene constructs and delivery*, 1999, 10
 18. Kelleher A.D., Roggensack M., Jaramillo A.B.: Safety and immunogenicity of a candidate therapeutic vaccine, p24 virus-like particle, combined with zidovudine in asymptomatic subjects. *AIDS*, 1998, 12, 175
 19. Kilby J.M., Hopkins S., Venetta T.: Potent suppression of HIV-1 replication in humans by T-20, a peptide inhibitor of gp41-mediated virus entry. *Nat Med.* 1998, 4, 1302
 20. Klein M.R., van Baalen C.A., Holwerda AM.: Kinetics of gag-specific cytotoxic T lymphocyte responses during the clinical course of HIV-1 infection: a longitudinal analysis of rapid progressors and long-term asymptomatics. *J Exp.Med.* 1995, 181, 1365
 21. Kovacs J.A., Vogel S., Albert J.M.: Controlled trial of interleukin-2 infusions in patients infected with the human immunodeficiency virus. *N Engl J Med*, 1996, 335, 135
 22. Liu R., Paxton W.A., Choe S.: Homozygous defect in HIV-1 coreceptor accounts for resistance of some multiply-exposed individuals to HIV infection. *Cell.* 1996, 88, 7
 23. Liu J., Wffendin C., Yang Z., Nabel G.J.: Regulated expression of a dominant negative form of Rev improves resistance to HIV replication in T cells. *Gene Therapy*, 1994, 1, 32
 24. Lori Fr., Lisziewicz J., Smythe J., Cara A., Bunnang T.A., Curiel D., Gallo R.: Rapid protection against human immunodeficiency virus type 1 (HIV-1) replication mediated by high efficiency non-retroviral delivery of genes interfering with HIV-1 tat and gag- *Gene Therapy*, 1994, 1, 27.
 25. Mack M., Lucków B., Nelson P. J. Aminooxypentane RANTES induces CCR5

- internalization but inhibits recycling of novel inhibitory mechanism of HIV infectivity. *J Exp Med*, 1998,187, 1215
27. Ogg G.S., Jin X., Bonhoeffer S.: Decay kinetics of human immunodeficiency virus-1-specific effector cytotoxic T-lymphocytes after combination antiretroviral therapy. *J. Virol.* 1999,73,797
 28. Platt E., Wehrly K., Kuhmann S.: Effects of CCR5 and CD4 cell surface concentrations on infections by macrophage tropic isolates of human immunodeficiency virus type 1. *J Virol* 1998,72,2855
 29. Pontesilli O., Guerra E.C., Ammassari A.: Phase II controlled trial of post-exposure immunisation with recombinant gp160 versus antiretroviral therapy in asymptomatic HIV-1 infected adults, *AIDS*, 1998, 12, 474
 30. Riley J., Levine B., Craighead N.: Naive and memory CD4 T cells differ in their susceptibilities to human immunodeficiency virus type 1 infection following CD28 costimulation: Implications for transmission and pathogenesis. *J. Virol.* 1998, 72, 273
 31. Ruiz L., Arno A., Juan M.: A randomized open label study of low dose subcutaneous interleukin-2 in patients with HIV infection and CD4 counts less than 250/mm³ Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Chicago, 1998, Abstract 195.
 32. Schnell M., Johnson J., Buonocore L.: Construction of a novel virus that targets HIV-1-infected cells and controls HIV-1 infection. *Cell*, 1997, 90, 849
 33. Seymour L.W., Fisher K.D., Dash PR., Oupicky D., Ulbrich K.: Synthetic polymers for targeted delivery of genes. Abstract Book; NASI, Targeting of drugs: Strategies of gene constructs and delivery, 1999, 23.
 34. Simon J.H., Malim M.H., The human immunodeficiency virus type 1 Vif protein modulates the postpenetration stability of viral nucleoprotein complexes. *J Virol*, 1996, 70, 5297
 35. Smith KA.: Interleukin-2. *Curr Opin Immunol.* 1992, 4, 271
 36. Stellbrink H., Lunzen J., Adam A.; A randomized clinical trial of d4 T+3 TC + SQV+NFV with or without interleukin-2 in early HIV infection: preliminary results. 12 th World AIDS Conference, Geneva, 1998, Abstract 347
 37. Tambussi G., Gianotti N., Gufanti M.: Low dose of recombinant interleukin-2 therapy in HIV-1 patients with CD4 counts 200-500: preliminary results. Conference on Retroviruses and Opportunistic Infections, Chicago, 1998, Abstract 194
 38. Valentine F.T., De Gruttola V., Kaplan M.: Effects of HAART compared to immunogen HAART plus an inactivated HIV on lymphocyte proliferative responses (LPR) to HIV antigens. 12 th World AIDS Conference. Geneva, 1998, Abstract 31227
 39. Walker B.D., Kowalski M., Goh T.K.: Inhibition of human immunodeficiency virus syncytium formation and virus replication by castanospermine. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1987,84,8120
 40. Wong J.K., Hezareh M., Gunthard H.F.: Recovery of replication-competent HIV despite prolonged suppression of plasma viremia. *Science.* 1997, 278, 1295
 41. Wu L., Paxton W., Kassam N.: CR CCR5 levels and expression pattern correlate with infectability by macrophage-tropic HIV-1, in vitro. *J Exp Med.* 1997, 185, 1681
 42. Xu X-N, Screaton G.R., Goth F.M.: Evasion of CTL responses by nef-dependent induction of Fas ligand expression on SIV-infected cells. *J Exp Med.* 1997, 186.

Epidemiologia i diagnostyka zakażeń wirusami papilloma

Szkoda M. T.

Zakład Wirusologii PZH w Warszawie

Wirusy brodawczaka człowieka - ludzkie wirusy papilloma (human papillomavirus - HPV) należą do rodzaju Papillomavirus. HPV obok wirusów z rodzaju Polyomavirus tworzą rodzinę Papovaviridae. HPV zakażają komórki nabłonkowe skóry i błon śluzowych, ich cykl rozwojowy związany jest z różnicowaniem się zakażonych komórek. Porównanie rodzajów Papillomavirus i Polyomavirus przedstawiono w tabeli I.

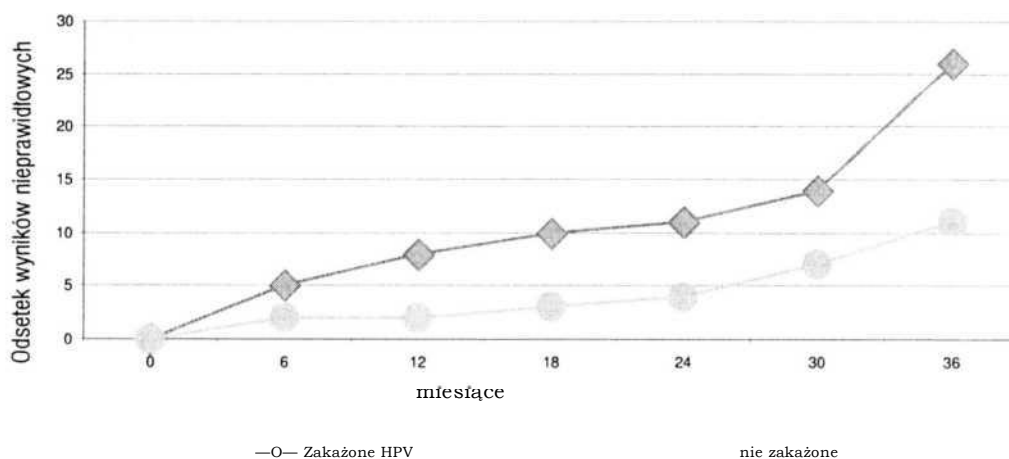
Tabela. I Porównanie wirusów z rodzajów Papillomavirus i Polyomavirus.

RODZINA: PAPOVAVIRIDAE		
Rodzaje:	PAPILLOMAVIRUS	POLYOMAVIRUS
podobieństwa:		
małe wymiary	52-55 nm	42-45 nm
osłonka wirionu	brak	
budowa kapsydu	ikosahedralna	
liczba kapsomerów	72	
białka strukturalne	min.2 białka	3 białka
mat. genetyczny	kolisty, zamknięty dwuniciowy DNA	
miejsce replikacji	jądro komórkowe	
wywoływanie zmian guzowatych	w środowisku naturalnym	doświadczalnie
różnice:		
informacja genetyczna	na jednym łańcuchu DNA	na obu łańcuchach DNA
masa DNA(Daltonów)	ok. 5×10^6	ok. $3,4 \times 10^6$
komórki docelowe	warstwy rozrodczej skóry i błon śluzowych	organów wewnętrznych (nerki, mózg)
wiremia	nie potwierdzono	tak

Genom HPV zbudowany jest z kolistego dwuniciowego kwasu deoksyrybonukleinowego (DNA). Wszystkie otwarte ramki odczytu (ORF) kodujące informacje niezbędne do replikacji wirusa zlokalizowane są na jednym łańcuchu kwasu nukleinowego. U wszystkich typów HPV zajmują podobne względem siebie pozycje. ORF HPV podzielono na wczesne E i późne L, zależnie od czasu w jakim się ujawniają w cyklu replikacji wirusa. Fragmenty wczesne kodują białka odpowiedzialne za transkrypcję kwasu nukleinowego, replikację DNA oraz transformację nowotworową zakażonych komórek. ORF L1 i L2 kodują białka strukturalne wirionu. W genomie HPV wyróżniono także region zawierający sekwencje sygnałowe (LCR lub URL), kontrolujące replikację wirusa i ekspresję genów. Podział HPV na typy i podtypy ustala się na podstawie porównania, uszeregowania nukleotydów w ORF L1. Zgodność przekraczająca 90% w którymkolwiek z porównywanych ORF pozwala na zakwalifikowanie badanego wirusa do danego podtypu, różnice do 2% pozwalają na określenie wariantów danego typu. Znamy ponad 100 typów HPV oznaczonych numerami w zależności od kolejności identyfikacji.

Chorobotwórczość wirusów brodawczaka człowieka

Naturalny przebieg zakażenia wirusem Papilloma nie jest dokładnie poznany. Większość danych pochodzi z badań nad zakażeniami wywołanymi przez wirusy papilloma zakażające zwierzęta oraz z danych uzyskanych dzięki doświadczeniom opartym o metody molekularne. HPV zakażają komórki warstw rozrodczych skóry i błon śluzowych. Przebieg replikacji HPV związany jest z różnicowaniem się komórek naskórka lub nabłonka. Czynnikiem zapoczątkowującym zakażenie mogą być urazy skóry lub mikrourazy naskórka ułatwiające przenikanie wirusa do komórek rozrodczych warstwy podstawnej. HPV powielają swój materiał genetyczny w jądrze komórkowym. Zakażenie może powodować różnicowanie się komórek w kierunku form dysplastycznych. Antygeny kodowane przez wczesne (E) ORF, ulegają ekspresji w warstwach podstawnych. W warstwach położonych bliżej powierzchni można odnaleźć antygeny kodowane przez regiony (L) ORF. W powierzchniowych warstwach naskórka można potwierdzić obecność kompletnych wirionów. Zmiany te mogą stanowić punkt wyjścia dla rozwoju nowotworów. Wpływ zakażenia HPV na rozwój zmian dysplastycznych w nabłonku szyjki macicy przedstawia rycina 1.

Ryc 1. Wpływ zakażenia HPV na występowanie zmian dysplastycznych - badania prospektywne

W odniesieniu do zakażeń wirusami papilloma i możliwością rozwoju procesu nowotworowego istnieją określone grupy podwyższonego ryzyka. Stwierdzenie zakażenia określonymi typami wirusa daje możliwość do zakwalifikowania pacjenta do grupy wysokiego, średniego lub niskiego ryzyka zagrożenia rozwinięcia się choroby nowotworowej. Wynika to ze statystycznej oceny badań epidemiologicznych występowania nowotworów i związanych z nimi zakażeń określonymi typami HPV. Nie wszystkie wirusy należące do tego rodzaju są potencjalnie onkogenne. Podział na wirusy onkogenne i nieonkogenne nie jest ścisły. Typy HPV z grup ryzyka zagrożenia rozwojem choroby nowotworowej przedstawiono w tabeli II. Rozpatruje się także podobieństwo genomów poszczególnych typów HPV w aspekcie grup ryzyka i zagrożenia rozwojem choroby nowotworowej. Okres dzielący pierwotne zakażenie od stwierdzenia inwazyjnej postaci raka może wahać się od kilku do kilkunastu lat. Odsetek potwierdzonych zakażeń HPV w badanych grupach może wynosić od kilku do kilkudziesięciu procent badanych. Występowanie zakażeń HPV przedstawia rycina 1. Czynniki ryzyka predysponujące do zakażeń HPV przedstawia tabela III.

Na podstawie badań nad wpływem białek kodowanych przez wirusa stwierdzono, że zakażenie HPV może powodować zaburzenia ekspresji genów komórek gospodarza regulujących cykl komórkowy. Wykazano także, że interakcje produktów fragmentów E6 i E7 genomu wirusa z genami człowieka p53 i Rb mogą w konsekwencji doprowadzić do neoplazji.

Choroby przenoszone drogą płciową

Tabela. II Grupy ryzyka zagrożenia rozwiniecia się choroby nowotworowej w zależności od zakażenia określonym typem HPV

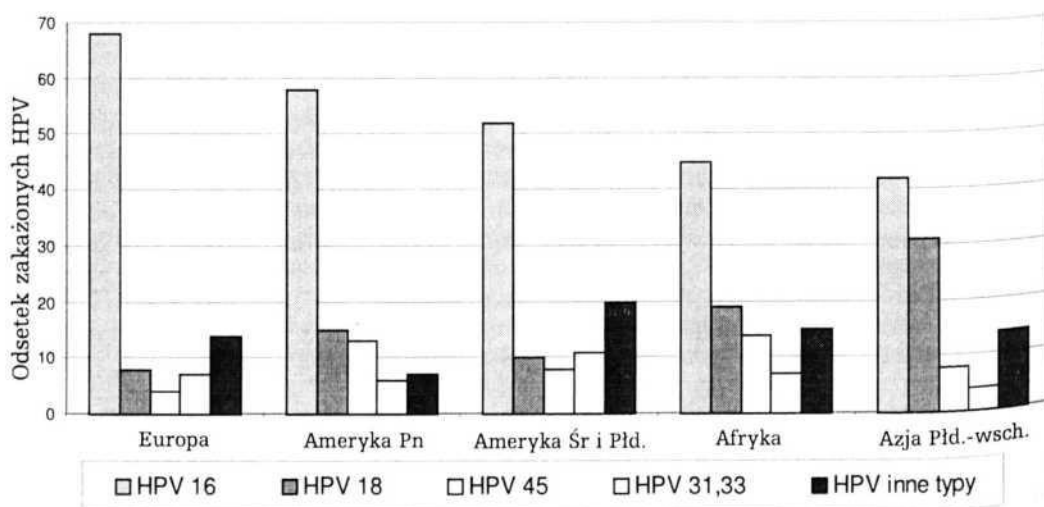
wysokiego ryzyka	HPV typy: 16, 18
średniego ryzyka	HPV typy: 31, 33, 35, 39, 45, 51, 52, 56, 58, 59, 68
niskiego ryzyka	HPV typy: 6, 11, 42, 43, 44

Tabela. III Czynniki ryzyka predysponujące do zakażenia HPV.

zakażenie HPV u partnera
wczesne rozpoczęcie życia płciowego
duża liczba partnerów
leczenie immunosupresyjne
palenie papierosów
doustne środki antykoncepcyjne
zachowania homoseksualne

Na podstawie doniesień z literatury można powiedzieć, że ilość wirusowego DNA pochodzącego ze zmian maleje wraz ze wzrostem dysplazji i neoplazji. W zmianach nowotworowych metodą sond genetycznych stwierdza się już tylko włączenie genomu wirusa do materiału genetycznego komórki. Najczęściej izolowanymi ze zmian nowotworowych typami HPV są HPV 16 i 18: ponad 85% przypadków. Występowanie zakażeń typami HPV w różnych regionach świata przedstawia rycina 3. Do chwili obecnej nie do końca wyjaśniony jest wpływ innych zakażeń np. wirusami z rodziny Herpesviridae na proces karcynogenezy z udziałem HPV.

Ryc. 3 Zakażenia typami HPV w różnych regionach świata



Epidemiologia i diagnostyka zakażeń wirusami papilloma

Diagnostyka zakażeń HPV

Olbrzymie trudności sprawia niemożność namnażania HPV w prostych kulturach komórkowych *in vitro*. Namnożenie kompletnych wirionów możliwe jest przy użyciu łączonych technik przeszczepiania wycinków zakażonej tkanki nabłonka ludzkiego zwierzętom pozbawionym grasicy z hodowlą organową tkanki nabłonkowej. Przy zastosowaniu tylko hodowli organowej możliwe jest otrzymanie cząstek pozbawionych DNA zbudowanych jedynie z białek wirionu HPV. Na drodze syntezy chemicznej otrzymano polipeptydy odpowiadające budową proteinom kodowanym przez genom wirusa, wprowadzono też fragmenty wirusowego DNA do genomu bakterii oraz do genomu bakulowirusa. Umożliwiło to prowadzenie szerszych badań nad zakażeniami wywołanymi przez HPV.

Wykrywanie kwasów nukleinowych stanowi obecnie podstawową metodę w diagnostyce zakażeń wywołanych przez wirusy papilloma. Wybór metody i testu zależy od celu badań, inne w badaniach retrospektywnych wycinków tkanek inne zastosowane jako testy przesiewowe w diagnostyce i profilaktyce nowotworów. Metody stosowane w diagnostyce zakażeń HPV przedstawiono w tabeli IV.

Tabela. IV Metody stosowane w diagnostyce zakażeń HPV.

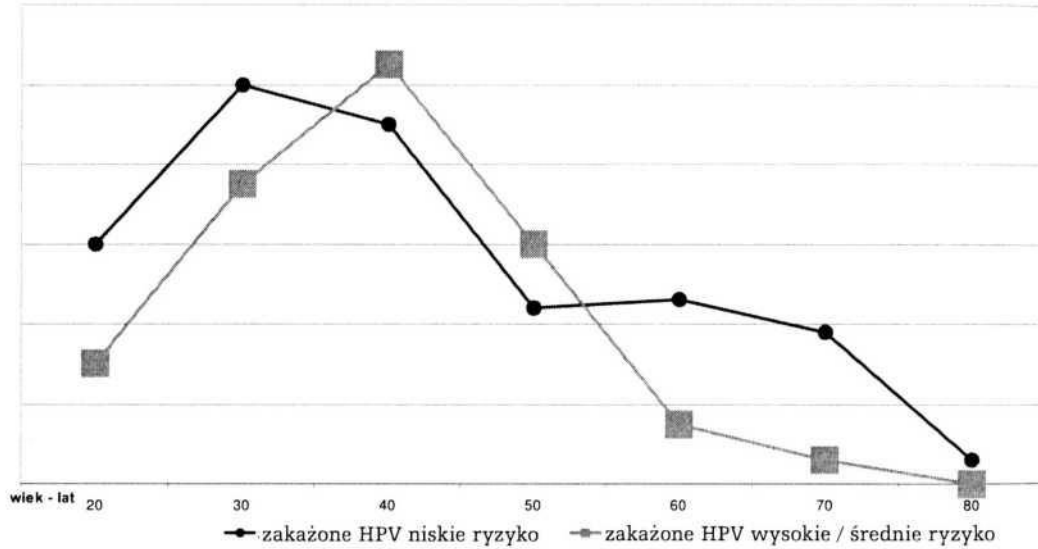
Metoda	Możliwe zastosowane
mikroskopia elektronowa	wirus może być wykryty w zmianach o niskim stopniu dysplazji, nie można określić typu wirusa, metoda droga i pracochłonna
izolacja wirusa w hodowlach komórkowych	bardzo pracochłonna, możliwa przy połączeniu techniki przeszczepów tkanki zakażonej na zwierzęta pozbawione grasicy z hodowlą narządową
wykrycie specyficznego antygenu wirusa	możliwe tylko dla rodzaju wirusa, nie można określić typu wirusa, tylko w próbkach tkanek
diagnostyka serologiczna	obecnie brak możliwości zastosowania diagnostycznego
wykrywanie kwasu nukleinowego	szeroko stosowana, możliwe określenie typu wirusa: hybrydyzacja kwasów nukleinowych, Dot blot, Southern blot, PCR, inne
cytologiczne i histopatologiczne	pośrednio można potwierdzić zakażenie HPV, nie można określić typu wirusa: określenie stopnia zmian histopatologicznych w komórkach i tkankach

Duże znaczenie w profilaktyce nowotworów ma ustalenie sposobów postępowania diagnostycznego i standaryzacja testów. Najważniejsze w obecnej chwili jest połączenie badania fizykalnego, cyto - i histopatologicznego z testami opartymi na wykryciu kwasów nukleinowych. Mikroskopowa ocena wymazów cytologicznych oraz w wybranych przypadkach badanie kolposkopowe i histopatologiczna ocena wycinków pobranych ze zmian stanowią podstawowy element badań przesiewowych w wykrywaniu raka szyjki macicy. Metody te nie dają możliwości wykrycia i typowania HPV. Występowanie zakażeń HPV w grupach wiekowych populacji polskiej przedstawia rycina 4. Śmiertelność z powodu raka szyjki macicy w grupach wiekowych populacji polskiej przedstawia rycina 5.

