

Waldemar Rastawicki, Natalia Rokosz, Marek Jagielski

CZĘSTOŚĆ WYKRYWANIA PRZECIWCIAŁ KLASY IgA, IgG I IgM DLA TOKSYNY KRZTUŚCOWEJ W RUTYNOWO PROWADZONEJ SERODIAGNOSTYCE KRZTUŚCA U OSÓB ZE STANAMI ZAPALNYMI UKŁADU ODDECHOWEGO W POLSCE

THE FREQUENCY OF DETECTION OF IgA, IgG AND IgM ANTIBODIES TO PERTUSSIS TOXIN IN PATIENTS WITH RESPIRATORY TRACT INFECTIONS IN POLAND

Zakład Bakteriologii Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego – Państwowego Zakładu Higieny

STRESZCZENIE

Przeanalizowano wyniki rutynowo wykonywanych odczynem ELISA (NovaLisa Bordetella pertussis, NovaTec) badań 500 próbek surowicy uzyskanych od osób ze stanami zapalnymi układu oddechowego w kierunku obecności przeciwciał dla toksyny krztuścowej. Diagnostycznie znamiennej poziom przeciwciał klasy IgA stwierdzono w 54 (10,8%), klasy IgG w 258 (51,6%) i klasy IgM w 136 (27,2%) próbkach surowicy. Stwierdzono, że częstość wykrywania przeciwciał dla toksyny krztuścowej rosła wraz z wiekiem badanych osób osiągając najwyższe wartości u chorych w wieku 16-20 lat. Wyniki przeprowadzonych badań wykazały również częste występowanie przeciwciał klasy IgG dla toksyny krztuścowej u osób dorosłych jak również statystycznie istotne częstsze występowanie przeciwciał klasy IgM u kobiet niż u mężczyzn.

Słowa kluczowe: *Bordetella pertussis*, toksyna krztuścowa, serodiagnostyka krztuśca, przeciwciała klasy IgA, IgG i IgM

ABSTRACT

Five hundred of results of commercial ELISA test (NovaLisa Bordetella pertussis, NovaTec) used in routine diagnosis of IgA, IgG and IgM antibodies to pertussis toxin in serum samples obtained from patients with respiratory tract infection were analyzed. The diagnostic level of IgA antibodies was observed in 54 (10,8%), IgG in 258 (51,6%) and IgM in 136 (27,2%) serum samples. The frequency of detection of the antibodies in children and adolescents increased with age reaching its peak among individuals with age range between 16 – 20 years. The results of our study showed also a high frequency of IgG antibodies to the pertussis toxin in the adults with respiratory tract infections. We also found statistical significant higher frequency of IgM antibodies, but not IgA and IgG, to pertussis toxin in women than in men.

Key words: *Bordetella pertussis*, pertussis toxin, serodiagnosis of pertussis, antibodies IgA, IgG, IgM

WSTĘP

Krztusiec jest ostrą, zakaźną chorobą dróg oddechowych, głównie wieku dziecięcego, wywoływaną przez drobne, Gram-ujemne pałeczki *Bordetella pertussis*. Laboratoryjnym kryterium rozpoznania krztuśca jest izolacja pałeczek *B. pertussis* z próbek materiału klinicznego, wykrycie obecności ich kwasu nukleinowego bądź też potwierdzenie znamiennej wzrostu poziomu swoistych przeciwciał w co najmniej dwóch próbkach surowicy, uzyskanych od osoby chorej w różnych okresach choroby (1). Ponieważ izolacja pałeczek *B. pertussis* z próbek materiału klinicznego wymaga użycia specjalistycznych pożywek i ogranicza się głównie do nieżyłowego okresu choroby, a poszukiwanie obecności

