

ANALIZA PORÓWNAWCZA SZCZEPÓW *BORDETELLA PERTUSSIS*
IZOLOWANYCH OD CHORYCH W LATACH 1995–1998 I W ROKU 1968

W roku ubiegłym ukazały się w Przeglądzie Epidemiologicznym artykuły prof. Gałązki dotyczące epidemiologii i zapobiegania krztuścowi (1, 2). Reakcją na te prace był list do redakcji dr Dulny i dr Żabickiego z Wojewódzkiej Stacji Sanitarno-Epidemiologicznej w Warszawie, w którym autorzy omawiają wprowadzone przez WSSE zmiany w diagnostyce krztuśca (3). Zaowocowały one polepszeniem wykrywalności krztuśca w W-wie i okolicach, a także doprowadziły do wyizolowania pałeczek krztuśca z materiału pobieranego od chorych. WSSE w Warszawie jest obecnie jedyną w kraju placówką mogącą się poszczycić pozytywnymi wyhodowaniami. Wszystkie wyizolowane przez Stację szczepy są kolekcjonowane przez Centralne Laboratorium Surowic i Szczepionek w Warszawie i Państwowy Zakład Higieny.

Wzrost liczby zarejestrowanych zachorowań na krztusiec był powodem powołania przy Komisji Epidemiologii i Chorób Zakaźnych Grupy Roboczej do Zwalczenia Krztuśca, w skład której weszli specjaliści z Państwowego Zakładu Higieny i Centralnego Laboratorium Surowic i Szczepionek. Jednym z zadań nakreślonych przez ww. Grupę Roboczą w owym raporcie (4) było podjęcie badań nad próbą ustalenia przyczyn zwiększonej zachorowalności. Zadania tego podjęło się Centralne Laboratorium Surowic i Szczepionek. Jedną z możliwych przyczyn wzrostu liczby przypadków krztuśca jest pojawienie się szczególnie wirulentnego klonu *B. pertussis*, inną – spadek odporności populacji spowodowany obniżeniem się skuteczności stosowanej obecnie szczepionki krztuścowej.

Celem omawianej pracy była analiza serotypowa i genotypowa szczepów *B. pertussis* izolowanych w WSSE w latach 1995–1998 od chorych z Warszawy i porównanie ich ze szczepami izolowanymi w roku 1968 (z kolekcji muzealnej PZH) oraz ze szczepami używanymi do produkcji szczepionki przeciwkrztuścowej w Wytwórni Surowic i Szczepionek w Krakowie. Niektórzy badacze zwracają uwagę na znaczenie aglutynogenów w odporności poszczepiennej i w badaniach epidemiologicznych. Jednakże serotypowanie jest zbyt mało czułą metodą w rozróżnianiu klonów bakterii. Wcześniejsze badania wielu autorów wykazały, że elektroforeza w zmiennym polu (PFGE) fragmentów chromozomalnego DNA trawionego ER Xba I jest użyteczną metodą w subtypowaniu klinicznych izolatów wielu gatunków bakterii, w tym *B. pertussis*.

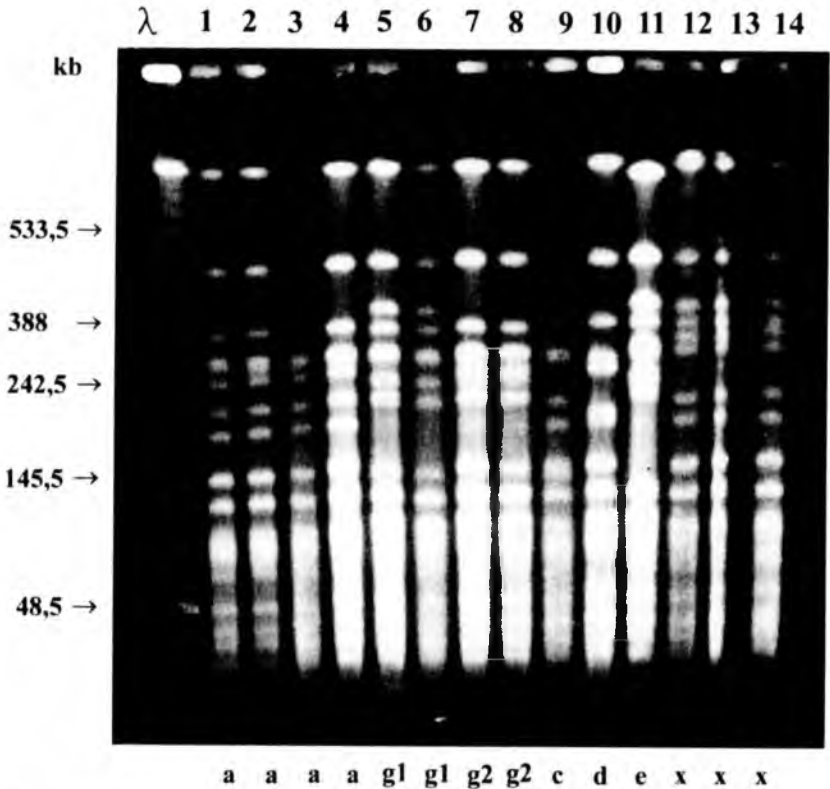
MATERIAŁY I METODY

Materiałem do badań było 70 szczepów *B. pertussis* izolowanych w latach 1995–1998 w WSSE, 9 szczepów izolowanych w roku 1968 (z kolekcji PZH) oraz współczesne szczepy szczepionkowe. Serotypowanie wykonano metodą aglutynacji