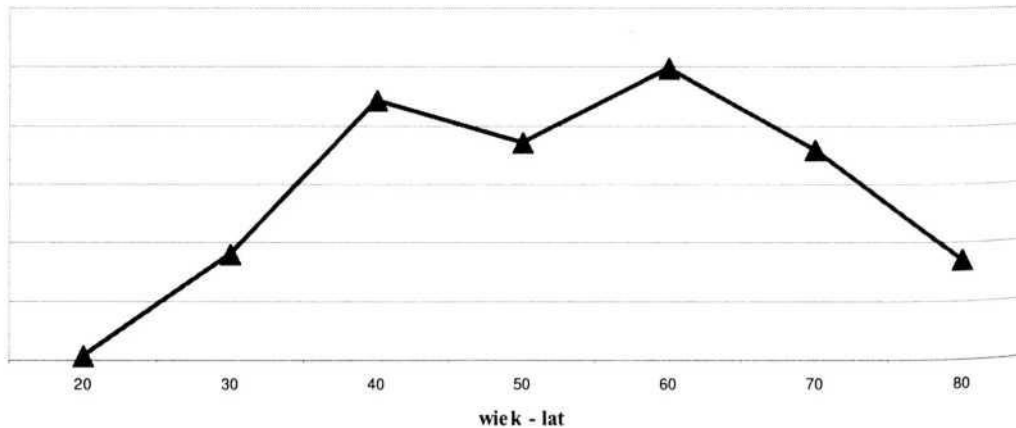
Możliwości leczenia i perspektywy profilaktyki zakażeń HPV

Do chwili obecnej brak zadowalających wyników, które umożliwiłyby stosowanie inhibitorów replikacji wirusa. Zastosowanie interferonów budzi obawy ze względu na brak standaryzowanych schematów leczenia oraz potencjalne efekty uboczne. W leczeniu sto-

Ryc 4. Zakażenia HPV z grup ryzyka w przedziałach wieku



Ryc 5. Umieralność z powodu raka szyjki macicy w grupach wiekowych (Polska)



sowano miejscowo różne substancje powodujące przyśpieszenie złuszczenia się naskórka: maści z kwasem salicylowym, lapis, podofilina i podofilotoksyna. Krioterapia oraz chirurgiczne usunięcie zmian (wyłyżeczkowanie, elektrokoagulacja) jak też bardzo skuteczna laseroterapia są metodami ukierunkowanymi na zniszczenie zakażonych komórek.

Bardzo ważne wydaje się być poprawienie ogólnego stanu pacjenta poprzez leczenie innych towarzyszących chorób, właściwa podaż witamin i mikroelementów oraz zmniejszenie lub wyeliminowanie wpływu leków obniżających potencjał immunologiczny człowieka. Duże znaczenie przypisuje się egzogennym antyoksydantom między innymi retinoidom – witaminie A, która odpowiada za stan nabłonków i jego funkcje.

Prace nad swoistą immunoprofilaktyką spowodowały nasilenie prób nad uzyskaniem szczepionek. Miałyby one chronić przed rozwinięciem się zakażenia wirusem brodawczaka – szczepionki profilaktyczne. Możliwe też wydaje się ich działanie jako immunomodu-

Choroby skóry i błon śluzowych w przebiegu zakażenia HIV

latorów aktywujących układ odpornościowy i przyspieszających gojenie się zmian - szczepionki lecznicze.

Piśmiennictwo:

1. Bonnez W. Papillomavirus Report 9; 2 Leeds 1998
2. Bosch X.F., Manos M.M., Munoz N. i inni Jour. Nat.Cancer Inst. 87; 11 Nowy Jork 1995
3. Burk R. D. Hosp Pract 15; 34: Nowy Jork 1999
4. DiPaolo J. A., Jones C. Papillomavirus Report 10; 1 Leeds 1999
5. Flores E. R., Allen-Hoffmann B.L., Lee D. I inni J Virol.74 Waszyngton 2000
6. Graham D. A., Herrington S. C. Papillomavirus Report 9; 1 Leeds 1998
7. Ho G. Y., Kadish A. S., Burk R. D. Int. Jour. Cancer. 23; 78 Nowy Jork 1998
8. Kuhne Ch., banks L. Papillomavirus Report 10; 6 Leeds 1999
9. Silins I., Dillner J. Papillomavirus Report Leeds 2000-08-03
10. Stacey S.N., Jordan D., Williamson A. J. i inni: J Virol 74 Waszyngton 2000
11. Szkoda M. T. Litwińska B., Kańtoch m. Med. Dośw. Mikrobiol. 50 Warszawa 1999
12. Szkoda M. T. Litwińska B., Kańtoch m. Med. Dośw. Mikrobiol. 51 Warszawa 1997
13. Szkoda M.T., Litwińska B., Kańtoch M. Post. Mikrobiol. 34 Warszawa 1995
14. Thomas J. T., Laimins L. A., Ruesch M. N. Papillomavirus Report 9; 3 Leeds 1998
15. Ustav E., Ustav M. Papillomavirus Report 9; 6 Leeds 1998
16. Yamada T., Manos M.M., Peto J., Geer C.E., Munoz N., Bosh F.X., Wheeler C.M. J. Virology 71:3 Waszyngton 1997
17. Zatoński W., Tyczyński J. Nowotwory złośliwe w Polsce w 1994 roku. Centrum Onkologii-Instytut, Warszawa 1997
18. zurHausen H current Topics in Microbiology and Immunology 186 Berlin 1994

Choroby skóry i błon śluzowych w przebiegu zakażenia HIV

Sławomir Majewski, Iwona Rudnicka

Instytut Wenerologii Akademii Medycznej w Warszawie

Zmiany chorobowe na skórze i błonach śluzowych są częstymi objawami klinicznymi zakażenia HIV/AIDS. W ostatnich latach zwrócono uwagę, że choroby skóry i błon śluzowych są nie tylko objawem ciężkich zaburzeń immunologicznych w przebiegu AIDS, ale także występują na wszystkich etapach zakażenia HIV. Może to być związane z upośledzeniem czynności komórek Langerhansa w skórze, co sprzyja różnym oportunistycznym infekcjom i nowotworom. Na objawy skórne towarzyszące AIDS zwrócono uwagę już w 1981 r, a niektóre z nich, jak np. mięsak Kaposi'ego stanowią tzw. choroby wskaźnikowe AIDS (kategoria C objawów klinicznych). Szczególne znaczenie mają objawy klasyfikowane jako kategoria B, gdyż są tutaj choroby skóry i błon śluzowych, które często występują także w ogólnej populacji, ale różnią się ciężkim, nietypowym przebiegiem, brakiem odpowiedzi na leczenie lub częstymi nawrotami. Choroby z kategorii B często stanowią pierwsze stwierdzone objawy kliniczne, które sugerują zakażenie HIV i dlatego też w sytuacjach tych powinno być wykonywane badanie w kierunku przeciwciał przeciw HIV. Należy podkreślić, że najwcześniejsze objawy skórne towarzyszące okresowi ostrej wirerii HIV mimo iż występują u wielu chorych, są tak mało charakterystyczne (osutki plamiste i grudkowo-plamiste) i słabo zaznaczone, że często są one nie zauważane przez pacjenta lub pomijane przez lekarza.

Choroby przenoszone drogą płciową

Wieloletnie badania prowadzone w Instytucie Wenerologii AM w Warszawie w dużej grupie (ponad 300 chorych) zakażonych HIV wykazały, że chorzy rzadko zgłaszają się z powodu skórnych objawów wczesnego zakażenia HIV (odpowiadającego okresowi ostrej choroby retrowirusowej). Najczęściej stwierdzano objawy drożdżycy jamy ustnej oraz uogólnionego powiększenia węzłów chłonnych. Istotne jest, że zmiany te łącznie występowały aż u około 2/3 chorych, natomiast tylko w pojedynczych przypadkach (około 5%) nie stwierdzono żadnych zmian na skórze ani na błonach śluzowych. Najczęściej stwierdzano drożdżycę rumieniowo-zanikową oraz przerostową, a zmiany dotyczyły często także okolic narządów płciowych. U około 1/3 zakażonych stwierdzono występowanie chorób łojotokowych (trądzik pospolity, różowaty, łupież skóry owłosionej głowy), ale klasyczne łojotokowe zapalenie skóry występowało stosunkowo rzadko (1). Różne choroby wirusowe skóry stwierdzono u kilkunastu procent zakażonych HIV. Zakażenia wirusem opryszczki miały zwykle ciężki, nawrotowy przebieg, zwłaszcza w przypadkach gdy znacznie obniżona była liczba komórek CD4+ we krwi. Podobne zależności stwierdzono w przypadku zakażeń wirusem wywołującym mięczaka zakaźnego. Inni autorzy sugerują, że zakażenie molluscum contagiosum stanowi bardzo dobry marker stopnia upośledzenia odporności w przebiegu zakażenia HIV (2).

Dużym problemem u osób zakażonych HIV są infekcje wirusem brodawczaka człowieka (HPV, human papillomavirus), zarówno typami onkogennymi jak i nie onkogennymi (3, 4). W 1993 roku CDC włączyło zakażenie szyjki macicy wirusem HPV do kategorii B, a raka inwazyjnego związanego z HPV do kategorii C rozpoznawania AIDS.

W porównaniu do ogólnej populacji, u kobiet zakażonych HIV zmiany na szyjce macicy typu SIL (squamous intra-epithelial lesions) są zwykle bardziej zaawansowane, wykazują szybką progresję do raka oraz są odporne na konwencjonalne leczenie (5). Nasilenie tych zmian koreluje ze zmniejszeniem liczby komórek CD4+ (6, 7). Ważne jest, że leczenie anty-retrowirusowe (HAART) powoduje zmniejszenie nasilenia zmian na szyjce macicy oraz w wielu przypadkach ich ustąpienie, mimo, iż nie dochodzi do całkowitego wyeliminowania onkogennych wirusów HPV16 i HPV18 (8). Zakażenia onkogennymi typami HPV dotyczą również HIV-pozytywnych mężczyzn (głównie homoseksualistów), u których dochodzi do rozwoju zmian typu AIL (anal intraepithelial lesions), zarówno przednowotworowych (AIN, anal intraepithelial neoplasia) jak i raków kolczystokomórkowych. Również w tych przypadkach progresja zmian jest bardzo szybka i koreluje ze stopniem upośledzenia odporności (9). Występowanie AIN u homoseksualistów ocenia się na około 30%, natomiast zmian nowotworowych w tej lokalizacji na ok. 5%.

U osób zakażonych HIV opisano także zmiany skórne odpowiadające rzadkiej chorobie skóry - epidermodysplasia verruciformis (10, 11). Zmiany w EV wywołane są przez onkogenny, skórny typ HPV5 lub HPV8 i często ulegają progresji do raków kolczystokomórkowych (12). Badania ostatnich lat wykazały, że DNA onkogenego HPV5 można również często stwierdzić w ogólnej populacji (13). Ponieważ wszelkie stany związane z upośledzeniem odporności, w tym zakażenie HIV, mogą prowadzić do ujawnienia się zakażenia HPV, należy przypuszczać, że w miarę przedłużającego się okresu przeżycia chorych z HIV, znacznie częściej będzie dochodziło do powstawania zmian nowotworowych związanych z zakażeniem HPV.

W populacji polskiej u osób zakażonych HIV stosunkowo rzadko stwierdza się natomiast przypadki mięsaka Kaposi'ego (MK) (14). Pierwsze przypadki zachorowań na epidemiczną odmianę MK opisano pod koniec lat 70. W USA, początkowo wyłącznie u młodych mężczyzn homoseksualistów lub biseksualistów, u których stwierdzono duże upośledzenie odporności. Po wprowadzeniu w latach 80. serologicznych testów wykrywających zakażenie HIV okazało się, że ta postać MK dotyczy prawie wyłącznie osób, które zakażyły się HIV poprzez kontakty seksualne, podczas gdy u osób zakażonych HIV w wyniku używania narkotyków drogą dożylną, MK występuje sporadycznie. Zjawisko

Choroby skóry i błon śluzowych w przebiegu zakażenia HIV

to tłumaczy dlaczego w Polsce niewiele jest przypadków MK związanych z AIDS (w Polsce zakażeni HIV to w większości osoby stosujące dożylnie środki odurzające). Przebieg MK związanego z AIDS różni się znacznie od przebiegu i obrazu klinicznego klasycznej i endemicznej postaci tego mięsaka. Pierwsze zmiany na skórze dotyczą zazwyczaj twarzy (nos, małżowiny uszne, powieki) i mają charakter bardzo drobnych plamek, czasami porównywanych do „ukąszenia przez owady” (14, 15) lub przypominających grudki typu dermatofibroma, które szybko powiększają się. Zmiany ulegają rozsiewowi, zajmując głównie tułów i kończyny górne oraz okolice narządów płciowych. Czasem dochodzi do penetracji MK w głąb tkanek i do kości. Często pierwszym objawem MK związanego z AIDS są zmiany na błonach śluzowych (w około 15-50%). Mają one charakter plam i podśluzówkowych guzków, zlokalizowane są najczęściej na podniebieniu i mogą utrudniać jedzenie i mowę. Zajęcie nagłośni i krtani źle rokuje. Często zajęte są węzły chłonne, płuca, przewód pokarmowy i inne narządy. Najgroźniejszym objawem wymagającym intensywnej chemioterapii jest zajęcie płuc.

W ostatnich latach stosunkowo dobrze poznano etiopatogenezę MK związanego z AIDS i przyjmuje się, że mięsak ten wywołany jest przez wirusa opryszczki typu 8 (HHV8, human herpesvirus 8) (16). Ponieważ w obrazie histologicznym MK dominują zmiany naczyniowe typu angiogenezy, trwają próby opracowania metod jego leczenia opartych na zastosowaniu substancji o działaniu anty-angiogennym (14). Interesujące są próby zastosowania w leczeniu tej odmiany MK pochodnej kwasu witaminy A (9-cis retinoic acid, 9-cis RA), która jest ligandem dla jądrowego receptora X retinoidów (RXR). Wykazano, że 9-cis RA hamuje proliferację komórek śródbłonka częściowo poprzez zmniejszenie produkcji angiogennej interleukiny-6 oraz indukcję apoptozy, jak również poprzez zahamowanie ekspresji mRNA VEGF (vascular endothelial cell growth factor) [Majewski - wysłane do druku], Obecnie w fazie prób klinicznych znajduje się liposomalna postać 9-cis RA. Zainteresowanie pochodną 9-cis RA znacznie wzrosło, gdy stwierdzono, że inhibitory proteazy, stosowane w metodzie HAART, hamują syntezę endogennego 9-cis RA, co prowadzi do poważnych zaburzeń metabolizmu lipidów (17). Wydaje się, że egzogenny 9-cis RA mógłby zapobiegać temu powikłaniu. Ponadto 9-cis RA, zwłaszcza w skojarzeniu z innymi lekami (np. interferonem alfa lub z pochodnymi witaminy D3), wywiera efekty przeciwnowotworowe (18) i może być skuteczny w chemoprewencji różnych nowotworów w przebiegu zakażenia HIV/AIDS. Nasze badania wskazują, że połączenie 9-cis RA i innych retinoidów z interferonem alfa prowadzi do silnego (synergistycznego) zahamowania angiogenezy nowotworowej (19, 20), co dodatkowo przemawia za możliwością zastosowania tych substancji w leczeniu MK u chorych z AIDS.

W podsumowaniu, zmiany skórne i na błonach śluzowych pojawiające się w przebiegu zakażenia HIV oraz AIDS często korelują ze stopniem upośledzenia odporności i ciężkości procesu chorobowego. Ich znajomość ma praktyczne znaczenie, szczególnie gdy ograniczona jest możliwość monitorowania stanu układu immunologicznego u zakażonych HIV (np. poprzez określanie liczby komórek CD⁺). W związku z wprowadzeniem nowych, bardziej skutecznych metod leczenia HIV/AIDS wydłużających czas przeżycia chorych, należy spodziewać się w przyszłości zmiany obrazu klinicznego w zakresie objawów skórnych. Wydaje się, że zmniejszonej zapadalności na różnorodne infekcje skórne może towarzyszyć wzrost zapadalności na raki skóry i błon śluzowych, również związane z zakażeniem wirusami HPV, co wymagać będzie stosowania różnych metod chemoprewencji. Istotny problem stanowią także często występujące rozmaite powikłania, zarówno ogólnoustrojowe jak i miejscowe (na skórze i błonach śluzowych) metody HAART, np. zaburzenia metabolizmu lipidów (lipodystrofia) pod wpływem inhibitorów proteazy.

Piśmiennictwo

1. Mazurkiewicz W, Rudnicka I, Stapiński A i inni: Przegł. Dermatol. 1993 80: 76-81
2. Schwartz JJ, Myskowski PL: J. Am. Acad. Dermatol., 1992 27: 583

Choroby przenoszone drogą płciową

3. Singh A, Thappa DM, Hamide A: J. Dermatol. 1999 26: 294-304
4. Schafer A, Friedmann W, Mielke M: Am. J. Obstet. Gynecol. 1991 164: 593-599
5. Sun XW, Ellerbrock TV, Lungu O: Obstet. Gynecol. 1995;85: 680-686
6. Petry KU, Scheffel D, Bode U: Int. J. Cancer. 1994;57: 836-840
7. Ho GYF, Burk RD, Fleming I: Int. J. Cancer. 1994;56: 788-792
8. Heard I, Schmitz V, Costagliola D: AIDS 1998 12: 1459-1464
9. Lacey HB, Wilson GE, Tilston P: Sex Transm Inf 1994 75: 172-177
10. Prose NS, Knebel-Doeberitz C, Miller S: J Am Acad Dermatol 1990 23: 978-981
11. Barzegar C, Paul C, Saiag P: Br J of Dermatol 1998 139: 122-127
12. Majewski S, Jabłońska S: Arch Dermatol 1995 131: 1312-18
13. Pfister H, Schegget JT: Clin Dermatol 1997 15: 335-348
14. Majewski S, Pniowski T: Przeg Dermatol 2000 3: 191-197
15. Rappersberger K, Sting G, Wolf K: Dermatology in General Medicine McGraw Hill, New York 1999 1195-1204
16. Chang Y, Cesarmen E, Pessin MS i inni: Science 1994 266: 1865-1870
17. Carr A, Samaras K, Thorisdottir A i inni: Lancet 1999 353: 2093-99
18. Majewski S, Skopińska M, Bollag W i inni: Lancet 1994 344: 1510-1511
19. Majewski S, Szmurło A, Marczak M. i inni: Int J Cancer 1994 57: 81-85
20. Majewski S, Marczak M, Szmurło A i inni: Cancer Lett 1995 89: 117-121

Kiła u zakażonych HIV

Iwona Rudnicka

Instytut Wenerologii Akademii Medycznej w Warszawie

Według Światowej Organizacji Zdrowia w ponad 80 % przypadków do zakażenia HIV doszło w czasie kontaktów seksualnych.