DNA nie jest jeszcze powszechnie przyjętą metodą diagnostyczną w większości laboratoriów mikrobiologicznych, w rutynowo prowadzonej laboratoryjnej diagnostyce krztuśca poszukuje się głównie obecności swoistych przeciwciał. Aktualnie w serodiagnostyce krztuśca najczęściej wykorzystuje się komercyjne testy immunoenzymatyczne ELISA, w których jako antygen stosuje się preparat toksyny krztuścowej *B. pertussis*, będącej jednym z głównych czynników zjadliwości tych drobnoustrojów (2). Interpretację wyników badań serologicznych w znacznej mierze komplikuje jednak fakt prowadzenia masowych szczepień ochronnych przeciwko krztuścowi u dzieci (3-5). Powstające w wyniku podania szczepionki przeciwciała, należące głównie do klasy IgM i IgG, mogą być błędnie interpretowane

u osób ze stanami zapalnymi układu oddechowego badanych w kierunku krztuśca, jako immunoglobuliny powstałe w wyniku naturalnego zakażenia.

Zgodnie z obowiązującym prawem przypadki zachorowania na krztusiec podlegają rejestracji przez organy Państwowej Inspekcji Sanitarnej (Dz. U. z dnia 5 grudnia 2008, nr 234 poz. 1570). Według danych Zakładu Epidemiologii NIZP-PZH, w 2008 roku odnotowano w Polsce 2167 przypadków krztuśca. Pomimo że krztusiec jest chorobą głównie wieku dziecięcego, dane epidemiologiczne uzyskane w wielu krajach wskazują na rosnący odsetek przypadków tej choroby u osób dorosłych (3,6-11).

Celem prezentowanej pracy jest ocena częstości występowania przeciwciał w poszczególnych klasach immunoglobulin u osób w różnym wieku, podejrzanych w badaniu klinicznym o zakażenie pałeczkami *B. pertussis*. Przeprowadzona ocena powinna ułatwić prawidłową interpretację wyników badań serologicznych zleczanych rutynowo laboratoriom mikrobiologicznym, co przyczyni się do poprawy efektywności i rzetelności zgłaszania laboratoryjnego potwierdzenia krztuśca.

MATERIAŁ I METODY

Retrospektywnej analizie poddano 500 wyników rutynowo wykonywanych badań serologicznych w kierunku krztuśca przeprowadzonych w Zakładzie Bakteriologii NIZP- PZH od stycznia 2007 do końca maja 2009 roku. Próbkę surowicy do badań pochodziły od osób chorych ze stanami zapalnymi układu oddechowego, podejrzanych w badaniu klinicznym o zakażenie pałeczkami *B. pertussis*. Dwieście sześćdziesiąt trzy próbki uzyskano od kobiet, natomiast 237 próbek surowicy od mężczyzn. Wszystkie badania wykonano komercyjnym odczynem ELISA NovaLisa Bordetella pertussis firmy NovaTec, w którym jako antygen producent zastosował preparat toksyny krztuścowej. W badanych próbkach surowicy, zgodnie ze zleceniem lekarza prowadzącego, poszukiwano przeciwciał jednej, dwóch lub trzech klas immunoglobulin. Próbkę surowicy dostarczane były wraz z kartami zlecenia, w których obok podstawowych danych identyfikacyjnych podawano najczęściej jedynie wiek osób chorych.

Wśród zbadanych 500 próbek surowicy aż 470 pochodziło od osób, od których próbkę krwi do badania serologicznego pobrano jednokrotnie i tylko 30 od osób badanych dwukrotnie w czasie trwania choroby. Okres pomiędzy uzyskaniem kolejnych dwóch próbek surowicy wahał się od 2 do 3 tygodni. Za diagnostycznie znamienne przyjęto co najmniej dwukrotny wzrost lub spadek poziomu przeciwciał oznaczony w odczynie ELISA.

Na potrzeby prezentowanej pracy, w celu przeanalizowania częstości występowania przeciwciał w zależności od wieku badanych osób, wydzielono 8 grup wiekowych. W pierwszych dwóch grupach znalazły się najmłodsze dzieci, odpowiednio do 6 miesiąca i od 7 do 12 miesiąca życia. Do trzeciej grupy celowo zakwalifikowano dzieci powyżej 1 roku życia, ale nie starsze niż 5 lat, aby nie umieszczać w jednej grupie dzieci przed i po ostatnim szczepieniu, które jest wykonywane w 6 roku życia. Kolejne grupy wiekowe obejmowały osoby w wieku: 6-10 lat, 11-15 lat, 16-20 lat, 21-40 lat i powyżej 40 lat. Interpretację wyników testu ELISA przeprowadzono zgodnie ze wskazówkami producenta zestawu, przyjmując wynik poniżej 9 jednostek NTU (NovaTec – Units) jako ujemny, wynik pomiędzy 9-11 jako wątpliwy i powyżej 11 za dodatni. W celu zwiększenia wiarygodności wykonywanych badań i kontroli powtarzalności uzyskiwanych wyników każdą diagnostyczną i kontrolną próbkę surowicy nakładano do dwóch dołków płytki zestawu ELISA.