szkiełkowej z surowicami wzorcowymi: anty-AGG1, anty-AGG2 i anty-AGG3. Genotypowanie wykonano analizując wzory restrykcyjne genomowego DNA po trawieniu ER Xba I uzyskane w elektroforezie pulsacyjnej (wzory PFGE).

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Wśród współczesnych izolatów dominuje serotyp 1, 2, 0, natomiast ani jeden z 9-ciu izolatów z 1968 roku nie ma aglutynogenu 2 (tab. I). Jednakże zbyt mała liczba szczepów z 1968 r. nie pozwala na jednoznaczne stwierdzenie, że w ciągu ostatnich 30 lat nastąpiła zmiana serotypów krążących w Warszawie szczepów *B. pertussis*, aczkolwiek uzyskane wyniki mogą na to wskazywać. Szczepy szczepionkowe używane



λ – standard wielkości fragmentów DNA

1, 2, 9 – izolaty z 1968 r.

6, 7, 8 – izolaty z 1995 r.

3, 5, 10 – izolaty z 1997 r.

4, 11 – izolaty z 1998 r.

12, 13 i 14 – szczepy szczepionkowe (*B.p.* 186, 606 i 629)

Literami: a, g1, g2, c, d, e, x oznaczono typy wzorów PFGE.

Fot. 1. Wzory PFGE wybranych szczepów *B. pertussis*

Tabela I. Wzory serologiczne szczepów *B. pertussis* izolowanych w roku 1968 i w latach 1995–1998

Szczepy (liczba izolatów)	Wzór serologiczny			
	AGG 1, 0, 0 liczba (%)	AGG 1, 0, 3 liczba (%)	AGG 1, 2, 0 liczba (%)	AGG 1, 2, 3 liczba (%)
Izolaty z 1968 r. (9)	4 (44,4%)	5 (55,6%)	0 (0%)	0 (0%)
Izolaty z lat 1995–1998 (70)	1 (1,4%)	1 (1,4%)	65 (92,9%)	3 (4,3%)

do produkcji polskiej szczepionki krztuścowej (B.p. 186, 606 i 629) mają wszystkie trzy główne aglutynogeny, czyli spełniają stawiane pod tym względem wymogi WHO.

Analiza genotypowa współczesnych izolatów *B. pertussis* wskazuje na krążenie wielu klonów, aczkolwiek wiele z nich może być blisko spokrewnionych (różnice do 3 prążków) (Fot. 1). Interesujące jest, że niektóre współczesne izolaty są identyczne z tymi sprzed 30 lat (wzór PFGE „a” widoczny na fot. 1 zarówno wśród szczepów z 1968 r., jak i izolatów z 1997 i 1998 roku). Obserwowana zwiększona liczba zachorowań na krztusiec nie jest spowodowana zatem pojawieniem się jednego, szczególnie wirulentnego klonu *B. pertussis*, o czym świadczy heterogenność genotypowa badanych izolatów. Przedstawione wyniki badań sugerują, że w Warszawie od długiego czasu krążą określone populacje szczepów *B. pertussis*, które ulegają stopniowemu różnicowaniu ewolucyjnemu.

Iwona Łętowska

Centralne Laboratorium Surowic i Szczepionek
Warszawa

PIŚMIENNICTWO

1. Gałązka A. Czy możemy lepiej zapobiegać krztuścowi? I. Zmiany w epidemiologii krztuśca. *Przeg Epidemiol* 1997, 51 : 275–284.
2. Gałązka A. Czy możemy lepiej zapobiegać krztuścowi. II. Stare i nowe szczepionki przeciw krztuścowi. *Przeg Epidemiol* 1997, 51 : 285–295.
3. Dułny G., Żabicki W. Rozpoznawanie krztuśca. *Przeg Epidemiol* 1997, 51 : 475–477.
4. Grupa Robocza Komisji Epidemiologii Chorób Zakaźnych Rady Sanitarno-Epidemiologicznej przy Głównym Inspektorze Sanitarnym. Plan poprawy zwalczania krztuśca w Polsce: Diagnostyka i zapobieganie krztuścowi w Polsce w najbliższych latach. Warszawa, kwiecień 1998.

LETTER TO THE EDITOR

Iwona Łętowska

A comparable analysis of *Bordetella pertussis* strains isolated from patients in the years 1995–1998, and in 1968.

Adres autora:

dr Iwona Łętowska

Centralne Laboratorium Surowic i Szczepionek

Warszawa, ul. Chałmska 32/34