Badania epidemiologiczne wykazały, że 65-75% osób z HIV/AIDS chorowało wcześniej na jedną lub kilka chorób przenoszonych drogą płciową (STD). STD, a zwłaszcza przebiegające z owrzodzeniami i z nasilonym stanem zapalnym narządów płciowych, są istotnym czynnikiem zwiększającym od 3 do 5 razy ryzyko zakażenia HIV.

W związku z tym pacjentów poradni wenerologicznych uważa się za grupę zwiększonego ryzyka infekcji HIV. Należy też oczekiwać częstego współistnienia HIV/AIDS z innymi chorobami przenoszonymi drogą płciową.

Zaburzenia odporności komórkowej i humoralnej występujące w HIV/AIDS mogą wpływać na zakażenia *Treponema pallidum*, zmieniając obraz kliniczny kiły oraz jej naturalny przebieg i przez to utrudniać postawienie właściwej diagnozy.

Opisano przypadki skrócenia okresu inkubacji choroby. U chorych z lues primaria występowały liczne owrzodzenia pierwotne, również o charakterze zgorzelińcowym- U niektórych pacjentów owrzodzenia pierwotne utrzymywały się bardzo długo i współistniały z objawami kiły drugiego okresu nawrotowej. Odmienna od typowego przebiegu kiły była także obecność obfitych wykwitów plamistych na twarzy, dłoniach i stopach u chorych z lues secundaria recens. W wielu przypadkach kiły wczesnej stwierdzono zmiany guzkowe, naciekowe i kilaki.

Opisano także kilę złośliwą, której objawy w postaci zmian guzkowych i wrzodziejących z martwicą w części centralnej wykwitów pojawiły się kilka miesięcy po zakażeniu *T. pallidum*.

U niektórych pacjentów; mimo zastosowania typowego leczenia rozwinęły się w skórze kilaki.

W opinii większości autorów zajęcie układu nerwowego w przebiegu kily u pacjentów z HIV/AIDS jest częstsze niż u osób niezakażonych. Najczęściej rozpoznawane są wczesne postaci objawowej kily układu nerwowego: zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, kila opononaczyniowa mózgu, kila naczyniowa rdzenia. U niektórych pacjentów zmiany w centralnym układzie nerwowym rozwijały się mimo typowego leczenia kily.

Opisano zajęcie narządu wzroku w postaci zapalenia siatkówki i naczyńówki, zapalenia nerwu wzrokowego, a także zaburzenia słuchu i równowagi. Z powodu braku badań porównawczych nie wiadomo czy zmiany te występują częściej u osób zakażonych HIV.

Obecność nietypowych zmian chorobowych może utrudniać właściwą diagnozę, tym bardziej, że znane są przypadki braku pozytywizacji serologicznych odczynów kilowych. U tych pacjentów rozpoznanie kily możliwe było wyłącznie na podstawie badania histopatologicznego i wykazania obecności kretków w wykwitach chorobowych metodami histochemicznymi.

Nie ma zgodnej opinii na temat zachowanie się odczynów serologicznych w czasie choroby i w kontroli po leczeniu kily. Część autorów stwierdziła niższe miana odczynów i szybszą ich negatywizację, inni - wyższe, niż w grupie kontrolnej, miana i ich wolniejsze obniżanie się.

Możliwość zajęcia centralnego układu nerwowego i agresywnego przebiegu kily spowodowała modyfikację w terapii. Bez względu na postać kily, u pacjentów ze współistniejącym zakażeniem HIV, stosuje się penicylinę krystaliczną we wlewach dożylnych 4x6 mln.j. przez 10-15 dni i kontynuuje leczenie penicyliną prokainową w dawce dziennej 1,2 mln. j im do 30 dni.

Nietypowy przebieg kily powinien zwrócić uwagę klinicysty na potrzebę zbadania pacjenta w kierunku zakażenia HIV. Badanie to wskazane jest także - o ile pacjent wyraża zgodę - u wszystkich leczonych z powodu kily.

Chociaż u większości osób z HIV/AIDS przebieg kliniczny i serologiczny kily jest typowy, konieczne jest uwzględnienie kily w rozpoznaniu różnicowym niecharakterystycznych zmian skórnych, neurologicznych oraz w narządzie wzroku i dokładna diagnostyka mikrobiologiczna, serologiczna, a gdy to konieczne także histopatologiczna.

W dobie dramatycznego wzrostu zachorowań na kilę w krajach sąsiadujących od wschodu i zwiększonej liczby przypadków w Polsce można spodziewać się coraz częstszych zachorowań na kilę wśród osób zakażonych HIV.

PIŚMIENNICTWO

1. Balachandra C., Sabita L., Kanthraj G.R. Genitourin. Med. 1997; 73: 225
2. Bań MM., Shulkin D. J., Abell E.: J. Am. Acad. Dermatol. 1989; 21: 1310-1312
3. Balan G. The AIDS knowledge base edited by Cohen PT, Sande MA; Yolberding PA. 1999: 787-799
4. Hutchinson C.M., Rompalo A.M, Reichart CA; Arch. Intern. Med. 1991; 151: 511-516
5. Radolf J.D., Kapłan R.P; J.Am.Acad.Dermatol. 1988; 18: 423-428
6. Sands M., Markus A.; Clin. Infect. Dis. 1995; 20: 387-390
7. Schofer H., Imhof M., Thoma-Berger E.; Genitorin. Med. 1996; 72: 176-181
8. Tucker S.C, Yates V.M., Thambar I.V. Br. J.Dermatol. 1997; 136: 946-948
9. Yinnon AM., Coury-Doniger P., Polito R.; Arch. Intern. Med. 1996; 156: 321-325

Zapalenia cewki moczowej i narządu rodnego

Zygmunt Dajek

Instytut Wenerologii Akademii Medycznej w Warszawie

Podobnie jak w innych krajach, w Polsce są to najczęstsze zakażenia przenoszone drogą płciową; należy do nich rzeżączka (Gonorrhoea) i nierzeżączkowe zapalenia cewki moczowej (nongonococcal urthritis = NGU).

Zapalenie cewki moczowej jest najdawniej opisaną chorobą weneryczną; już w Biblii można znaleźć o niej wzmianki. Na początku naszej ery Galen opisał to schorzenie i określił jako gonorrhoea (po grecku = wyciek nasienia), co dziś oznacza rzeżączkę, jednak Galen opisał w ten sposób tylko charakter obserwowanej wydzieliny. Czym właściwie jest rzeżączka wiemy dopiero od 1879 r., gdy Neisser w niektórych przypadkach zapalenia cewki moczowej w badaniu mikroskopowym wydzieliny, wykrył charakterystyczne bakterie, które nazwał *Neisseria gonorrhoeae* (Ng), nawiązując do Galena. W 1882 r. bakterię tę wyhodowano na podłożu sztucznym, jednak nie w każdym przypadku zapalenia cewki moczowej udawało się ją wykryć. Mówiono zatem o rzeżączce bakteryjnej, gdy ją wykrywano i o rzeżączce niebakteryjnej, gdy dwójki rzeżączki nie znajdowano, pozostając ciągle jednak przy określeniu rzeżączka. Sprzyjało temu także leczenie, w obu postaciach choroby takie samo i tylko objawowe. Leczenie penicyliną zapaleń cewki moczowej zastosowane po raz pierwszy w 1942 r. stanowiło przełom; penicylina okazała się bowiem niezwykle skuteczna w zapaleniu rzeżączkowym (rzeżączka bakteryjna), a to że nie miała wpływu na inne postaci zapalenia cewki moczowej dało podstawę do jasnego wyodrębnienia nierzeżączkowego zapalenia cewki moczowej (NGU).

W kolejnych latach ustalono, że zakażenia należące do NGU mogą być wywołane przez kilka różnych czynników etiologicznych. W Polsce około 50% przypadków NGU spowodowanych jest przez zakażenie *Chlamydia trachomatis* (Ct), pozostałe wywoływane są przez *Ureaplasma urealyticum* (Uu), *Gardnerella vaginalis* (Gv), *Trichomonas vaginalis* (Tv) i także bardzo rzadko jeszcze inne czynniki, jednak nigdy nie są to bakterie należące do *Enterobacteriaceae*. Jest bardzo charakterystyczne, że w przebiegu obu zakażeń - rzeżączki i NGU jedynym zajmowanym fragmentem układu moczowego jest cewka moczowa (głównie jej dystalna część), zakażenia te nigdy nie przechodzą na wyższe piętra układu moczowego. Dlatego określanie tych zakażeń jako zajmujących dolne odcinki układu moczowo-płciowego jest mniej precyzyjne niż nazywanie ich zapaleniami cewki moczowej i narządu rodnego.

Zapalenie cewki moczowej u mężczyzn, jakkolwiek by ono miało etiologię, może być problemem wyłącznie tych mężczyzn, którzy są aktywni seksualnie, zatem jest to zawsze reakcja błony śluzowej cewki moczowej na odchylenia od stanu prawidłowego w obrębie narządu rodnego występujące u partnerki. Także, niezależnie od etiologii, zapalenie cewki moczowej ma u mężczyzn zawsze jednoznaczne, choć o różnym nasileniu, objawy kliniczne:

- nieprawidłową wydzielinę w ujściu cewki; w jej rozmazie w badaniu mikroskopowym obecność > 4 leukocytów w polu widzenia mikroskopu świetlnego (średnia z 10 pól) przy powiększeniu 1000x; badanie należy wykonać najlepiej po całonocnym wstrzymaniu mikcji lub po 4 godzinach od oddawania moczu
- dysurię, czyli dyskomfort przy oddawaniu moczu lub wkrótce potem (pieczenie, swędzenie, ból); dolegliwości te występujące bez związku z oddawaniem moczu nie mogą być określane mianem dysurii, zatem nie mogą być uważane za objaw zapalenia cewki moczowej.

Wymienione objawy kliniczne, bardzo dla mężczyzny jednoznaczne powodują, że prawie bez wyjątku mężczyźni szukają pomocy lekarza, a lekarz może szybko postawić diagnozę. Inaczej ten problem przedstawia się u kobiet, bowiem przenoszone drogą płciową choroby, które u mężczyzn manifestują się zapaleniem cewki moczowej, u kobiet mogą przebiegać z objawami zapalenia kanału szyjki macicy (cervicitis) i/lub zapalenia cewki moczowej (urethritis) a także zapa-

Zapalenia cewki moczowej i narządu rodnego

lenia pochwy (vaginitis, vaginosis); jednak podobne objawy kliniczne mogą być spotykane także przy innych, ginekologicznych schorzeniach. Niestety u kobiet bardzo często zakażenia te przebiegają bezobjawowo lub skąpoobjawowo, mogą też być trudne do zauważenia przez lekarzy.

To, że u mężczyzn objawy zapalenia cewki moczowej są łatwo przez nich dostrzegane i, że zaniepokojeni nimi mężczyźni szybko zwracają się o pomoc do lekarza, powinno być przez lekarzy skrupulatnie wykorzystane do objęcia badaniem i leczeniem partnerek; dolegliwości męskiej bywają bowiem bardzo często rewelatorem problemu jego partnerki, o którym ona sama może nie wiedzieć.

Obowiązujący i ciągle jeszcze spełniający swoje zadanie podział na zapalenie rzeżączkowe i nierzeżączkowe cewki moczowej i narządu rodnego nie jest już tak jednoznaczny jak kiedyś. Obecnie wiadomo, że zakażenia wywołane przez dwoinki rzeżączki i przez należące do czynników etiologicznych NGU chlamydie są sobie znacznie bliższe, niż chlamydie i znajdujące się także w grupie NGU ureaplasmy.

Cała historia odkrywania przyczyn zapalenia cewki moczowej jest właściwie historią ukrywania się Ct w cieniu Ng. Dlatego nie możemy być pewni, czy Galen rzeczywiście opisał rzeżączkę, czy może chlamydiozę, czy też schorzenie wywołane przez jednoczesne zakażenie tymi dwoma drobnoustrojami. Porównując wydzielinę zapalną w przypadku rzeżączki i wydzielinę w chlamydiozie, większe podobieństwo do nasienia ma przecież ta ostatnia. Na dobre Ct została „wydobyta” z cienia rzeżączki dopiero w 1965 r., gdy udało się ją wyhodować; następne lata są związane z ogromnym rozwojem badań nad tym drobnoustrojem. Okazało się, że Ct jest wyjątkowo przystosowana do życia i rozwoju wewnątrz komórki człowieka; może się rozmnażać tylko przy wykorzystaniu ATP komórki gospodarza i być może człowiek był zagrożony przez tę bakterię od bardzo dawna, być może nawet wcześniej niż przez Ng.

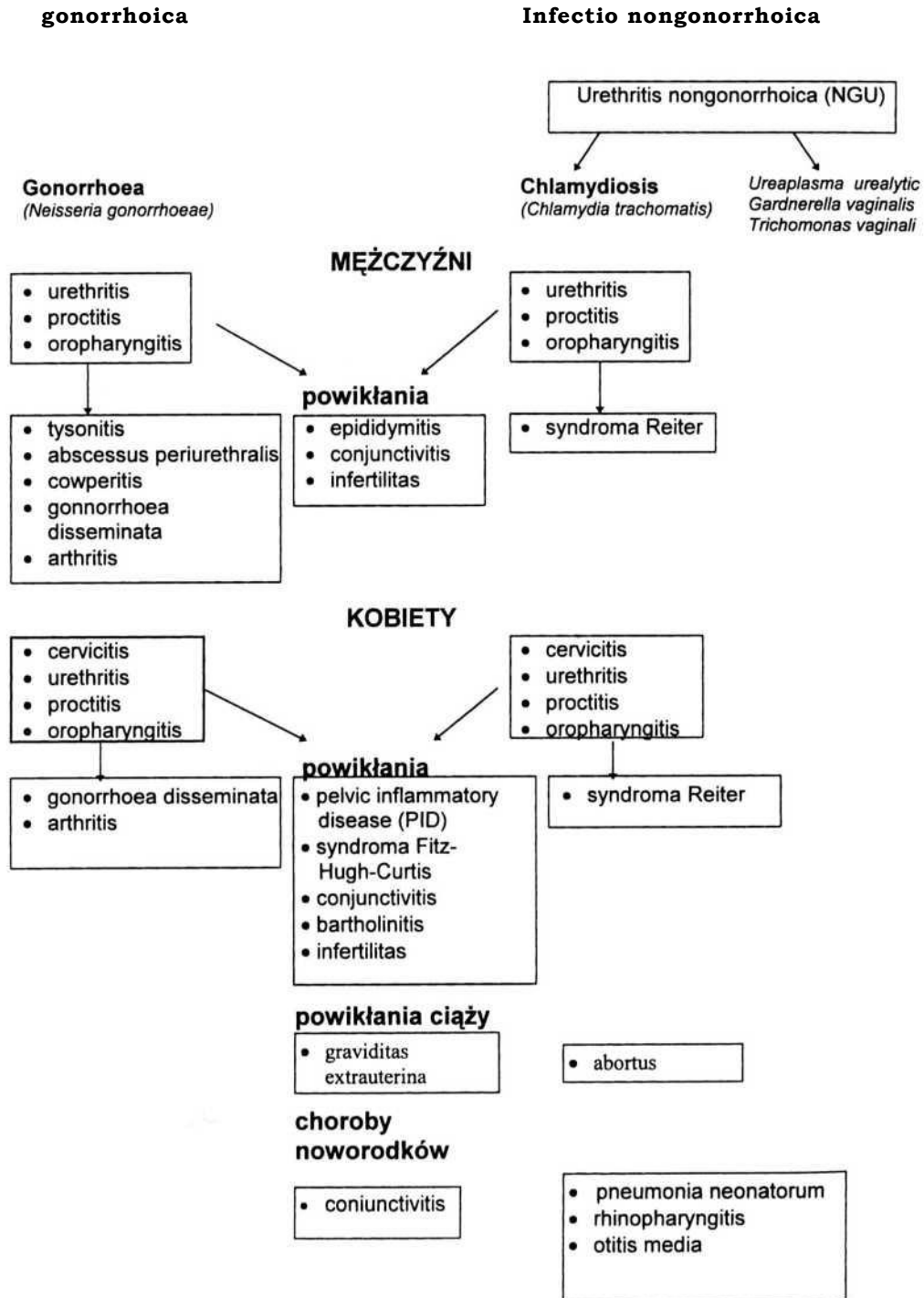
Jasne wyodrębnienie spośród zapaleń cewki moczowej rzeżączki i NGU, a następnie wykrycie Ct, najczęstszego czynnika powodującego NGU, było możliwe nie dzięki charakterystycznym klinicznym objawom zakażenia Ct, istotnie różniącym się od zakażenia Ng, ale dzięki reakcji na penicylinę.

Tabela I przedstawia schorzenia i ich powikłania występujące przy zakażeniu Ng i Ct. Mogą być one przekazywane zarówno drogą kontaktów heteroseksualnych jak i homoseksualnych, często obydwie zakażenia przekazywane bywają jednocześnie. Widzimy, że zakażenia te mogą manifestować się identycznymi lub bardzo podobnymi objawami klinicznymi i powikłaniami. Podkreślić należy, że brak jest dowodów na udział Ng i Ct w wywoływaniu zapalenia gruczołu krokowego. Objawy zakażenia Ct są zwykle mniej ostro wyrażone, szczególnie u kobiet. Wśród nich obserwujemy także wiele przypadków zakażeń bezobjawowych. Natomiast powikłania zakażeń Ct mogą być takie same jak w rzeżączce, która zwykle przebiega ostrzej. Zakażenie Ct jest też obarczone większym niż w rzeżączce ryzykiem wystąpienia u kobiet chorób narządów miednicy małej (Pelvic inflammatory disease = PID), ciąży pozamacicznej a także ryzykiem przeniesienia zakażenia na płód i poronieniem. W przypadku zakażenia noworodka przy przechodzeniu przez kanał rodny może u niego wystąpić zapalenie płuc (pneumonia neonatorum) i/lub zapalenie górnych dróg oddechowych (laryngitis, pharyngitis, a także chlamydialne (wtętowe) zapalenie spojówek. Wykrycie zakażenia Ng, podobnie jak zakażenia Ct u mężczyzny wymaga badania i leczenia partnerek, i odwrotnie. Wykrycie natomiast tych zakażeń u noworodka, tak jak wykrycie zakażenia kiłą wymaga badania i leczenia rodziców. Należy podkreślić, że badania serologiczne krwi, zarówno w rzeżączce, jak i w chlamydiozie (wywołanej przez *Chlamydia trachomatis*) nie mają żadnej diagnostycznej wartości.

Ct potrafiła przez wiele lat doskonale ukrywać się w cieniu rzeżączki a obecnie także stwarza wiele problemów. Wykrywanie tego drobnoustroju było i nadal jest znacznie trudniejsze i kosztowniejsze niż wykrywanie dwoinek rzeżączki. Specyfika zakażeń Ct i ich trudna diagnostyka sprzyjały powstawaniu mitów i legend na temat chlamydii. Jest zastanawiające, że te mity i legendy szczególnie łatwo powstawały w naszym kraju. Z jednej strony zakażenia te bywają lekceważone, traktowane jako coś co może i jest związane z kontaktami płciowymi, ale

Choroby przenoszone drogą płciową

Tabela 1. Przenoszone drogą płciową zakażenia cewki moczowej i narządu rodnego **Infectio**



Zapalenia cewki moczowej i narządu rodnego

jest przecież znacznie „elegantsze” od rzeżączki, lub też Ct bywa traktowana jako „chłopiec do bicia”, odpowiedzialny za zupełnie nie popełnione czyny, albo jak wytrych, którym można otworzyć drogę do wyjaśnienia spraw z którymi Ct nie ma nic wspólnego. Ogromne zamieszanie wywołują testy serologiczne, które wg opinii CDC nie mają żadnej diagnostycznej wartości, a które ciągle są wykonywane i na ich podstawie często podejmowane są fałszywe decyzje. Zważywszy, że dotyczy to choroby par excellence wenerycznej, a więc wymagającej wdrożenia postępowania epidemiologicznego, które może prowadzić do fałszywych podejrzeń i oskarżeń bliskich sobie ludzi - jest to szczególnie naganne.