Istotność różnic w częstości wykrywania przeciwciał w próbkach surowicy uzyskanych od kobiet i mężczyzn oceniano testem niezależności chi-kwadrat z zastosowaniem poprawki Yatesa. Za znamienne statystycznie przyjęto różnice, gdzie poziomy istotności p były mniejsze od 0,05 ($p < 0,05$).

WYNIKI

Analizie poddano ogółem wyniki badania 500 próbek surowicy uzyskanych od osób z klinicznym podejrzeniem krztuśca. Wyniki kwalifikowano jako ujemne, wątpliwe bądź dodatnie. Zgodnie z zasadami przyjętymi podczas wykonywania badań serologicznych w kierunku krztuśca, w przypadku uzyskania wyniku wątpliwego w pierwszym oznaczeniu, konieczne jest badanie drugiej próbki surowicy w celu potwierdzenia lub wykluczenia zakażenia pałeczkami *B. pertussis*. Ponieważ w zdecydowanej większości próbki surowicy do badań pochodziły z jednego pobrania krwi w czasie trwania choroby, wyników wątpliwych nie uwzględniono w dalszej analizie.

Ogółem, przeciwciała dla toksyny krztuścowej w diagnostycznie znamienym poziomie (powyżej 11 jednostek NTU) wykrywano: w klasie IgA w 54 (10,8%), w klasie IgG w 258 (51,6%) i w klasie IgM w 136 (27,2%) próbkach surowicy. Nie stwierdzono statystycznie istotnych ($p > 0,05$) różnic w częstości występowania przeciwciał klasy IgA i IgG dla toksyny krztuścowej u kobiet i u mężczyzn (odpowiednio 11,8% i 54,0% u kobiet i 9,7% i 48,9% u mężczyzn). Przeciwciała klasy IgM w mianie diagnostycznie znamienym występowały natomiast statystycznie istotnie częściej (chi kwadrat 17,8; $p < 0,05$) u kobiet niż u mężczyzn

Tabela I. Występowanie przeciwciał dla pałeczek *B. pertussis* u osób należących do poszczególnych grup wieku
Table I. Occurrence of antibodies to *B. pertussis* in patients in different age groups

Grupa wieku	Liczba próbek surowicy	IgA		IgG		IgM	
		Liczba zbadanych	Liczba (%) dodatnich	Liczba zbadanych	Liczba (%) dodatnich	Liczba zbadanych	Liczba (%) dodatnich
0-6 mc	50	49	-	46	11 (23,9)	48	2 (4,2)
7-12 mc	54	53	2 (3,8)	53	21 (39,6)	53	7 (13,2)
1-5 lat	71	70	3 (4,3)	70	34 (48,6)	70	20 (28,6)
6-10 lat	55	52	3 (5,8)	53	33 (62,3)	55	18 (32,7)
11-15 lat	53	49	16 (32,7)	49	33 (67,3)	52	30 (57,7)
16-20 lat	26	25	11 (44,0)	26	19 (73,1)	25	16 (64,0)
21-40 lat	35	32	5 (15,6)	33	23 (69,7)	31	10 (32,3)
>40 lat	45	45	7 (15,6)	44	26 (59,1)	44	6 (13,6)

Tabela II. Wzajemne relacje w występowaniu przeciwciał IgA, IgG i IgM dla pałeczek *B. pertussis* u osób z różnych grup wieku

Table II. Mutual relation between antibodies IgA, IgG and IgM to *B. pertussis* in patients in different age groups