W Morbidity and Mortality Weekly Report (MMWR) ze stycznia 1997 r. zawierającym zasady leczenia chorób przenoszonych drogą płciową, rozdziały i podrozdziały odnoszące się do rzeżączki i chlamydiozy mają prawie identyczną objętość i układ. W Wielkiej Brytanii i w Szwecji, gdzie działania społeczne w zwalczaniu chorób przenoszonych drogą płciową prowadzone są najskuteczniej, konsekwencją wspólną, choć dopiero niedawno odkrytej historii tych dwóch zakażeń, jest jednakowe traktowanie rzeżączki i chlamydiozy, jako chorób społecznych z prawem do bezpłatnego diagnozowania i leczenia. Ze względu na to, że zakażenia Ct stanowią w tych krajach (podobnie jak u nas) większość przypadków NGU, prawo to obejmuje wszystkie postacie NGU. W Polsce, bezpłatnie prowadzi się tylko pacjentów chorych na kiłę i rzeżączkę, a problem chlamydiozy mimo, że społecznie poważniejszy i w konsekwencji kosztowniejszy niż rzeżączka, nie jest właściwie rozumiany.

Ng i Ct należą do bakterii, które nie występują u ludzi zdrowych. Inaczej jest z innymi bakteriami takimi jak Uu i Gv, które mogą także wywoływać w sprzyjających warunkach NGU, jednak są one także składnikami normalnej mikroflory człowieka.

Rola Uu nie jest dobrze poznana, bakterie te raczej kolonizują niż zakażają błony śluzowe narządów płciowych. U aktywnych seksualnie kobiet stwierdza się je aż w 78-98%, a u aktywnych seksualnie mężczyzn w 30%. U dzieci urodzonych przez kobiety, które mają Uu także izoluje się je z błon śluzowych narządów płciowych i gardła, częściej u dziewczynek niż u chłopców, jednak w ciągu pierwszego roku życia następuje ich stopniowe znikanie z błon śluzowych. Młodzież do okresu pokwitania jest wolna od Uu, mogą pojawić się one wraz z rozpoczęciem życia płciowego, a częstość ich występowania zależy od promiskuityzmu badanych. W sprzyjających okolicznościach mogą powodować urethritis u mężczyzn. Prace na temat występowania Uu w schorzeniach kobiet są trudne do oceny, ponieważ stwierdza się je u ogromnego odsetka zdrowych kobiet.

Gn jest drobnoustrojem jeszcze mniej poznany niż Uu. Wykrywa się tę bakterię u 90% kobiet z bakteryjnym zapaleniem pochwy (vaginosis) i u 70-90% ich partnerów (większość z nich nie ma żadnych klinicznych objawów zakażenia), a także u 30-10% zdrowych kobiet. W przypadku vaginosis, u partnera może rozwinąć się zapalenie cewki moczowej.

Rzęsistkowica, wywoływana przez Tv, kiedyś bardzo rozpowszechniona, a obecnie już bardzo rzadka, była powszechnie uważana za chorobę tylko kobiet. I rzeczywiście, większość mężczyzn, nawet gdy utrzymują kontakty z zakażonymi kobietami nie ma żadnych dolegliwości (jednak niewątpliwie ulegają zakażeniu, ponieważ mogą zakażać inne partnerki), a kobiety mogą się także zakażać wzajemnie poprzez wspólne używanie urządzenia higieniczne. W sprzyjających okolicznościach (wady anatomiczne ujścia cewki moczowej, zmiany pozapalne lub pourazowe) zakażenie Tv może spowodować u mężczyzn ropny wyciek z cewki, jednak często tylko z niewielką dysurią. Powikłaniem zakażenia może być zapalenie żołądki i napletka (może dojść do stulejki), a czasem nawet zapalenia najądrza.

Należy pamiętać, że chociaż każdy z wymienionych drobnoustrojów może spowodować zapalenie cewki moczowej samodzielnie, to bardzo często pacjenci zgłaszają się z objawami choroby wywołanej przez kilka przyczyn jednocześnie.

Jak już podkreślono, każdy przypadek zapalenia cewki moczowej u mężczyzn ma naturę weneryczną, dlatego badanie i leczenie powinno obejmować oboje partnerów.

ZAKAZENIA POTRANSFUZYJNE

Zakażenia w krwiolecznictwie

Mirosław KŁOS

Zakład Transfuzjologii i Transplantologii, Centralny Bank Krwi, CSK WAM, Warszawa

Streszczenie: Transfuzje krwi i jej preparatów niosą za sobą pewne ryzyko powikłań immunologicznych i nieimmunologicznych. Potransfuzyjne powikłania nie-immunologiczne występują w zależności od kraju u około 1% osób otrzymujących krew i preparaty krwiopochodne. Około 30% tych powikłań stanowią wirusowe infekcje (HAV, HBV, HCV, HDV, nie-A, nie-B, CMV,

HIV 1/2, HTLV VII, wirus Epstein-Barr, Parwovirus B19) powodowane przez pasożyty (malaria, babezjoza, trypanosomatoza, toksoplazmoza, leiszmanioza, fila- rioza), krętki (kiła, borelioza), bakteryjne zakażenia (yersinia), bakterie (gram dodatnie i ujemne) i riketsje. Ostre objawy bezpośrednio po transfuzjach są często związane z przetoczeniem krwi niezgodnej grupowo, z obecnością przeciwciał an- tyleukocytarnych, lub reakcjami alergicznymi i są częstsze niż infekcje wirusowe i bakteryjne.

Wzrost transfuzji koncentratów płytkowych w ostatnich 20 latach zwiększył liczbę powikłań, szczególnie bakteryjnych. Zakażenia wirusami i parazytami są częstsze, jednak powikłania po zakażeniu występują w okresie późniejszym. Zakażenia nimi zależą od stanu badań dawców krwi i sytuacji epidemiologicznej istniejącej w danym kraju. W Polsce podobnie jak w innych krajach Europejskich, wprowadzanie nowych kosztownych technik diagnostycznych stworzyło sytuację, że leczenie preparatami krwiopochodnymi nie było jeszcze nigdy tak bezpieczne jak obecnie pomimo stosowania coraz większej ilości tych preparatów.

W ostatnich latach liczba badanych markerów chorób infekcyjnych dawców krwi ciągle wzrasta. Przed 1984 rokiem, u dawców krwi, wykonywano tylko dwa testy w kierunku obecności zakażenia kiły i wirusa wywołującego zapalenie wątroby typu B. W końcu lat 90-tych krew powinna być badana w zależności od kraju na dziewięć markerów różnych chorób zakaźnych. Być może w następnych latach będą wprowadzane nowe testy do badania dawców krwi i narządów.

Wirusy, parazyty i bakterie które mogą być przenoszone przez krew i wywoływać różne choroby przedstawia tabela I.

Większość chorób przenoszonych przez krew i związanych z tym powikłań ma podłoże wirusowe. Wirusy mogą być przenoszone przez komórki dawcy jak i przez osocze (tabela II).

Największym zagrożeniem związanym z przeniesieniem wirusów poprzez **transfuzje** krwi są wirusy wywołujące zapalenia wątroby. Tylko frakcjonowane preparaty osoczone, które są inaktywowane różnymi metodami są bezpieczne od wirusów wywołujących zapalenia wątroby. Chociaż ryzyko potransfuzyjne zapalenia wątroby zmniejszyło się radykal-

Tabela I Powikłania infekcyjne po transfuzjach krwi.

Wirusowe zapalenie wątroby typu A
Wirusowe zapalenie wątroby typu B
Wirusowe zapalenie wątroby typu C
Wirusowe zapalenie wątroby typu D
Wirusowe zapalenie wątroby typu nie A,
nie B AIDS/ HIV 1/2 Cytomegalia
Mononukleozą (infekcja wirusem Epstein-Barr) Białaczka
komórek T
Tropikalne porażenie spastyczne HTLV I/II
Babezjoza
Trypanosomatoza
Borelioza z Lyme
Choroba Creutzfelda-Jacoba (nv CJD)
Malaria
Kiła
Toksoplazmoza Parwowirus B-19 Leiszmanioza i filarioza

Tabela II Wirusy które mogą być przenoszone przez transfuzję krwi

Wirusy wykrywane w osoczu:

- HBV
- Delta
- HCV
- HAV (rzadko)
- nie A, nie B, nie C
- Parvovirus B-19
- HIV 1/2

Wirusy związane z komórkami krwi:

- CMV
- Wirus Epstein-Barr
- HTLV VII
- HIV 1/2

nie w ciągu ostatnich 20 lat, to jednak u biorców u których dokonuje się wielokrotne transfuzje, istnieje możliwość wystąpienia od 2 do 4% powikłań.

Oczywiście ryzyko wirusowych zakażeń wątroby jest bezpośrednio proporcjonalne do liczby otrzymanych transfuzji. W chwili obecnej wirusowe zapalenia wątroby typu C oraz nie A-E są odpowiedzialne za większość przypadków zakażeń wątroby.

Zakażenia biorców HAV są rzadkie poprzez transfuzję krwi i preparatów krwiopochodnych ponieważ nie występuje stałe nosicielstwo tego wirusa. Stwierdzano jednak przypadki zakażeń krwi i preparatów krwiopochodnych, kiedy u dawcy wystąpiła przejściowa wiremia w okresie 2 do 6 tygodni od pobrania krwi. Ogółem opisano dotychczas 25 przypadków zakażeń wirusem HAV poprzez krew i preparaty krwiopochodne. Należy podkreślić, że u osób dorosłych, przeciwciała przeciwko temu wirusowi występują w ponad 90%.

Zakażenia potransfuzyjne

HBV przenoszony był bardzo często przez krew i preparaty krwiopochodne przed wykonywaniem badań dawców krwi w tym kierunku.

Wprowadzenie w 1972 roku rutynowo testu w kierunku HBs Ag zmniejszyło o prawie 60% potransfuzyjne zakażenia wątroby.

Udoskonalenie testów, zwiększenie czułości i swoistości pozwoliło na zredukowanie możliwości zakażenia prawie do minimum. Oczywiście stopień zakażenia biorcy krwi, preparatów komórkowych i osocza istnieje kiedy dawca znajduje się w okresie tzw. okienka serologicznego, a częstość zakażeń jest skorelowana z częstością występowania zakażeń HBV na danym obszarze. Z tych względów obok wykrywania HBs Ag wprowadzono u dawców dodatkowe badania anty-HBc i ALAT.

Okienko serologiczne tzn. liczba dni od zakażenia do wykrycia markera HBs Ag, przeciwciał anty HCV i anty HIV przedstawia tabela III.

Wprowadzenie badań z zastosowaniem metod biologii molekularnej znacznie zmniejszyło okienko serologiczne.

Tabela III Liczba dni od zakażenia do wykrycia markera wirusowego w surowicy (okienko serologiczne)

	Średnio	Najdłużej	Badania genetyczne (PCR)
HBV	59	128 dni	25
HCV	86	189dni	59
HIV	22	45dni	11
HIV*	16	45 dni	5
HTLV	51	nieznane	nieznane

*Jeśli stosuje się testy wykrywające antygen rdzeniowy p24

Prowadzone w Polsce, przez prof. Seyfried (Instytut Hematologii i Transfuzjologii), badania dawców pierwszorazowych i wielokrotnych wykazały, że nie zmniejsza się w latach 1996–1998 częstość markerów zarejestrowanych u dawców zgłaszających się po raz pierwszy do oddawania krwi. Obrazuje to częstość występowania zakażeń w populacji polskiej. Dane u wielokrotnych dawców mogą świadczyć o ich liczbie w okienku serologicznym.

Tabela IV Markery wirusowe u krwiodawców w latach 1996–1998 (wg prof. Seyfried)

Rok	Częstość/donacje			Częstość/liczba dawców			Wielokrotni		
	HbsAg	-HCV	-HIV	HbsAg	-HCV	-HIV	HbsAg	-HCV	-HIV
1996	0,19	0,27	0,002	0,91	1,06	0,002	0,08	0,27	0,002
1997	0,14	0,19	0,002	0,88	0,92	0,008	0,05	0,27	0,004
1998	0,18	0,20	0,002	0,84	0,83	0,009	0,06	0,19	0,002

Polska należy do krajów europejskich o wysokiej częstości występowania markerów HBV i HCV w porównaniu do krajów Europy Zachodniej i krajów skandynawskich (od 10 do 100 krotnie mniejsze w wymienionych krajach). Wyższa częstotliwość występuje w krajach Europy Wschodniej, Grecji i Turcji.

Wprowadzony w Polsce program szczepień przeciw HBV zmniejszył liczbę dawców którzy mogą zakażać poprzez krew i preparaty krwiopochodne. Możliwość zakażeń HCV po

zostaje wysoka pomimo wprowadzania kolejnych nowych generacji testów do badań krwiodawców. Ryzyko zakażenia HCV pozostaje duże ze względu na wysoki stopień zakażenia w naszym kraju. Ryzyko zakażenia przedstawia tabela V.

Tabela V Częstość zakażeń wirusowych w przeliczeniu na jednostki przetocznej krwi (wg. prof. Seyfried)

Wirus	Częstość/liczba jednostek
HBV	1/30 000 – 1/250 000
HCV	1/30 000 – 1/150 000
HIV	1/200 000 – 1/2000 000

Częstość poprzetoczeniowych zakażeń waha się w szerokich granicach w zależności od częstości nosicielstwa wirusów w różnych krajach.

W Polsce najmniejsze ryzyko zakażenia poprzetoczeniowego dotyczy HIV (1 na 2 miliony). Liczba zakażonych HIV kandydatów na krwiodawców i wielokrotnych dawców wynosiła 236 osób, od początku rozpoczęcia badań tzn. od 1985 roku, dane do 30 czerwca 2000 roku. W Polsce zarejestrowano 12 przypadków poprzetoczeniowego zakażenia HIV w tym 6 chorych zakaziło się przetoczonymi preparatami przed wprowadzeniem badań krwiodawców, natomiast 6 chorych zakaziło się krwią od dawców w okienku serologicznym.

Kolejnym problemem transfuzjologii jest zakażenie cytomegalowirusem (CMV), chorych po transplantacjach szpiku, chorych z obniżoną odpornością. W Polsce od 1 do 2% preparatów komórkowych (świeżych do 7 dni) może być przyczyną powikłań ze względu na wysoki stopień obecności tego wirusa u dawców od 50 do 70%. Zastosowanie filtracji krwi zmniejszyło ryzyko zakażeń tym wirusem.

Innym wirusem przenoszonym przez transfuzje krwi i transplantowane organy jest wirus Epstein-Barr wywołujący mononukleozę. Jednak ponad 90% dawców krwi ma przeciwciała do tego wirusa. Zapobiegać przeniesieniu tego wirusa można usuwając leukocyty przez filtrację.

Kolejnym wirusem, który może być przeniesiony przez krew jest ludzki parwovirus B19. Głównie obserwowano zakażenia tym wirusem poprzez preparaty krwiopochodne i koncentraty czynnika VIII i IX produkowane z pulowanego osocza /osocze od 1000 do 3000 dawców/. W Polsce w badaniach prowadzonych przez Gawędę, na krwiodawcach w wieku 19-23 lata, przeciwciała anty-B19 wykrywano w 32,3%. Jednak ryzyko zakażenia parwovirusem B19 przez krew i preparaty krwiopochodne jest w Polsce niewielkie.

Do chwili obecnej nierozwiązanym nowym problemem jest sprawa prionów i choroby Creutzfelda-Jacoba. Jednak w wielu krajach Europy Zachodniej wprowadzono restrykcje w krwiodawstwie i krwiolecznictwie mające na celu zapobieżenie przeniesienia tej choroby z przetaczaną krwią i jej preparatami. W Polsce zgodnie z zaleceniami Rady Europy przed przeniesieniem prionów odpowiedzialnych za chorobę Creutzfelda-Jacoba eliminuje się kandydatów na krwiodawców leczonych w przeszłości hormonami ludzkiej przysadki, dawców u których dokonano przeszczepów opony twardej i rogówki oraz u których w rodzinie wystąpiła choroba Creutzfelda-Jacoba.

Pierwszym badaniem dawców krwi, które było wykonywane u krwiodawców były badania w kierunku kiły. Badanie to przez wiele lat było głównym badaniem krwiodawców ze względu na sytuację epidemiologiczną powstałą w okresie II wojny światowej. W ostatnim okresie jest to głównie zakażenie drogą seksualną i badanie to ponownie ma duże znaczenie u krwiodawców w Polsce i w krajach Europy Wschodniej. Badanie to wśród dawców krwi ma głównie znaczenie epidemiologiczne niż transfuzjologiczne ze względu na krótki okres żywotności krętka (*Treponema pallidum*)

Zakażenia potransfuzyjne

w pobranej krwi (2-3 dni), jednak nie przetacza się krwi i jej pochodnych od osób seropozytywnych.

Istotnym problemem światowym, szczególnie w krajach rozwijających się, jest liczba potencjalnych dawców krwi zakażonych *Plasmodium falciparum*. W Polsce przyjęto okres karencji do oddawania krwi dla osób przebywających w rejonach endemicznych dla tej choroby. W krajach endemicznych dla zimnicy dawcy krwi otrzymują leki przeciwmalaryczne, a w niektórych krajach podaje się chorym po transfuzjach również leki przeciwmalaryczne.

W krajach Ameryki Łacińskiej rutynowo wykonywanym badaniem jest wykrywanie przeciwciał przeciw *Trypanosoma cruzi*. *Trypanosoma cruzi* powoduje trypanosomatozę zwana chorobą Chagasa jest drugim obok zakażeń HIV zakażeniem spowodowanym przetaczaniem krwi i preparatów krwiopochodnych.

Wymieniane są również rzadko opisywane zakażenia pierwotniakami poprzez przetoczenia krwi takimi jak: *Toxoplasma gondii*, *Babesia microti*, *Leishmania donovani*. Pomimo wprowadzenia tworzyw sztucznych do pobierania i przechowywania istnieje możliwość zakażeń bakteryjnych biorcy przez preparaty krwiopochodne.

Najczęstszymi bakteriami, które mogą znajdować się w preparatach powodują śmiertelność biorców to *Yersinia enterocolitica*. Inne bakterie którymi zakażone są preparaty płytkowe to *Staphylococci*, *Salmonella*, *Serratia marcescens*. Śmiertelność po przetoczeniach zakażonych preparatów może wynosić 25%. W przyszłości kolejnym problemem transfuzjologii mogą być odkryte w ostatnich latach wirusy GBV-C /HGV, KSAV/HHV-8, TTV oraz SEN-V.

Niezależnie od wykonywania badań przesiewowych wprowadza się szeroko pojętą samoeliminację dawców oraz rozszerza się przeciwwskazania do oddawania krwi na podstawie wywiadów, badań przedmiotowych i laboratoryjnych, celem zmniejszenia zagrożenia związanego ze stosowaniem preparatów krwiopochodnych. Doskonalone są techniki (czułość testów) do badań laboratoryjnych dawców, jak również metody inaktywacji preparatów komórkowych krwi, osocza oraz nowoczesnych technologii do wytwarzania preparatów osoczo-pochodnych.

Przetaczanie krwi i preparatów krwiopochodnych w Polsce podobnie jak w innych krajach Europy Zachodniej jest obarczone niewielkim ryzykiem. Kierunki leczenia krwią i jej preparatami zmierzają do ograniczenia jej stosowania zgodnie z zasadą leczenia składnikami krwi a transfuzji aktualnie brakującego składnika krwi „component terapii” oraz wykonywania badań dawcy według aktualnego stanu wiedzy.