Grupa wieku	Liczba badanych próbek surowicy w klasach IgA, IgG, IgM	Liczba (%) wyników dodatnich w klasach Ig A+G+M	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasie IgA	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasie IgG	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasie IgM	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasach IgA+M	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasach IgA+G	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasach IgG+M
0-6 mc	44	-	-	9 (20,5)	-	-	-	1 (2,3)
7-12 mc	52	2 (3,8)	-	14 (26,9)	-	-	-	3 (5,8)
1-5 lat	68	1 (1,5)	-	16 (23,5)	4 (5,9)	-	1 (1,5)	14 (20,6)
6-10 lat	51	3 (5,9)	-	18 (35,3)	3 (5,9)	-	-	9 (17,6)
11-15 lat	47	12 (25,5)	-	6 (12,8)	4 (8,5)	-	2 (4,3)	9 (19,1)
16-20 lat	24	7 (29,2)	-	3 (12,5)	3 (12,5)	1 (4,2)	1 (4,2)	2 (8,3)
21-40	29	2 (6,9)	-	11 (37,9)	1 (3,4)	-	2 (6,9)	6 (20,7)
>40	44	-	-	13 (29,5)	1 (2,3)	-	5 (11,4)	4 (9,1)

Tabela III. Liczba i odsetek osób, u których w drugiej próbce surowicy, uzyskanej po 2-3 tygodniach od pierwszej, nie odnotowano zmian lub odnotowano diagnostycznie znamiennej zmiany wzrost lub spadek poziomu przeciwciał klasy IgA, IgG i IgM

Table III. Number and percentage of patients with diagnostic significant increase or decrease of level of the IgA, IgG and IgM antibodies in the second serum sample, obtained after 2-3 weeks after the first serum sample

Liczba dwukrotnie badanych osób chorych	IgA			IgG			IgM		
	Wzrost	Spadek	Bez zmian	Wzrost	Spadek	Bez zmian	Wzrost	Spadek	Bez zmian
15	2 (13,3)	-	13 (86,7)	9 (60,0)	2 (13,3)	4 (26,7)	2 (13,3)	1 (6,7)	12 (80,0)

(odpowiednio 35,4% i 18,1%). Częstsze występowanie przeciwciał IgM u kobiet niż u mężczyzn zaobserwowano we wszystkich badanych grupach wieku.

Na dołączonych do próbek surowicy załącznikach wiek badanych osób chorych podano w 389 przypadkach (78%). Częstość występowania przeciwciał w poszczególnych klasach immunoglobulin u osób chorych zaliczonych do różnych grup wieku przedstawiono w tabeli I. Przeciwciał klasy IgA nie wykryto u najmłodszych dzieci, w wieku do 6 miesiąca życia. U dzieci starszych, do 10 roku życia, przeciwciała IgA występowały sporadycznie, natomiast zdecydowanie najczęściej wykrywano je u młodzieży w wieku od 11 do 20 lat. Przeciwciała klasy IgM również najczęściej wykrywano

u nastolatków, przy czym zdecydowanie częściej niż przeciwciała klasy IgA, immunoglobuliny klasy M występowały już u młodszych dzieci. W przypadku poszukiwania przeciwciał klasy IgG nie stwierdzono tak istotnych różnic w częstości występowania w zależności od wieku badanych osób. Immunoglobuliny tej klasy dominowały u osób chorych we wszystkich grupach wiekowych, a ich przewaga na pozostałymi klasami była widoczna zwłaszcza u osób dorosłych.

Wzajemną relację w jednoczesnym występowaniu przeciwciał należących do różnych klas immunoglobulin przedstawiono w tabeli II. W tabeli tej uwzględniono jedynie wyniki oznaczeń próbek surowicy badanych równolegle we wszystkich trzech klasach przeciwciał.

Nie stwierdzono ani jednego przypadku występowania w badanych próbkach surowicy wyłącznie przeciwciał klasy IgA. Przeciwciała klasy IgM, w przeciwieństwie do przeciwciał klasy IgG, jako jedyne wykrywane immunoglobuliny występowały stosunkowo rzadko. Częściej stwierdzano przypadki równoczesnego występowania przeciwciał klasy IgG i IgM bądź też wszystkich trzech klas badanych immunoglobulin.