Parwovirus B19 epidemiologia i ryzyko zakażeń poprzez krew i preparaty krwiopochodne

Parwovirus B19 epidemiologia i ryzyko zakażeń poprzez krew i preparaty krwiopochodne

Jolanta Gawęda

Zakład Transfuzjologii i Transplantologii Centralny Bank Krwi Centralny Szpital Kliniczny
Wojskowej Akademii Medycznej w Warszawie

STRESZCZENIE: W ostatnich latach wykazano, że ludzki parwovirus B19 może być przenoszony przez transfuzje krwi. Powoduje on u dzieci rumień zakaźny lub tzw. piątą chorobę, a u dorosłych przewlekłe zapalenia stawów, ponadto może powodować zespół przewlekłej hemolizy, ostrą białaczkę limfocytarną i aplazję szpiku. Materiał genetyczny wirusa składa się z jednoniciowego łańcucha DNA. Dotychczasowe badania wykazały, że około 50% osób dorosłych przeszło infekcję tym wirusem. Badania własne wykonano w surowicach pobranych od: 1963 honorowych krwiodawców, w tym 1619 pierwszorazowych dawców krwi i 344 wielokrotnych dawców osocza; 162 chorych oddziału hematologicznego; 48 wielokrotnych biorców krwi; 472 osób nieleczonych dotychczas krwią. Przeciwciała wykrywano testem Parvovirus B19 IgG i IgM ELISA firmy IBL, antygen parwovirusa B19 testem hema- glutynacyjnym ID-Parvovirus B19 firmy DiaMed.

W grupie 1963 honorowych krwiodawców anty-B19 IgG stwierdzono u 32,3%, a w klasie IgM u 0,4%. Badania w grupach wiekowych wykazały, że u młodych osób, do 18 r.ż. anty-B 19 IgG występują z częstością 35,1 %. Wraz z wiekiem wzrasta częstość i maksimum osiąga w grupie wiekowej 41-50 lat - 52,1%. Nieznacznie maleje po 51 r.ż do 46,9%. Średnio w populacji anty-B 19 w klasie IgG spotyka się z częstością 43,2%. W grupie 162 chorych z chorobami hematologicznymi anty-B 19 IgG wykryto u 41,3%, a w klasie IgM u jednego chorego (0,6%) z objawami ostrego zakażenia parwovirusem B19. U tego chorego wykryto też antygen parwovirusa B19. Przeprowadzono również badania 48 wielokrotnych biorców krwi: przed przetoczeniem krwi i 1 miesiąc po ostatniej transfuzji. U żadnego chorego nie zaobserwowano nowego zakażenia parwovirusem B19.

Wstęp

Ludzki parwovirus B19 jest wirusem o jednoniciowym DNA zaliczanym do rodzaju *Parvovirus*. Inne zwierzęce wirusy tego rodzaju jak: psi, koci, nie są zakaźne dla ludzi, a ludzki parwovirus B19 nie jest zakaźny dla innych zwierząt (1).

Objawy wywołane przez PVB19 są na ogół łagodne. U dzieci i młodzieży jest to głównie rumień zakaźny (piąta choroba). U dorosłych obserwowano przejściowe objawy reumatyczne i zapalenie stawów (1,13,18). Jednakże, u kobiet w ciąży, pacjentów z wrodzonymi lub nabytymi zespołami upośledzenia odporności, zakażenie PVB19 może powodować ciężkie, zagrażające życiu choroby. Mogą się one objawiać: obrzękiem płodu, ostrą aplastyczną lub hypoplastyczną anemią, albo anemią przewlekłą. Są one rezultatem powinowactwa PVB19 do komórek szybko dzielących się, szczególnie prekursorów układu czerwono-krwinkowego (1, 2, 3, 13, 15).

W ostrej fazie zakażenia swoiste przeciwciała anty-B 19 w klasie IgM poprzedzają wystąpienie przeciwciał w klasie IgG. Przeciwciała IgM raptownie zanikają w okresie 3-8 miesięcy po zakażeniu. Utrata przeciwciał IgM wskazuje na świeże zakażenie, jak również pojawianie się przeciwciał IgG. Zarówno przeciwciała IgM jak i IgG mają aktywność neutralizującą, ponadto przeciwciała IgG zapewniają długoterminową odporność (1).

Jak wykazują badania zakażenia PVB19 występują na całym świecie i o wszystkich porach roku, mogą mieć charakter epidemiczny jak i sporadyczny.

Zakażenia potransfuzyjne

Materiał i metody

Materiałem do badań była surowica krwi pobrana od

- 1963 honorowych krwiodawców w wieku 19-23 lat, w tym 344 wielokrotnych dawców osocza;
- 162 pacjentów oddziału hematologicznego,
- 48 wielokrotnych biorców krwi,
- 472 osób, które w wywiadzie nie podawały przetoczeń krwi.

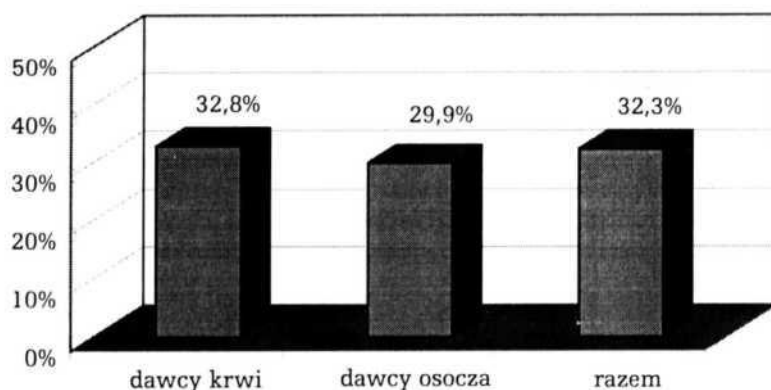
Materiałem do badań była surowica przechowywana w temperaturze -40°C otrzymana bezpośrednio po pobraniu krwi.

Badania wykonano przy użyciu zestawów Parvovirus B19 IgG i IgM ELISA firmy IBL oraz antygen wykrywano przy użyciu testu ID-Parvovirus B19 firmy DiaMed.

Wyniki

W grupie 1963 żołnierzy służby zasadniczej honorowych krwiodawców w wieku 19-23 lata anty-B19 IgG wykryto u 531 na 1619 pierwszorazowych dawców krwi i u 103 na 344 wielokrotnych dawców osocza, co stanowi odpowiednio 32,8% i 29,9% badanych ($p = 0,30$) (Rycina 1.). Średnio częstość występowania anty-B19 w grupie dawców wyniosła 32,3%. Anty-B19 IgM wykryto u 8 (0,5%) dawców krwi, natomiast nie wykryto u żadnego dawcy osocza.

Rye. 1. Częstość występowania przeciwciał anty-B19 IgG u honorowych dawców krwi i osocza w wieku 19-23 lat.



Przebadano grupę 472 zdrowych osób, które nie podawały w wywiadzie leczenia transfuzjami krwi. Grupę tę podzielono według wieku na 5 grup:

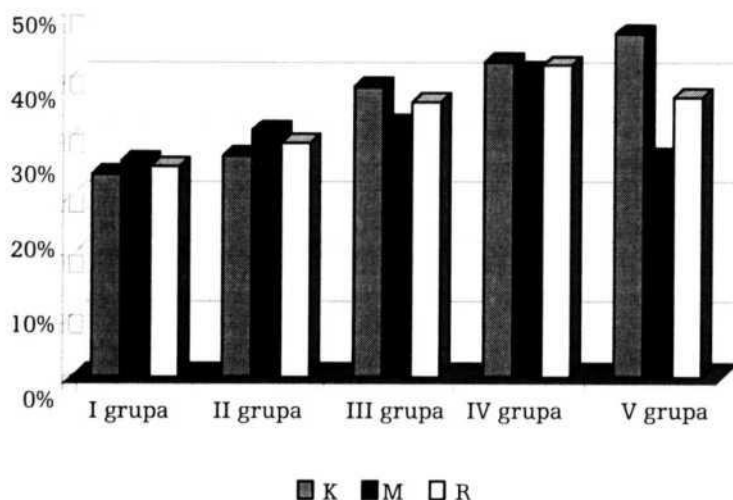
I - dzieci do 18 roku życia; II - 24-30 lat; III - 31-40 lat; IV - 41-50 lat i V - powyżej 51 roku życia.

Wyniki przedstawiono na rycinie 2.

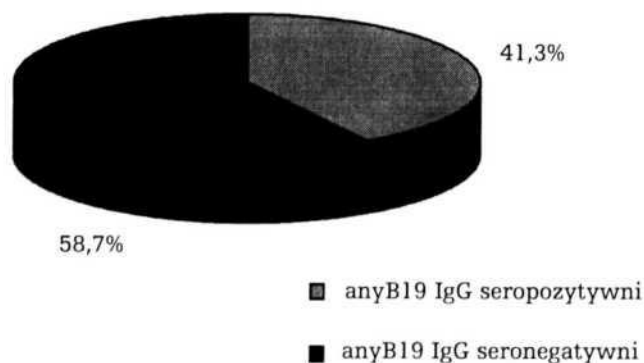
W grupie 114 dzieci i młodzieży do lat 18, 53 kobiet i 61 mężczyzn, anty-B19 IgG wykryto u 40 (35,1%), w tym 18 (33,9%) kobiet i 22 (36,1%) mężczyzn. Nie wykryto w tej grupie wiekowej anty-B19 IgM. W grupie II, w wieku 24-30 lat, przebadano 105 osób, 54 kobiet i 51 mężczyzn, i anty-B19 IgG stwierdzono u 41 (39,1%), w tym 20 (37,0%) kobiet i 21 (41,2%) mężczyzn. Nie wykryto anty-B19 IgM. W grupie III, w wieku 31-40 lat, badaniami objęto 61 osób, 35 kobiet i 26 mężczyzn. Anty-B 19 IgG wykryto u 28 (45,9%) badanych, 17 (48,5%) kobiet i 11 (42,3%) mężczyzn. Nie wykryto anty-B19 IgM. W IV grupie, w wieku 41-50 lat, przebadano 96 osób, 55 kobiet i 41 mężczyzn, i anty-B19 IgG stwierdzono u 50 (52,1%), w tym 29 (52,7%) kobiet i 21 (51,2%) mężczyzn. Nie wykryto anty-B19 IgM. W V grupie, 96 badanych w wieku powyżej 51 lat, w tym 47

Parwovirus B19 epidemiologia i ryzyko zakażeń poprzez krew i preparaty krwiopochodne

Ryc. 2. Częstość występowania przeciwciał anti-B19 IgG w populacji osób nieleczonych preparatami krwiopochodnymi.



Ryc. 3. Częstość występowania przeciwciał anti-B19 IgG u chorych z chorobami krwi



kobiet i 49 mężczyzn, anti-B19 IgG wykryto u 45 (46,8%), 27 (57,4%) kobiet i 18 (36,7%) mężczyzn. Anti-B19 IgM wykryto u jednej kobiety, co stanowiło 1,0% badanych w tej grupie wiekowej.

Średnia częstość występowania anti-B 19 IgG w populacji osób nieleczonych krwią wynosiła 43,2%.

Przebadano grupę 162 chorych z różnymi chorobami krwi, w tym: szpiczak mnogi, białaczka szpiczkowa, niedokrwistości aplastyczne, osteomielifibroza, które wymagały leczenia wielokrotnymi transfuzjami koncentratów krwinek czerwonych i płytkowych, anti-B 19 IgG stwierdzono u 67, co stanowiło 41,3% badanych (Rycina 3.). Anti-B 19 IgM wykryto u 1 chorego (0,6%).

W grupie 155 chorych z różnymi chorobami krwi wykryto antygen HPV u jednego (0,6%). U tego chorego wykryto również anti-B 19 IgM. U chorego obserwowano objawy niedokrwistości w przebiegu ostrego zakażenia parwovirusem B19.

Przebadano 48 wielokrotnych pierwszorazowych biorców krwi (Tabela 1.).

Tabela 1. Częstość występowania przeciwciał anty-B19 IgG u wielokrotnych biorców krwi

Badana grupa	Liczba badanych	Liczba osób z przeciwciałami anty-B19 IgG	
		Przed toczeniem	1 miesiąc po toczeniach
B19 seronegatywni	42	0	0
B19 seropozytywni	6	6	6

Badania wykonano przed pierwszym przetoczeniem krwi i 1 miesiąc po ostatniej transfuzji. Średnia liczba przetoczonych preparatów krwiopochodnych wynosiła 11 jednostek. W badanej grupie anty-B19 IgG przed przetoczeniem krwi wykryto u 6 w mianie $84,8 \pm 44,1$ IU/ml, nie wykryto anty-B19 IgM, po 1 miesiącu po toczeniu preparatów krwi miano anty-B19 IgG wynosiło $64,9 \pm 33,3$ IU/ml ($p = 0,11$). U 42 badanych w tej grupie nie wykryto anty-B19 IgG i IgM. W badaniach po 1 miesiącu po ostatnim toczeniu krwi również nie stwierdzono obecności anty-B19 IgG i IgM.

Dyskusja

W przeprowadzonych badaniach wśród honorowych krwiodawców w wieku 19–23 lat, przeciwciała anty-B19 IgG stwierdzono u 32,3% a IgM u 0,4%. Nie zauważono różnic w częstości występowania przeciwciał w grupie dawców pierwszorazowych i wielokrotnych, wynosiła ona odpowiednio 32,8% i 29,9% ($p = 0,30$). Podobne wyniki uzyskano w badaniach w innych krajach: w Republice Czeskiej częstość występowania przeciwciał wynosiła średnio w populacji 50% (16), w grupie dawców norweskich 42% (14). W badaniach dawców belgijskich anty-B19 klasy IgG wykryto u 74%, a u tunezyjskich 65%. Nie obserwowano różnic pod względem wieku i płci (6).

W grupie wiekowej 20–29 lat w Japonii, anty-B19 IgG występowały z częstością 38% (8). W Singapurze obserwowano niższą częstość występowania przeciwciał – 10,3% (7).

W badaniu japońskich krwiodawców wiramię przy użyciu metody PCR, wykrywano z częstością 1/4000 dawców krwi w wieku 17–45 lat w okresie nieepidemicznym i 1/167 w okresie epidemicznym. Taka wysoka częstość wskazuje na konieczność badania preparatów krwiopochodnych na obecność DNA wirusa B19, szczególnie dla takich biorców jak: chorzy poddawani immunosupresji, oraz kobiety w ciąży (17,20).

We własnych badaniach epidemiologicznych, anty-B19 IgG stwierdzono u prawie 36% dzieci i młodzieży do 18 roku życia. Do 40 roku życia utrzymywała się na podobnym poziomie 39–46% ($p = 0,39$), a po 40 roku życia wzrosła do 52% ($p = 0,01$). W grupie badanych w wieku ponad 51 lat, obserwowano niższą częstość występowania przeciwciał – 47%. Średnio w populacji anty-B19 IgG stwierdzono u 43,2%.

W badaniach epidemiologicznych przeprowadzonych w Holandii częstość występowania anty-B19 w populacji wynosiła 23% u dzieci w wieku 0–10 lat, 53% u młodzieży do lat 20, u dorosłych do 40 roku życia 69% i w wieku powyżej 41 lat przekraczała 80% (9).

Badania epidemiologiczne przeprowadzone w Japonii wykazały, że częstość występowania anty-B19 wzrastała z wiekiem: od 10% w grupie 0–4 lat, poprzez 50% w wieku 5–40 lat i >60% w wieku powyżej 40 lat (8). Anty-B19 wykryto u 40% krwiodawców w wieku 16–30 lat, wraz z wiekiem częstość występowania przeciwciał wzrastała i stwierdzono u dawców w wieku 61 lat obecność anty-B19 u 92% (17).

Powinowactwo parwowirusa B19 do krwinek czerwonych stwarza ryzyko wystąpienia powikłań związanych z zakażeniem wirusem B19 u chorych z chorobami krwi. W badaniach własnych częstość występowania anty-B19 IgG w tej grupie chorych wyniosła

Parwovirus B19 epidemiologia i ryzyko zakażeń poprzez krew i preparaty krwiopochodne

41,3%, a więc nie różniła się od tej spotykanej w populacji osób zdrowych - 43,2% ($p = 0,67$). Anty-B19 IgM wykryto jedynie w przypadku chorego z objawowym zakażeniem B19 i anemią czerwonerwinkową. Nie wykryto ich natomiast u chorych bez objawów zakażenia wirusem B19. Antygen HPV wykryto również tylko u chorego z objawami niedokrwistości, u którego wykryto anty-B19 IgM. Nie wykryto antygenu HPV u innych chorych z chorobami krwi. Chorzy ci leczenia byli preparatami krwi od pojedynczych dawców, nie otrzymywali koncentratów czynników krzepnięcia produkowanych z osocza pulowanego.

Badania przeprowadzone u wielokrotnych biorców preparatów pochodzących od pojedynczych dawców potwierdzają, że istnieje małe ryzyko przeniesienia zakażenia wirusem B19. U 42 badanych chorych leczonych koncentratami krwinek czerwonych, koncentratami krwinek płytkowych i świeżo mrożonym osoczem nie stwierdzono serokonwersji anty-B19 po 1 miesiącu po leczeniu. U chorych, u których wcześniej stwierdzono anty-B19 IgG nie obserwowano zmian w mianie wykrywanych przeciwciał przed i po leczeniu preparatami krwiopochodnymi.

Leczenie preparatami produkowanymi z pulowanego osocza wiąże się z ryzykiem zakażenia B19 co wykazują badania chorych na hemofilię (4,9,12,19).

W badaniach przeprowadzonych w Niemczech w grupie dzieci chorych na hemofilię leczonych preparatami inaktywowanymi anty-B19 wykryto u 92%. W norweskich badaniach anty-B19 wykryto w grupie chorych z zaburzeniami krzepnięcia u 62% (14). Badania przeprowadzone w Holandii w grupie chorych na hemofilię A i B leczonych nieinaktywowanymi koncentratami czynników krzepnięcia wykazały wysoką częstość występowania anty-B19, 76% u dzieci do lat 10, znacząco wyższą od obserwowanej w grupie kontrolnej - 23% (9).

W celu zabezpieczenia grupy chorych szczególnie narażonych na powikłania związane z zakażeniem wirusem B19, jak np.: chorzy z zaburzeniami immunologicznymi, chorzy po przeszczepach, chorzy z niedokrwistością aplastyczną, czy kobiety w ciąży, należałoby podawać preparaty krwiopochodne przebadane na obecność wirusa B19 (8,15). Wysokie koszty badań PCR znacznie ograniczają możliwość ich wykorzystania w rutynowej diagnostyce dawców, chociaż opracowano modele systemu przesiewowego badania DNA wirusa B19 metodą PCR w pulach składających się z 500 jednostek osocza (10). Testem, który mógłby być zastosowany w zastępstwie drogich technik biologii molekularnych /PCR/ jest hema- glutynacyjny test w technice żelowej (5). Wykrywa on wirusa B19 poprzez antygen grupowy P na krwince czerwonej. Czulość tego oznaczenia wynosi 108 genomu/d, w porównaniu do techniki hybrydyzacji, która wykrywa 104 genomu/l.

Do chwili obecnej uważa się, że preparaty produkowane z pulowanego osocza, pomimo zastosowania detergentów lub inaktywacji termicznej, mogą przenosić zakażenie parwovirusem B19, natomiast nie ma dowodów, że przetaczanie składników komórkowych krwi i niepulowanego osocza jest źródłem zakażenia (1).

Zastosowanie kombinacji metod serologicznych do wykrywania przeciwciał i metod inaktywacji wirusów jest najbardziej efektywnym postępowaniem zmierzającym do utrzymania bezpiecznych preparatów krwiopochodnych w zakresie przeniesienia parwowirusa B19.

Piśmiennictwo:

1. Anderson L.J., Young N.S. Karger AG. Basel, 1997;
2. Brown K.E. N Engl J Med 1994, 330, 17, 1192;
3. Cabot R.C. N Engl J Med 1993, Sep. 9, 792-799;
4. Canales M.A., Pinilla J., Mateos P. i wsp. Vox. Sang., 1998; 74: 260-61; 5. Cohen B., Millar A., Schwind P. Lancet, 1995; 346: 1631;
6. Letaief M., Vanham G., Boukef K. i wsp. Trans. Sci., 1997; 18(4): 523-30;
7. Matsunaga Y., Goh K.T., Utagawa E. i wsp. Epidemiol. Infect., 1994; 113(3): 537-40;
8. Matsunaga Y., Takeda N., Yamazaki S. i wsp. Kansenshogaku Zasshi, 1995; 69(12): 1371-5;

Zakażenia potransfuzyjne

9. Mauser-Bunschoten P., Zaaijer H., van Drimmelen P. i wsp. *Vox. Sang.*, 1998; 74: 225-27;
10. McOmish F., Yap P.L., Jordan A. i wsp., *J. Clin. Microbiol.*, 1993; 31(2): 323-8;
11. Merchand S., Tchernia G., Hiesse C. i wsp. *Clinical Transplantation*, 1999,(1 Pt 1) , 17-24;
12. Mortimer P.P., Lubań N.L.C., Kelleher J.F. i wsp. *Lancet*, 1983; ii: 48284;
13. Prowse C i wsp. *Vox Sang* 1997, 72, 1-10;
14. Rollag H., Patou G., Pattison J.R. i wsp. *Scand. J. Infect. Dis.*, 1991; 23: 675-679;
15. Schleuning M., Jeger G., Heller E. i wsp. *Infection*, 1999,27(2),114-7; -16. Sodja I., Mrazova M., Smelhausova M. i wsp. *Epidemiologie, Mikrobiologie, Immunologie*, 1997; 46(1): 23-6;
17. T3ujimura M., Matsushita K., Shiraki H. i wsp. *Vox. Sang.*, 1995; 69(3): 206-12;
18. Van Elsacker-Niele A.M., Kroes A.C. *Netherland J. Med.*, 1999,54(6),221-30;
19. Williams M.D., Cohen B.J., Beddall A.C. i wsp. *Vox. Sang.*, 1990; 58(3): 177-181;
20. Yoto Y., Kudoh T., Haseyama K. i wsp. *Br. J. Haematol.*, 1995; 91(4): 1017-8

Zakażenia bakteryjne preparatów krwiopochodnych

Aleksandra Dzieciatkowska

Zakład Transfuzjologii i Organizacji Służby Krwi Instytutu Hematologii i Transfuzjologii w Warszawie

W ostatnich latach bardzo dużą wagę przywiązuje się do zmniejszenia ryzyka przeniesienia zakażeń wirusowych wraz z przetaczaną krwią, nie należy jednak zapominać o problemie poprzetoczeniowych zakażeń bakteryjnych. Reakcje septyczne, występujące po przetoczeniu zakażonych bakteriami preparatów krwiopochodnych były jednymi z najwcześniej opisanych powikłań potransfuzyjnych. Wraz z wprowadzeniem do pobierania i preparatyki krwi pojemników z tworzyw sztucznych, pozwalających na przygotowanie preparatów krwiopochodnych w układzie zamkniętym, częstość septycznych powikłań potransfuzyjnych uległa zmniejszeniu w porównaniu do okresu, gdy jako opakowań używano butelek szklanych. Pomimo tego statystyki amerykańskie nadal są niepokojące: w latach 1976–1978 zakażenia bakteryjne były przyczyną 4% powikłań poprzetoczeniowych a w okresie 1986–1988 aż 10% [8]. Częstość występowania w ostatnich latach potransfuzyjnych reakcji septycznych w różnych krajach przedstawia tabela 1.

Najczęstszą przyczyną bakteryjnych zakażeń preparatów krwiopochodnych jest przeniesienie infekcji wraz z krwią pobraną od dawcy, u którego występuje bezobjawowa bakteremia. Do zakażeń tych może dojść również wówczas, gdy fragment nieskutecznie odkażonej skóry dostanie się wraz z krwią do wnętrza pojemnika. Czasem zakażenia bakteryjne spowodowane są niejałowością pojemnika, do której może dojść wskutek nieskutecznej sterylizacji u wytwórcy, niewłaściwego przechowywania czy nieszczelnego zamknięcia. Istnieje także możliwość zakażenia preparatu w efekcie błędów podczas preparatyki, zwłaszcza wówczas, gdy prowadzi się ją w układzie otwartym.

Kliniczne konsekwencje poprzetoczeniowych odczynów septycznych zależą od wielu czynników, szczególnie od ilości i rodzaju drobnoustrojów, jakie były przyczyną zakażenia. Najpoważniejsze odczyny spowodowane są przez bakterie Gram-ujemne, ze względu na obecność produkowanych przez nie endotoksyn. Jednakże również odpowiednio wysoka liczba pałeczek Gram-dodatnich może okazać się śmiertelna.

Zakażenia bakteryjne preparatów krwiopochodnych

Tabela 1.: Częstość występowania potransfuzyjnych reakcji septycznych

Kraj	Liczba potransfuzyjnych reakcji septycznych	Liczba reakcji śmiertelnych	Lata
Kanada ^{*)}	4 - 6 / rok	1 / rok	1990 - 1999
Belgia ^{*)}	3 / rok	0	1997
Finlandia ^{*)}	0	0	1990 - 1999
Austria ^{*)}	0	0	1990 - 1999
Anglia ^{*)}	7	2	1996 - 1998
Polska ^{**)}	19	1	1998

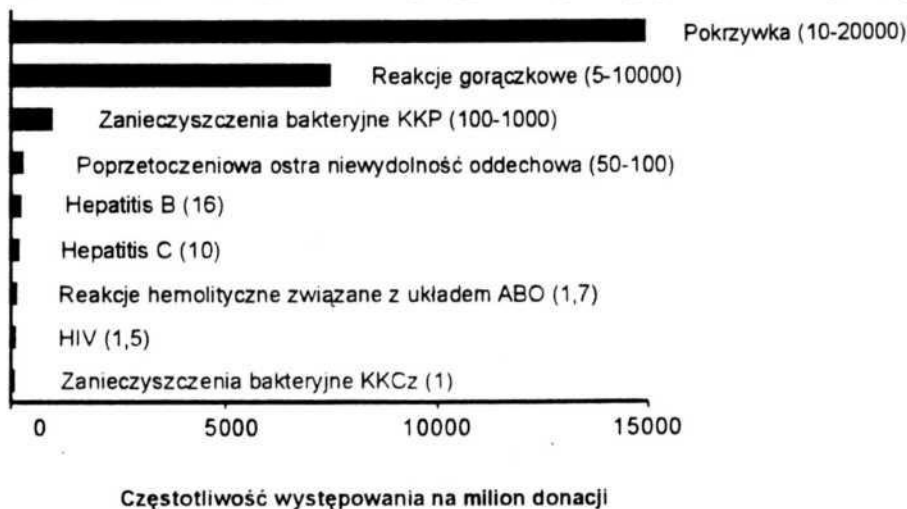
^{*)} Dane dotyczą wyłącznie reakcji septycznych spowodowanych przetoczeniem zakażonych preparatów krwiopochodnych ^{**)} Dane dotyczą wszystkich reakcji septycznych (spowodowanych błędami podczas transfuzji i przetoczeniem zakażonych preparatów krwiopochodnych)

W porównaniu z innymi powikłaniami poprzetoczeniowymi ryzyko zakażeń bakteryjnych jest stosunkowo niewielkie, co przedstawia rys. 1. AuBuchon i Kruskall

ocenijąc częstość występowania różnych powikłań potransfuzyjnych stwierdzili, iż zanieczyszczenia bakteryjne koncentratu krwinek płytkowych (KKP) występują od 100 do 1000 razy na milion donacji, natomiast ryzyko wykrycia mikroorganizmów w koncentracie krwinek czerwonych jest znacznie niższe: 1/1000000. Podobne dane przytaczają za biuletynem AABB z 1996 roku Mitchell i Brecher [2], którzy stwierdzili, że rocznie w Stanach Zjednoczonych występuje około 150 przypadków zgonów spowodowanych przetoczeniem zakażonych KKP a ryzyko otrzymania zakażonego bakteryjnie KKP jest 50 – 250 razy wyższe niż zakażeń wirusami HIV, HCV czy HBV. Engelfiet i wsp. stwierdzili metodą hodowli obecność bakterii w 0–0,2% w koncentratkach krwinek czerwonych (KKCz) i w 0–10% koncentratkach krwinek płytkowych (KKP) a reakcje gorączkowe związane z zakażeniami bakteryjnymi występują z częstością od 1: 10 000 do 1: 20 000 transfuzji, przy tym w 1: 6 000 000 przypadków powikłanie to kończy się śmiertelnie.

Wysoki odsetek zakażonych bakteryjnie jednostek KKP związany jest z przechowywaniem tych preparatów w warunkach sprzyjających rozwojowi mikroorganizmów: temperatura 20–24°C, zapewnienie wysokiej dostępności tlenu poprzez ciągłe mieszanie i stosowanie

Ryc. 1.: Ryzyko wystąpienia różnego typu odczynów poprzetoczeniowych (wg. [1])



Zakażenia potransfuzyjne

wanie pojemników ze specjalnych tworzyw oraz pięciodniowy okres przechowywania. KKP najczęściej zakażone są bakteriami skórnymi: *Staphylococcus epidermidis* i z rodzaju *Bacillus* (które nie namnażają się w temperaturze 0 - 6°C, ale wykazują intensywny wzrost w 20-24°C), *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Bacillus cereus* i z rodzaju *Salmonella*. Obecność bakterii częściej można stwierdzić w zlewanych KKP (0,14%) niż w preparatach otrzymanych drogą aferezy (0,03%), ze względu na jednoczesny kontakt z krwią pochodzącą od kilku dawców. Szacuje się, że 1 na 1 000 jednostek KKP w USA zawiera mikroorganizmy a prawdopodobnie 1 na 10000 może spowodować reakcję septyczną; w następstwie stosowania zlewanych preparatów KKP to niebezpieczeństwo może wzrosnąć do 1 przypadku na 2000 transfuzji [12]. Na zakażenie bakteryjne bardziej narażone są ubogoleukocytarne KKP (2,7%) niż te, w których pozostawiono leukocyty (1,7%), co spowodowane jest fagocytarną zdolnością krwinek białych. Częstość bakteryjnych zakażeń KKP w różnych krajach przedstawia tabela 2.

Tabela 2.: Częstość bakteryjnych zakażeń KKP

Kraj	Rodzaj preparatu	Częstość zakażeń / 100 000	Dzień badania
Kanada	jednostka z krwi pełnej	25	dzień 1
		70	dzień 3
Finlandia	jednostka z krwi pełnej preparat zlewany	110 ^{*)}	przeterminowane
		110 ^{*)}	przeterminowane
		140 ^{**)}	przeterminowane
Norwegia	preparat zlewany	170	dzień 2
	preparat z separatora	68	dzień 1
USA	jednostka z krwi pełnej	49,7	dzień 4-5
	preparat z separatora	41,5	dzień 4-5
Belgia	jednostka z krwi pełnej	160	dzień 1
	preparat zlewany	530	dzień 1
Anglia	jednostka z krwi pełnej	0 (z 249)	dzień 5-7
	preparat zlewany	70	
	preparat z separatora	40	

^{*)} W latach 1991 -1996

^{**)} W latach 1997 -1998

Jak wynika z badań przeprowadzonych w Kanadzie, trzykrotnie częściej stwierdza się obecność bakterii w KKP przechowywanych przed badaniem przez 3 dni, niż w jednostkach badanych w pierwszym dniu przechowywania.

Najczęstszą przyczyną bakteryjnych zakażeń KKCz jest *Yersinia enterocolitica*, która spowodowała 7/8 potransfuzyjnych zakażeń w USA w latach 1987-1991. Zakażenia tą bakterią są bardzo niebezpieczne: 12 z 20 biorców KKCz zakażonego *Yersinia enterocolitica* zmarło w ciągu 25 godz. po transfuzji. Stosunkowo często spotyka się również zakażenia KKCz wywołane przez *Serratia marcescens*, *Serratia liquefaciens* oraz bakterie z rodzaju *Pseudomonas* i *Enterobacter*. Istotne z klinicznego punktu widzenia reakcje septyczne występują zazwyczaj po przetoczeniach KKCz przechowywanego w temp. 4°C przez ponad 21 dni, a więc wówczas gdy podczas długotrwałego przechowywania nastąpi namnożenie się drobnoustrojów zdolnych do wzrostu w niskiej temperaturze, wprowadzonych w momencie pobrania lub preparatyki krwi. Do poważnych zakażeń dochodzi również po transfuzjach autologicznych. Analizując poprzetoczeniowe reakcje septyczne u biorców autologicznego KKCz, stwierdzono, że występują one głównie w następstwie transfuzji preparatów przechowywanych przez 25-41 dni. Przyczyną zakażeń potransfuzyjnych mogą być

Zakażenia bakteryjne preparatów krwiopochodnych

także preparaty osoczopochodne, np. osocze świeżo mrożone czy krioprecypitat.

Wystąpienie poprzetoczeniowej reakcji septycznej należy podejrzewać wówczas, gdy w czasie transfuzji lub w ciągu 2 godzin od jej zakończenia zaobserwuje się następujące objawy:

temperaturę ciała 38°C lub wyższą, albo wzrost temperatury o ponad 1°C w stosunku do wartości przed transfuzją, dreszcze, tachykardię, objawiającą się pulsem 120/min. lub wzrostem szybkości pulsu powyżej 30/min. w stosunku do wartości wyjściowej, wzrost skurczowego ciśnienia krwi o ponad 30 mm, nudności, wymioty, biegunkę, duszność, krwawienie, oligurię i/lub objawy wstrząsu.

Aby uniknąć kolejnych zakażeń, trzeba jak najszybciej odszukać i wycofać z użycia wszystkie inne preparaty krwiopochodne, otrzymane z tej samej donacji. Powinny one zostać poddane ocenie wizualnej, gdyż niektóre zmiany makroskopowe, np. kolor, ewentualnie hemoliza krwinek czerwonych, mogą świadczyć o namnażaniu się w nich drobnoustrojów. Należy poddać je również kompleksowym badaniom mikrobiologicznym, obejmującym wykonanie preparatu barwionego metodą Gram'a, wzrost w podłożach tlenowych i beztlenowych oraz identyfikację wyhodowanego gatunku i zbadanie jego lekowrażliwości. Jeśli odczyn septyczny wystąpił po przetoczeniu krioprecypitatu, analogiczne postępowanie powinno być zastosowane wobec wszystkich pozostałych jednostek wyprodukowanych w tej samej serii, gdyż do zakażenia mogło dojść na skutek używania niewłaściwie wydezynfekowanej łaźni wodnej. Bardzo istotne jest także mikrobiologiczne badanie dawcy, z którego krwi otrzymano preparat, będący przyczyną reakcji septycznej. Nie można również zapomnieć o aseptycznym zabezpieczeniu pojemnika z resztkami preparatu i zestawu do przetoczeń, które wykorzystano podczas transfuzji zakończonej powikłaniem oraz o poddaniu ich badaniu bakteriologicznemu.

Ponieważ koszty leczenia odczynu septycznego są bardzo wysokie (w USA szacuje się je na około 14000\$), a sam odczyn jest bardzo niebezpieczny dla życia biorcy, należy przede wszystkim dążyć do obniżenia ryzyka poprzetoczeniowych reakcji septycznych. Według Blajchmana, można to osiągnąć przez:

Poprawę sposobu dezynfekcji skóry dawcy - za najskuteczniejszy sposób odkażania uważa się użycie dwóch środków: nalewki jodowej, a później alkoholu izopropylowego.

Usuwanie pierwszej porcji pobranej krwi - ponieważ najczęściej przyczyną zakażeń są bakterie skórne, które dostają się do igły w momencie nakłucia żyły, odrzucenie pierwszych pobranych mililitrów krwi zmniejszy liczbę drobnoustrojów w pojemniku zawierającym krew przeznaczoną do dalszej preparatyki (stosowanie zmodyfikowanych zestawów pojemników do pobierania i preparatyki, zawierających dodatkowy worek na pierwsze 15 ml krwi, pozwoliło stwierdzić, iż 73% bakterii znajduje się w krwi pobieranej w początkowym okresie donacji).

Rozszerzenie zakresu badań kwalifikacyjnych dawcy - postuluje się oznaczanie przeciwciał anty-Yersinia enterocolitica jako dodatkowych badań przesiewowych, aby zapobiec transmisji tego zakażenia wraz z pobraną krwią.

Ograniczenie czasu przechowywania preparatów krwiopochodnych - ze względu na niebezpieczeństwo zakażeń bakteryjnych, w 1985 r. FDA skróciło termin przydatności KKP do 5 dni; ponieważ jednak większość zakażonych KKP to preparaty przechowywane przez ponad 3 dni, sugeruje się możliwość skrócenia obowiązującego obecnie terminu ważności do 5 dni.

Usuwanie leukocytów poprzez filtrację - eliminacja leukocytów obniża ilość zanieczyszczeń bakteryjnych w preparatach krwiopochodnych, ale filtrację należy przeprowadzić po ośmiogodzinnym przechowywaniu pobranej krwi w temperaturze 22 °C, aby uprzednio leukocyty na drodze fagocytozy pochłonęły większość bakterii.

Wykrywanie bakterii w preparatach przeznaczonych do przetoczenia - coraz częściej zaleca się prowadzenie przeglądowych testów preparatów krwiopochodnych przed wydaniem ich do użytku klinicznego. Badania te mogą obejmować: ocenę makroskopową, wy

Zakażenia potransfuzyjne

krywanie endotoksyn, barwienie metodą Gram'a, wykrywanie bakteryjnego DNA i RNA metodami biologii molekularnej i bezpośrednie posiewy mikrobiologiczne. Sprawdzanie sterylności KKCz powinno odbywać się w drugim tygodniu przechowywania, zaś KKP powinny być poddane badaniom przeglądowym w trzecim dniu przechowywania, co umożliwiłoby wydłużenie terminu ich ważności do 7 dni.

Inaktywację czynników zakaźnych można osiągnąć przy zastosowaniu metod fotochemicznych (psoralen, błękit metylenowy lub ftalocyjanina w połączeniu z promieniowaniem UVA lub UVB) wirusów.

Wydaje się być istotnym wprowadzenie powszechnych testów przeglądowych w kierunku obecności bakterii w preparatach krwiopochodnych. Szczególne znaczenie ma to w przypadku KKP. Wiele ośrodków wprowadziło już takie postępowanie do swojej rutynowej praktyki. Niestety, proponowane testy są kosztowne (biologia molekularna), a mało czułe (ocena wizualna), albo mało selektywne (wykrywanie endotoksyn) i wymagają zbyt długiego oczekiwania na wynik (posiewy mikrobiologiczne) a często przy ich użyciu otrzymuje się rozbieżne wyniki.

Piśmiennictwo 20 pozycji u autorki.

Zakażenia CMV jako ryzyko związane z przetaczaniem krwi

Krzysztof Ktos, Jerzy Kruszewski

Klinika Chorób Infekcyjnych i Alergologii Instytut Medycyny Wewnętrznej, Centralnego Szpitala Klinicznego Wojskowej Akademii Medycznej, Warszawa

Streszczenie. Cytomegalowirus (CMV) jest dwuniciowym DNA wirusem, który może być przeniesiony poprzez transfuzje krwi. Należy do rodziny *Herpesviridae*, oznaczony jako wirus Herpes 5. Obecność przeciwciał anty-CMV w surowicy świadczy o uprzedniej infekcji człowieka i stwierdzana jest w różnych regionach świata z częstotliwością od 40 do 100% (w Polsce u krwiodawców w wieku 19-22 lata, przeciwciała te występują w zależności od roku wykonywania badań, od 53 do 63%). Uważa się, że infekcja CMV u osób seropozytywnych ma charakter utajony, a DNA CMV jest obecny w leukocytach krwi obwodowej. Wirus może być przyczyną ostrych zakażeń w wyniku przetoczenia seropozytywnej krwi biorcom seroujemnym, co może prowadzić do zgonów np. po transplantacjach szpiku. Dlatego proponuje się usuwanie leukocytów poprzez filtrację krwi i przetaczanie jej zarówno seropodatnim jak i seroujemnym biorcom w celu zapobiegania infekcji i jej konsekwencjom. Najbezpieczniej jest przetaczanie krwi biorcom seroujemnym od dawcy seroujemnego.

W pracy autorzy przedstawiają dane na temat biologii CMV, wykrywania tego wirusa i skutków zakażeń.

Cytomegalowirus (CMV) jest przedstawicielem rodziny *Herpesviridae*. Jego materiał genetyczny stanowi cząstka liniowego, dwuniciowego DNA o masie cząsteczkowej 240 Kb kodującego ponad 100 białek o średnicy 180 nm i jest największą spośród wirusów chorobotwórczych dla człowieka. CMV jest wirusem otoczkowym, a jedną z charakterystycznych jego cech jak i innych herpesvirusów jest zdolność do egzystencji w postaci utajonej w komórce.

Zakażenia CMV jako ryzyko związane z przetaczaniem krwi

Przeciwciała anti-CMV u ludzi występują z różną częstotliwością w zależności od regionu świata - od 40 do 100%. Istnieje korelacja pomiędzy częstością występowania przeciwciał anti-CMV w surowicy a poziomem higieny zamieszkujących te regiony świata ludzi. Przeciwciała anti-CMV wykrywa się metodami serologicznymi zarówno w przypadkach świeżej infekcji jak i po jej przebiegu. Pojawienie się przeciwciał nie jest równoznaczne z wytworzeniem odporności u człowieka.

W Polsce u krwiodawców w wieku 19-22 lat stwierdza się przeciwciała anti-CMV u 51 - 63%. Ich obecność wzrasta wraz z wiekiem i w wieku 60 lat wynosi około 80%..

Zakażenia CMV dzielimy na pierwotne i wtórne. Pierwotne występuje u osób dotychczas niezakażonych. Po zakażeniu osoby takie zazwyczaj wytwarzają przeciwciała (sero- konwersja). Częstki wirusa znajdują się we krwi i innych płynach ustrojowych. Klinicznie pierwotne zakażenia u osób immunokompetentnych mogą przebiegać łagodnie lub bez- objawowo. W okresie utajenia zakażenia pierwotnego można wykrywać wirusa w leukocytach (granulocytach). Zakażenia wtórne występują u osób, które były już zakażone (uległy pierwotnemu zakażeniu) i ponownie są ekspozowane na CMV. W takiej sytuacji często dochodzi do rozwinięcia aktywnego zakażenia manifestującego się objawami klinicznymi. Jeżeli CMV jest obecny w utajonej postaci w leukocytach dawcy, to przetoczenie jego krwi może być głównym czynnikiem aktywacji zakażenia u biorcy z utajonym zakażeniem. Reaktywacją zakażenia nazywamy stan gdy u osoby seropozytywnej CMV przekształca się z postaci utajonej w stan aktywny. Może to być wynikiem immunosupresyjnego wpływu leukocytów dawcy. Obserwuje się wzrost miana przeciwciał anti-CMV oraz ilości materiału wirusowego w różnych wydzielinach i wydalinach.

Transfuzje krwi od serododatniego dawcy biorcom mającym obniżoną odporność, mogą prowadzić do aktywnej postaci infekcji CMV oraz powikłań takich jak: zapalenie płuc, zapalenie wątroby, anemii hemolitycznej i małopłytkowości. Sytuacja taka może mieć miejsce również gdy transfuzji od dawców CMV dodatnich dokonano wcześniakom z niską wagą (1200 g). U chorych po transplantacjach szpiku, głównym powikłaniem po przetoczeniach krwi od dawców CMV dodatnich, jest ciężkie zapalenie płuc obarczone dużym ryzykiem kończącym się zgonem. U zakażonych HIV, infekcje CMV przyspieszają zachorowanie na AIDS oraz często są przyczyną zgonu. U ok. 25% chorych na AIDS CMV powoduje zapalenie siatkówki prowadzące do ślepoty.

Konsekwencją zakażeń potransfuzyjnych CMV chorych seroujemnych jest konieczność kosztownego leczenia zarówno preparatami immunoglobulin (np. cytotec) czy też farmakologicznego (acyclovir, gancyclovir).

Badania przesiewowe dawców krwi na obecność przeciwciał anti-CMV były jedną dotychczas dostępną metodą doboru krwi dla biorców ze zwiększonym ryzykiem zakażenia CMV. W ostatnich latach wprowadzono filtrację koncentratów czerwonekrwinkowych oraz płytkowych celem usunięcia leukocytów co jest najbardziej efektywną metodą zapobiegania przeniesienia CMV. Preparaty krwinek mrożonych i płytkowych oraz osocze i komercyjnie wytworzone preparaty osoczopochodne, w przeniesieniu wirusa CMV, są bezpieczne. Uważa się, że w miarę upływu czasu przechowywania koncentratów krwinek czerwonych od dawców CMV dodatnich (powyżej 7 dni), maleje ryzyko zakażenia biorców CMV ujemnych.

Celem zmniejszenia ryzyka zakażenia CMV u biorców tkanek i narządów opracowano specjalne zalecenia. Chorych po transplantacjach cechuje zwiększone ryzyko zakażenia CMV ze względu na stosowanie chemioterapii, immunosupresji lub immunoterapii adop- tywnej. Największe ryzyko zakażenia stanowią dawcy z obecnością przeciwciał anti-CMV w klasie IgM w preparatach komórkowych krwi. Zatem powinni oni być eliminowani jako dawcy tych preparatów. W badaniach przeprowadzonych przez Zakład Transfuzjologii i Transplantologii Centralny Bank Krwi CSK WAM, w latach 1995 - 1999, na grupie 20025 pierwszorazowych wojskowych dawców krwi w wieku 19-22 lata, stwierdzono obecność tego rodzaju przeciwciał od 0,13 do 0,41% w zależności od roku badania (tabela).

Zakażenia potransfuzyjne

Tabela Częstość występowania anty-CMV wśród pierwszorazowych dawców krwi badanych w Zakładzie Transfuzjologii i Transplantologii Centralny Bank Krwi CSK WAM.

Rok badania	Liczba badanych	Liczba anty-CMV IgG (%)	Liczba Anty-CMV IgM (%)
1995	4 340	2 430 (56%)	18 (0,41%)
1996	4 310	2 629 (61%)	10 (0,23%)
1997	3 899	2 066 (53%)	5 (0,13%)
1998	3 384	2 064 (61%)	9 (0,26%)
1999	4 092	2 581 (63%)	9 (0,22%)

Należy podkreślić, że pomimo postępów w diagnostyce wykrywania zakażeń CMV, stosowania filtrowanych preparatów komórkowych krwi od dawców seronegatywnych oraz profilaktycznego stosowania swoistych immunoglobulin (np. Cytotec) i leków przeciwwirusowych (acyclovir, gancyclovir) nadal istnieje ryzyko zakażenia CMV, zwłaszcza u chorych po transplantacjach narządów i tkanek.

Piśmiennictwo u autorów (18 pozycji).

Zakażenia jako problem hematologii

Agata Wrzesień-Kuś

Klinika Hematologii AM w Łodzi

Ryzyko wystąpienia infekcji w przebiegu chorób układu krwiotwórczego jest wypadkową upośledzonej czynności układu immunologicznego, wynikającej z patomechanizmu choroby i zastosowanego leczenia, innych czynników biologicznych, związanych z chorym i narażenia na czynniki środowiska zewnętrznego (1). Chorzy ci są narażeni na infekcje bakteryjne, grzybicze, wirusowe i pierwotniakowe, a ich rodzaj i częstość występowania zależy przede wszystkim od choroby podstawowej i zastosowanej terapii. Najpoważniejszym problemem są zakażenia występujące w przebiegu chemo- i/lub radioterapii nowotworów układu krwiotwórczego i u chorych po przeszczepieniu allo- lub autologicznych komórek krwiotwórczych.

1. Czynniki ryzyka

1.1 Choroba układu krwiotwórczego

Ryzyko ciężkich, zagrażających życiu infekcji jest szczególnie wysokie u chorych na ostrą białaczkę szpikową i ciężką postać niedokrwistości aplastycznej. Ryzyko to jest również wysokie w przypadku nawrotu innych nowotworów układu krwiotwórczego, takich jak ostra białaczka limfoblastyczna, chłoniaki nieziarnicze i ziarnica złośliwa

(1). Ciężkie, zagrażające życiu infekcje należą również do obrazu ostrej agranulocytozy.

1.2 Czynniki biologiczne związane z chorym

Uważa się, że wiek chorych powyżej 40 lat istotnie zwiększa ryzyko zakażenia w przebiegu intensywnej polichemioterapii przeciwnowotworowej. Ryzyko to wzrasta również u chorych z cechami uszkodzenia nerek i/lub wątroby. Reaktywacja zakażenia wirusem opryszczki lub cytomegalii w przebiegu choroby podstawowej, naruszającego ciągłość błon śluzowych, może sprzyjać oportunistycznym zakażeniom bakteryjnym lub grzybiczym, zwłaszcza u chorych z neutropenią (2).

1.3 Czynniki środowiska zewnętrznego

Większość patogenów powodujących infekcje u chorych na nowotwory układu krwiotwórczego stanowią mikroorganizmy kolonizujące skórę i błony śluzowe chorego. Czynnikiem sprzyjającym kolonizacji jest stosowanie szerokowidmowej antybiotykoterapii i leków alkalinizujących treść żołądkową, długotrwała hospitalizacja, obecność cewników naczyniowych i cewników Foleya (3). Najczęstszymi patogenami kolonizującymi skórę i błony śluzowe są szczepy gronkowca złocistego, pałeczka ropy błękitnej i drożdżaki. Źródłem zakażenia może być pożywienie, woda, inny chory i personel szpitalny.

1.4 Stosowane leczenie

Leczenie jest jednym z najważniejszych czynników ryzyka. Do najczęstszych powikłań intensywnej polichemioterapii chorób układu krwiotwórczego należy neutropenia. Prawdopodobieństwo wystąpienia infekcji wzrasta szczególnie u chorych, u których liczba neutrocytów jest $<500/\mu\text{l}$ a czas trwania neutropenii jest dłuższy od 7-10 dni. Infekcjom sprzyja również obniżenie liczby komórek CD4(+) $<200/\mu\text{l}$. U chorych poddanych przeszczepieniu allogenicznym komórek krwiotwórczych, poza zastosowanym leczeniem mielo- i immunoablacyjnym, istotnym czynnikiem ryzyka jest również wystąpienie II-IV° choroby „przeszczepu przeciw gospodarzowi” (GvHD) w okresie poprzszczepowym (1). U chorych poddanych przeszczepieniu autologicznym komórek krwiotwórczych ryzyko infekcji może dodatkowo wzrosnąć w przypadku przetoczenia zbyt małej liczby komórek CD34(+) ($<2 \times 10^7/\text{kg}$ m. ciała biorcy) (1). Prawdopodobieństwo zakażenia wzrasta również u chorych leczonych analogami puryn oraz u chorych otrzymujących prednizon w dawce 1 mg/kg/dobę przez czas dłuższy niż 14 dni (3). Należy również pamiętać o możliwości reaktywacji w przebiegu stosowanego leczenia zakażenia gruźlicą, zakażenia wirusem cytomegalii, wirusem Epstein-Barr, opryszczki, zapalenia wątroby B i C i toksoplazmozy (1,2).

2. Zakażenia bakteryjne

W latach 70-tych infekcje były najczęstszą przyczyną zgonu chorych na ostre białaczki a wśród nich 70% stanowiły zakażenia bakteryjne. Najczęstszymi patogenami były wówczas bakterie G(-) (*E.coli*, *Klebsiella spp*, *Pseudomonas aeruginosa*) (4). Posocznice powodowane przez te patogeny cechował dynamiczny przebieg i wysoka śmiertelność.

Zakażenia potransfuzyjne

W ostatnich latach obserwuje się wyraźny wzrost częstości zakażeń bakteriami G(+). Najczęściej spotykanymi patogenami w tej grupie są gronkowce koagulazo-ujemne, paciorkowce zieleniące i enterokoki. Przyczyna tych zmian nie jest jasna. Wydaje się, że na częstsze obecnie występowanie zakażeń bakteriami G(+) mogło mieć wpływ szerokie stosowanie chinolonów w profilaktyce infekcji bakteriami G(-) i częstsze stosowanie cewników naczyniowych.

W latach 80-tych zaobserwowano wyraźny wzrost występowania zakażeń gronkowcem naskórkowym (*S. epidermidis*). Mimo ciężkiego przebiegu i coraz częstszego występowania szczepów opornych, zakażenia te cechuje stosunkowo niska śmiertelność. Wrotami wtargnięcia do krwiobiegu u chorych z neutropenią jest najczęściej cewnik naczyniowy.

Paciorkowiec zieleniący (*Streptococcus viridans*) występuje w warunkach prawidłowych na śluzówkach jamy ustnej, nosogardzieli i przewodu pokarmowego. Stanowi on obecnie jedną z częstszych przyczyn bakteriemii u chorych z neutropenią. Uważa się, że wrotami wtargnięcia tych bakterii do krwiobiegu są zmienione zapalnie błony śluzowe, przede wszystkim jamy ustnej. Wśród innych przyczyn wymienia się leczenie wysokimi dawkami cytarabiny, stosowanie chinolonów i kotrimoksazolu w profilaktyce zakażeń bakteriami G(-) i leków alkalinizujących środowisko żołądkowe (6). Zakażenia tymi patogenami cechują się u chorych z neutropenią piorunującym przebiegiem, wysokim ryzykiem rozwoju zespołu niewydolności oddechowej dorosłych (ARDS) i zgonu.

Wyraźnie wzrasta również znaczenie enterokoków w zakażeniach u chorych na nowotwory układu krwiotwórczego. Coraz częstszą przyczyną zakażeń wewnątrzszpitalnych staje się w niektórych krajach *Enterococcus faecium*. Istotnym problemem w zakażeniach tymi patogenami jest rozwój lekooporności, także na glikopeptydy. Rokowanie w przypadku tych zakażeń jest bardzo poważne (7).

3. Zakażenia grzybicze

Zakażenia grzybicze występują przede wszystkim u chorych z przedłużającą się neutropenią w przebiegu intensywnej polichemioterapii przeciwbiałaczkowej i u chorych po przeszczepieniu allogenicznych komórek krwiotwórczych. Najczęściej spotykanymi patogenami są *Candida spp.* i *Aspergillus spp.* Zakażenia te występują coraz powszechniej i cechują się wysoką śmiertelnością, przekraczającą w wielu ośrodkach 80%. Złe rokowanie jest często wynikiem zbyt późnego rozpoznania i leczenia. Podstawowymi czynnikami ryzyka dla zakażeń grzybiczych jest przedłużająca się neutropenia i długotrwała, szerokowidmowa antybiotykoterapia (8).

3.1 *Candida spp.*

Jest to najczęstsza, oportunistyczna postać grzybicy u chorych z neutropenią. Inwazyjnej grzybicy drożdżakowej sprzyja alkalizacja treści żołądkowej, naruszenie ciągłości błon śluzowych przewodu pokarmowego i obecność cewników naczyniowych. Zakażenie objawia się przede wszystkim gorączką, nie reagującą na leki przeciwbakteryjne. Czasem mogą jej towarzyszyć plamiste lub rumieniowate zmiany skórne, bóle mięśniowe i objawy niewydolności nerek. U niektórych chorych mogą się pojawić charakterystyczne zmiany na dnie oka, najczęściej dopiero w okresie regeneracji układu krwiotwórczego (9). Wczesnym objawem mogą być wrzodziejące zmiany na błonach śluzowych jamy ustnej, pokryte białym nalotem. Często towarzyszą temu bóle i utrudnienie połykania związane z szerzeniem się infekcji na błonę śluzową przełyku.

Osobną postacią grzybicy drożdżakowej jest przewlekła, rozsiana kandydiaza wątrobowo-śledzionowa. Występuje ona prawie wyłącznie u chorych leczonych z powodu białaczki i po przeszczepieniu allogenicznych komórek krwiotwórczych. Do zakażenia dochodzi w okresie neutropenii ale objawy choroby pojawiają się dopiero po re

generacji układu krwiotwórczego. Należy do nich nawracająca lub przetrwała gorączka, bóle brzucha i wzrost stężenia fosfatazy zasadowej we krwi. Badanie tomograficzne ujawnia obecność rozszanych ognisk w wątrobie, śledzionie i innych narządach. Ocena materiału uzyskanego z biopsji zmienionej tkanki jest często negatywna (8,9).

Najczęściej spotyka się zakażenia *C. albicans*. Ostatnio obserwuje się jednak wzrost występowania *C. tropicalis* i, przy szerokim stosowaniu flukonazolu w profilaktyce i leczeniu grzybic drożdżakowych, również częstsze pojawianie się szczepów pierwotnie opornych na flukonazol, jak *C. crusei* i *C. glabrata* (8,10).

3.2 *Aspergillus spp.*

Kropidlak jest grzybem szeroko rozpowszechnionym w środowisku. Spotyka się go w glebie, powietrzu, wodzie i szczątkach organicznych (10). Stężenie zarodników grzyba wzrasta znacznie w pobliżu miejsc, w których prowadzone są prace remontowo- -budowlane. Częstość występowania tej infekcji jest różna i zależy od stężenia zarodników grzyba w powietrzu. Patogen dostaje się do organizmu przez układ oddechowy, stąd zakażenie kropidlakowe manifestuje się przede wszystkim jako inwazyjna aspergilloza płucna. Podobnie jak w innych postaciach grzybic układowych u chorych z neutropenią podstawowym objawem jest gorączka, nie poddająca się antybiotykoterapii. Rozwojowi inwazyjnej aspergillozy płucnej mogą towarzyszyć bóle w klatce piersiowej, zależne od oddychania, duszność, suchy, nieproduktywny kaszel i tarcie opłucnowe. W płucach pojawiają się lub postępują, mimo leczenia przeciwbakteryjnego, nacieki, o zmiennym wyglądzie. Mogą to być obwodowe, rozproszone, okrągłe cienie lub lite, rozległe nacieki dużego obszaru tkanki płucnej a także pojedyncze lub mnogie jamy. Zmiany te mogą być słabo wyrażone w zwykłym badaniu radiologicznym płuc i ujawnić się dopiero w tomografii komputerowej. Diagnostyka tego zakażenia jest trudna. Najbardziej wiarygodną i czułą metodą diagnostyczną jest badanie histopatologiczne zmienionej tkanki. Biopsja płuca jest jednak przeciwwskazana u chorych, którzy mają głęboką małopłytkowość, neutropenię i są w złym stanie ogólnym (9). Najczęściej, w praktyce, wykorzystywane jest badanie popłuczyn oskrzelowych uzyskanych z bronchoskopii. Pozwala ono jednak uzyskać dodatni wynik tylko u 50-60% chorych (10).

4. Zakażenia wirusowe

Ryzyko zakażenia wirusowego zależy od rodzaju, stopnia zaawansowania i czasu trwania choroby krwi a także od zastosowanego leczenia. Występują one przede wszystkim u chorych, u których dochodzi do upośledzenia odporności komórkowej. Do grupy o szczególnie wysokim ryzyku zaliczyć należy chorych na ziarnicę złośliwą i chłoniaki nieziarnicze, zwłaszcza poddanych radio- i/lub chemioterapii, chorych na ostre białaczki i chorych po przeszczepieniu allogenicznych komórek krwiotwórczych.

Do wirusów, będących najczęstszą przyczyną zakażeń należą przede wszystkim wirusy z grupy *Herpes*, w szczególności *H. simplex*, wirus ospy wietrznej i półpaśca i wirus cytomegalii.

4.1 *Herpes simplex virus (HSV)*

Reaktywacja HSV jest najczęstszą przyczyną infekcji wirusowych w okresie neutropenii polekowej u chorych otrzymujących intensywną polichemioterapię przeciwnowotworową z powodu ostrej białaczki lub chłoniaka złośliwego i u chorych po przeszczepieniu komórek krwiotwórczych auto- i allogenicznych. Zakażenie to ujawnia się najczęściej 2-3 tygodnie po transplantacji. Reaktywacja wirusa u chorych w głębokiej immunosupresji objawia się przede wszystkim nasileniem lub pojawieniem się głębokich, wrzodziejących zmian zapalnych na błonach śluzowych, początkowo przede wszystkim w jamie ustnej (11). Są one bolesne i utrudniają choremu przyjmowanie po

Zakażenia potransfuzyjne

siłków i płynów. Zmiany te mogą sprzyjać nadkażeniom bakteryjnym lub grzybiczym i występowaniu posocznic. Zakażenie HSV może się szerzyć na błonę śluzową przelyku, układ oddechowy, wątrobę, i centralny układ nerwowy. Stosowanie acyklowiru w profilaktyce znacznie zmniejszyło częstość tego powikłania. Dla potwierdzenia zakażenia HSV wykonuje się hodowlę materiału, pobranego z miejsc zmienionych chorobowo lub ocenia się go w mikroskopie elektronowym.

4.2 *Cytomegalovirus (CMV)*

Jest to bardzo pospolity wirus. Obecność przeciwciał, świadcząca o przebyłym zakażeniu stwierdza się, w zależności od populacji i szerokości geograficznej u ok. 40-100% badanych. Zakażenie u zdrowych osób ma najczęściej przebieg bezobjawowy. W okresie utajenia wirus występuje w wielu tkankach, między innymi w komórkach jednojądrzastych krwi obwodowej. Przed wprowadzeniem profilaktyki reaktywacji zakażenia CMV u biorców allogenicznych komórek krwiotwórczych, występowało ono u ok. 70% chorych. Po wprowadzeniu obowiązujących obecnie standardów postępowania w zakresie profilaktyki i wczesnego leczenia infekcji CMV, choroba ta występuje u ok. 1-2% biorców allo-SCT w okresie pierwszych 100 dni po przeszczepie i u 16% chorych w okresie późniejszym (12). Reaktywacja zakażenia CMV może objawiać się gorączką, w przebiegu której dochodzi do zajęcia różnych narządów wewnętrznych. Najczęstszą lokalizacją choroby CMV jest śródmiąższowe zapalenie płuc. Cechuje się ono 30-60% śmiertelnością (11). Diagnostyka infekcji CMV u chorych po allo-SCT jest trudna. Stosuje się w tym celu konwencjonalną hodowlę uzyskanego materiału biologicznego (płyny ustrojowe, popłuczyny oskrzelowe), technikę *shell vial* i reakcję łańcuchowej polimerazy w celu wczesnego wykrycia antygenów wirusa.

4.3 *Varicella zoster virus (VZV)*

Przed erą szerokiego stosowania acyklowiru reaktywacja VZV i objawy ospy wietrznej o ciężkim przebiegu, często z zajęciem narządów wewnętrznych, były klasycznym przykładem oportunistycznej infekcji u dzieci chorych na chłoniaki złośliwe i ostre białaczki lub u chorych po allo-SCT. Nie leczone, cechowało się ono 7-30% śmiertelnością (11). Reaktywacja tego wirusa u chorych po allo-SCT pojawia się najczęściej między 2-10 miesiącem po przeszczepie. U chorych dorosłych reaktywacja zakażenia powoduje wystąpienie półpaśca, często rozległego, o ciężkim przebiegu. Zmianom skórny może towarzyszyć zajęcie narządów wewnętrznych. Objawy ostrej choroby „przeszczepu przeciwko gospodarzowi” sprzyjają szerzeniu się zakażenia. Diagnostyka opiera się, podobnie jak w przypadku innych infekcji u chorych w głębokiej immunosupresji przede wszystkim na metodach zmierzających do wykrycia antygeny w uzyskanym materiale biologicznym.

5. *Pneumocystis carinii*

Zakażenia tym patogenem występowały u chorych po przeszczepieniu allogenicznych komórek krwiotwórczych. Infekcja ta powodowała śródmiąższowe zapalenie płuc, które cechował ciężki przebieg i wysoka śmiertelność. Od czasu wprowadzenia do profilaktyki kotrimoksazolem częstość występowania tego powikłania bardzo znacznie zmniejszyła się (13).

6. Ocena kliniczna

Objawy ciężkiego zakażenia u chorych znajdujących się w okresie mielo- i/lub immunosupresji są często bardzo skąpe. Jedynym stałym objawem infekcji jest gorączka. Kryterium diagnostycznym jest wzrost temperatury powyżej 38,2°C, trwający dłużej niż 2 godziny. Przy zbieraniu wywiadu należy uwzględnić narażenie na choroby infekcyjne, przetoczenia krwi, przebyte wirusowe zapalenie wątroby, toksoplazmozę, gruźlicę, przebyte w ostatnim czasie szczepienia i stan uzębienia. Intensywność i rodzaj

stosowanego leczenia immunosupresyjnego a także jakość zmian (neutropenia, limfocytopenia, CD 34+ <200//il, hypogammaglobulinemia) mogą być bardzo istotną wskazówką diagnostyczną np. chorzy po allo-SCT należą do wysokiej grupy ryzyka wystąpienia grzybiczy kryptodlakowej i reaktywacji CMV, podczas gdy tego typu zmiany występują bardzo rzadko u chorych po auto-SCT. Kolejnym ważnym czynnikiem jest stopień zaawansowania choroby krwi i powikłania przebyte w trakcie poprzednich cykli leczenia, a także choroby współistniejące.

W badaniu fizykalnym należy zwrócić szczególną uwagę na układ oddechowy, śluzówki jamy ustnej, okolice okołoodbytniczą, skórę i okolice wokół cewnika naczyniowego.

W diagnostyce laboratoryjnej należy uwzględnić morfologię krwi obwodowej z dokładną oceną populacji krwinek białych, próby wątrobowe, gazometrię i badanie ogólne moczu. Przed włączeniem leczenia należy pobrać krew, mocz lub inne wydzieliny ustrojowe na badania mikrobiologiczne. Stopień nasilenia zmian w układzie oddechowym przy badaniu fizykalnym i często również na prześwietleniu klatki piersiowej może być nieadekwatny do ciężkości zakażenia. U wybranych chorych, w ocenie lokalizacji i charakteru zmian, pomocna może być tomografia komputerowa (1).

7. Profilaktyka i leczenie

Podstawową profilaktyką zakażeń u chorych poddanych intensywnej chemioterapii w przebiegu nowotworów układu krwiotwórczego i chorych zakwalifikowanych do SCT jest izolacja, ograniczenia dietetyczne, prawidłowa pielęgnacja jamy ustnej i okolicy okołoodbytniczej, jałowa pielęgnacja cewników naczyniowych.

Udowodnione korzyści wynikające ze stosowania profilaktyki farmakologicznej zakażeń bakteryjnych, wirusowych i grzybiczych u chorych z neutropenią lub przygotowywanych do przeszczepienia komórek krwiotwórczych to zmniejszenie częstości reaktywacji HSV, CMV i zakażeń *P. carinii* (11, 12, 13). Znaczenie selektywnej dekontaminacji przewodu pokarmowego, stosowania chinolonów a także flukonazolu w profilaktyce infekcji grzybiczych nie zostało ostatecznie ustalone (1).

U chorych w okresie neutropenii lub immunosupresji polekowej najczęściej i najwcześniej występują zakażenia bakteryjne. Chory taki jest narażony na zgon z powodu posocznicy, jeśli nie otrzyma w jak najszybszym czasie właściwego leczenia. Leczenie należy wdrożyć zaraz po ustaleniu rozpoznania, po pobraniu krwi i innych płynów ustrojowych na badanie mikrobiologiczne. Empiryczna antybiotykoterapia pozwoliła zmniejszyć ryzyko zgonu z powodu infekcji do 5-10% (14). Leczenie należy rozpocząć od antybiotyków o szerokim spektrum. Wybór empirycznej antybiotykoterapii powinien być uzależniony od przynależności do grupy wysokiego lub niskiego ryzyka, prawdopodobnego patogenu przy danym obrazie klinicznym, lokalizacji infekcji i profilu bakteriologicznego ośrodka (1). Najczęściej stosowanym skojarzeniem jest stosowanie antybiotyku 3-laktamowego z aminoglikozydowym. Preferowane są antybiotyki wykazujące wysoką aktywność przeciw *P. aeruginosa*. U chorych, u których gorączka nie ustępuje po 48 godzinach leczenia należy rozważyć wskazania do włączenia glikopeptydu i/lub amfoterycyny B. Po uzyskaniu wyników badań mikrobiologicznych leczenie należy dostosować do rodzaju patogenu. U wybranych chorych należy rozważyć wiązania do stosowania czynników wzrostu.

Piśmiennictwo

1. Asian T., Anaissie E.J., Medical Management of Hematological Malignant Diseases (ed 1) New York, NY, Marcel Dekker, 1998, str 321
2. Strasser S.J., McDonald G.B., Blood 1997, 93: 1 127,
3. Pizzo P.A.: New Engl J Med, 1993, 328: 1323
4. Bodey G.P, Cancer Treatment Rev, 1975, 2: 89

Zakażenia potransfuzyjne

5. Pfaller MA., Herwaldt L.A., *Clinical Microbiology Rev*, 1998, 1: 281
6. Etling LS., Bodey GR, Keefe B.H., *Clinical Infectious Diseases*, 1992, 14: 1201
7. Edmond EB., Ober JF., Wienbaum D., *Clinical Infectious Diseases*, 1995, 20: 1126
8. Bow E.J., Loewen R., Cheang M., *Clinical Infectious Diseases*, 1995, 21: 361
9. Warnock D.W., *Journal of Antimicrobial Therapy*, 1998, 41: 95
10. Marr K.A., Bowden R.A., *Transplant Infectious Disease*, 1999, 1: 237
11. Wood M.J., *Journal of Antimicrobial Therapy*, 1998, 41: 81
12. Bergmann O.J., Ellermann-Eriksen S., Mogensen S.C., *British Medical Journal*, 1995, 310: 1169
13. Sale G.E., Shulman H.M., Hackman R.C., *Bone Marrow Transplantation*, 1999, (ed 1) , p 258
14. Cordonnier C., Herbrecht R., Pico J.L., i wsp., *Clinical Infectious Diseases*, 1997, 24: 41

SPIS TREŚCI

Publikacja zawiera referaty wygłoszone w trakcie Sesji Naukowych Zjazdu

I. HISTORIA I WSPÓŁCZESNOŚĆ

Danuta Naruszewicz-Lesiuk, Wiesław Magdzik Choroby zakaźne na ziemiach polskich w dwudziestym wieku	5
Maria Miller Gruźlica w Polsce w XX wieku	9
Urszula Sztuka-Polińska Zapobieganie i zwalczanie chorób zakaźnych w Polsce w okresie międzywojennym	16
Jan Kuydowicz Problematyka zakażeń we współczesnych podręcznikach innych specjalności.....	23
Wiesław Magdzik Problemy demograficzne Polski na przełomie wieków z punktu widzenia epidemiologa	26
Ewa Majda-Stanisławska Nowe patogeny - czynniki etiologiczne znanych zespołów chorobowych.....	31
Jan Kuydowicz Śmierć w następstwie zakażeń w Polsce i na świecie	36

II. DIAGNOSTYKA

Zdzisław Dziubek Obecne problemy w rozpoznawaniu chorób zakaźnych w Kraju.....	40
Urszula Demkow, Tadeusz Zielonka Zastosowanie metod serologicznych w rozpoznawaniu gruźlicy	42
Zofia Zwolska Rola laboratoriów Prątka Gruźlicy w realizacji Narodowego Programu Zwalczania Gruźlicy	46
Ewa Augustynowicz - Kopeć Hodowla <i>Mycobacterium</i> - złoty standard w diagnostyce gruźlicy.....	48
Albert Jaworski, Ewa Augustynowicz - Kopeć System Gen-Probe z gatunkowo specyficznymi sondami w diagnozowaniu gruźlicy i mykobakterioz	54
Janusz Stańczak, Urszula Komorowska Nowoczesna diagnostyka zakażeń wirusowych i bakteryjnych	56
Józef Kur Techniki inżynierii genetycznej w badaniach epidemiologicznych	63
Adam Jaworski Perspektywy rozwoju diagnostyki, epidemiologii i terapii gruźlicy w świetle znajomości pełnej sekwencji nukleotydowej <i>Mycobacterium tuberculosis</i> H37RV	70
Anna Gzyl, Ewa Augustynowicz, Janusz Ślusarczyk Polimorfizm genów pertraktny i toksyny krztuścowej <i>Bordetella pertussis</i>	74
Ewa Augustynowicz, Anna Gzyl, Alfred Samet, Janusz Ślusarczyk Zmienność genetyczna i profil wytwarzanych toksyn w odniesieniu do patogenności szczepów <i>Clostridium perfringens</i>	76

III. PROFILAKTYKA I LECZENIE

Andrzej Denys Chemioprophylaktyka zakażeń wirusowych	82
Eugeniusz Małafiej Antybiotykoprofilaktyka w aspekcie zjawiska oporności drobnoustrojów	85

Franciszek Seneczko Chemioprophylaktyka zakażeń grzybami drożdżopodobnymi	92
Janusz Ślusarczyk Osiągnięcia ostatnich lat w zakresie szczepionek	97
Bożena Bucholt Współczesne preparaty do uodparniania biernego i ich zastosowanie	101
Danuta Seroka Uodpornianie czynno-bierne jako metoda zapobiegania wściekliznie	107
Anna Fordymacka Wybrane problemy z zakresu uodpornienia przeciw błonicy	110
Andrzej Zieliński Szczepienia przeciw zakażeniu <i>Haemophilus</i> <i>influenzae</i> typu B	115
Wiesława Janaszek Stan uodpornienia populacji polskiej przeciw odrze po 25 latach od wprowadzenia szczepień ochronnych	121
Roman Graczykowski, Elżbieta Narolska-Wierczewska Problemy związane ze szczepieniami w opinii epidemiologa wojewódzkiego	128
Zbigniew Dudkiewicz, Krystian Żołyński, Sławomir Goc, A. Szmigiel Immunoterapia w kompleksowym leczeniu złamań otwartych układu narządów ruchu	135
IV. ZAKAŻENIA SZPITALNE I POSOCZNICE	
Jacek Juszczyk Zakażenia szpitalne (kilka podstawowych stwierżeń)	145
Alfred Samet, Łukasz Naumiuk, Marek Bronk, Olga Padzik Epidemie szpitalne	148
Jacek Juszczyk Zarys patogenezy posocznicy	150
Alfred Samet, Jolanta Komarnicka, Marek Bronk Monitorowanie bakteriologiczne posocznicy	157
Anna Śledzińska, K. Giżyński, Marek Bronk, Alfred Samet, Józef Kur Szpitalne szczepy endemiczne i ich wrażliwość na preparaty antyseptyczne	161
Łukasz Naumiuk, Alfred Samet Nowe mechanizmy oporności drobnoustrojów a niepowodzenia terapii posocznicy	168
V. NEUROINFEKCJE	
Jerzy Janeczko Neuroinfekcje.....	172
Witold Przyjałkowski, Dariusz Lipowski, Jerzy Janeczko, Zbigniew Olejnik Zapalenia ośrodkowego układu nerwowego u chorych z obniżoną odpornością	172
Dariusz Lipowski, Witold Przyjałkowski, Jerzy Janeczko, Zbigniew Olejnik Ropnie mózgu - diagnostyka i leczenie	177
Jerzy Janeczko, Zbigniew Olejnik Witold Przyjałkowski, Dariusz Lipowski Leczenie ropnych zapaleń opon mózgowo- rdzeniowych i mózgu	182
Zbigniew Olejnik, Jerzy Janeczko, Dariusz Lipowski, Witold Przyjałkowski Gruźlica ośrodkowego układu nerwowego ...	188

VI. ZAKAŻENIA OKOŁOPORODOWE	
Andrzej Zdziennicki Bakteryjne zakażenia okołoporodowe jako czynnik ryzyka w perinatologii	196
Małgorzata Pawłowska Wirusowe zakażenia wertykalne	199
VII. CHOROBY ODZWIERZĘCE I PASOŻYTNICZE	
Tomasz Mach Zakażenie <i>Helicobacter pylori</i> - choroba odzwierzęca	204
Teresa Hermanowska-Szpakowicz Aspekty kliniczno- -terapeutyczno-profilaktyczne chorób przenoszonych przez kleszcze	209
Wanda Kocięcka Nowe aspekty patologii klinicznej późnego okresu włośnicy	216
Hanna Stypułkowska-Misiurewicz Zatrucia pokarmowe - odzwierzęce zatrucia pokarmowe - światowe i krajowe problemy epidemiologiczne ..	221
Eugeniusz Małafiej Immunologiczne uwarunkowania pasożytów	227
Anna C. Majewska Epidemiologiczno-kliniczne cechy giardiozy	230
Mariusz J. Wranicz Współczesne poglądy na taksonomię rodzaju trichinella i patogenezę fazy mięśniowej włośnicy	235
Edward Siński Kryptosporidioza u ludzi: epidemiologia, drogi zarażenia i patogenezę	239
Małgorzata Sadkowska-Todys Genetyczna stabilność wirusa wściekliczny	246
Zdzisław Dziubek, Piotr Kajfasz, Hanna Zarnowska, Wojciech Basiak Zimnica w materiale Kliniki Chorób Odzwierzęcych i Tropikalnych Akademii Medycznej w Warszawie.....	248
Piotr Kajfasz Nowe leki przeciwwirusowe i zasady ich stosowania	250
VIII. HEPATOLOGIA ZAKAŻNA	
Waldemar Halota Leczenie przewlekłych zapaleń wątroby etiologii HBV i HCV - stan obecny i perspektywy	253
Stanisław Czekalski, Andrzej Oko Problemy terapii przewlekłych zapaleń wątroby u chorych dializowanych	258
Janusz Cianciara Odległe wyniki leczenia przewlekłych wirusowych zapaleń wątroby typu B interferonem alfa u dorosłych - doświadczenia polskie	263
Jacek Juszczyk, Beata Bolewska, Jan Flieger, Katarzyna Świętek Efektywność leczenia przeciwwirusowego przewlekłego zapalenia wątroby typu C (wieloośrodkowe badania polskie)	268
Małgorzata Pawłowska, Andrzej Horban, Waldemar Halota, Hanna Bera κ Uwagi do prognozowania skuteczności leczenia przewlekłych zapaleń wątroby typu C interferonem-alfa i rybawiryną w świetle własnych obserwacji	270
Marek Woynarowski Przewlekłe wirusowe zapalenia wątroby u dzieci - doświadczenia Instytutu Pomnika Centrum Zdrowia Dziecka	273
Wojciech Służewski, Arieta Kowala-Piaskowska, Iwona Mozer-Lisewska Korelacja kliniczno-morfologiczna obrazu przewlekłego wirusowego zapalenia wątroby typu B u dzieci w zależności od wieku i drogi zakażenia	277

Anna Grzeszczuk, Danuta Prokopowicz Kliniczne aspekty bąblowicy wątroby	285
IX. CHOROBY PRZENOSZONE DROGĄ PŁCIOWĄ	
Andrzej Gładysz, Brygida Knysz Nowe kierunki terapii HIV/AIDS oraz problemy związane z jej realizacją	290
Tomasz M. Szkoda Epidemiologia i diagnostyka zakażeń wirusami papilloma	298
Sławomir Majewski, Iwona Rudnicka Choroby skóry i błon śluzowych w przebiegu zakażenia HIV	303
Iwona Rudnicka Kiła u zakażonych HIV	306
Zygmunt Dajek Zapalenia cewki moczowej i narządu rodne go	308
X. Zakażenia potransfuzyjne	
Mirosław Kłos Zakażenia w krwiolecznictwie	312
Jolanta Gawęda Parwovirus B19 epidemiologia i ryzyko zakażeń poprzez krew i preparaty krwiopochodne	317
Aleksandra Dzieciatkowska Zakażenia bakteryjne preparatów krewiopochodnych	322
Krzysztof Kłos, Jerzy Kruszewski Zakażenia CMV jako ryzyko związane z przetaczaniem krwi	326
Agata Wrzesień-Kuś Zakażenia jako problem hematologii	328