W przypadku badania próbek surowicy uzyskanych dwukrotnie w czasie trwania choroby stwierdzono, że poziom przeciwciał klasy IgA wzrósł u 2 na 15 badanych osób chorych, przeciwciał klasy IgG wzrósł u 9 i spadł u 2 osób, natomiast przeciwciał klasy IgM wzrósł u 2 i spadł u jednej osoby chorej (tabela III).

DYSKUSJA

Wytwarzanie przeciwciał dla antygenów pałeczek *B. pertussis* może być stymulowane zarówno podczas naturalnego zakażenia tymi drobnoustrojami, jak i po podaniu szczepionki przeciwkrztuścowej. Swoiste przeciwciała pojawiają się w surowicy osób chorych między 5 a 25 dniem od wystąpienia typowych dla krztuśca objawów klinicznych (12,13). Przeciwciała klasy IgG pojawiają się zwykle w 2-3 tygodniu od zakażenia, a ich najwyższy poziom obserwuje się między 8 a 10 tygodniem choroby (13). Wraz z rozwojem choroby poziom przeciwciał klasy IgG wzrasta, a wysokie miano przeciwciał może utrzymywać się przez wiele lat po przebytej infekcji. Przeciwciała klasy IgM pojawiają się najwcześniej, bo już w 5-10 dniu choroby i świadczą zazwyczaj o ostrej fazie choroby. Immunoglobuliny klasy IgM nie mogą przenikać przez łożysko ciężarnych kobiet i z tego powodu wykrycie tych przeciwciał u nieszczepionych niemowląt, nawet na dość niskim poziomie, świadczy o ostrej fazie choroby (13). U dzieci szczepionych na krztusiec wykrycie przeciwciał klasy IgM jest mało miarodajne, ponieważ nie można odróżnić przeciwciał poszczepiennych od przeciwciał powstałych w wyniku zakażenia. Przeciwciała klasy IgA mogą być wykrywane po około 10 dniach od wystąpienia klinicznych objawów choroby. Podwyższony poziom przeciwciał klasy IgA dla antygenów pałeczek *B. pertussis*, może utrzymywać się w surowicy osób po przebytych zakażeniu zazwyczaj od kilku miesięcy do dwóch lat (12,14), aczkolwiek według niektórych autorów dynamika spadku ich poziomu jest wolniejsza niż przeciwciał klasy IgG (12,15,16).

W celu potwierdzenia aktualnego zakażenia pałeczkami *B. pertussis* wymagane jest wykazanie znamiennego wzrostu poziomu swoistych przeciwciał w dwóch próbkach surowicy uzyskanych w odstępie 2-3 tygodni. Zasada ta ma szczególne znaczenie w przypadku oznaczania przeciwciał klasy IgG i IgM, intensywnie

wytwarzanych po podaniu szczepionki przeciwkrztuścowej. Ponieważ przeciwciała klasy IgA stymulowane są głównie podczas naturalnego zakażenia, uważa się, że wykazanie ich podwyższonego poziomu nawet w jednorazowo uzyskanej próbce surowicy od osoby chorej ze stanem zapalnym układu oddechowego, jest najlepszym dowodem zakażenia pałeczkami *B. pertussis* (17).

Zarówno naturalne zakażenie pałeczkami *B. pertussis*, jak i szczepienie, nie zabezpiecza całkowicie przed reinfekcjami. Uważa się, że naturalna odporność po zakażeniu trwa od 7 do 20 lat, natomiast po szczepieniu od 4 do 12 lat (18). Ponieważ, zgodnie z aktualnie obowiązującym kalendarzem szczepień w Polsce, ostatnią dawkę szczepionki przeciwkrztuścowej podaje się dzieciom w 6-tym roku życia, teoretycznie powinna ona zabezpieczać przed krztuścem maksymalnie do 18 roku życia. Osoby dorosłe nie posiadają więc już przeciwciał zabezpieczających przed zakażeniem pałeczkami *B. pertussis* i są podatne na zakażenie.

Badania serologiczne przeprowadzone wcześniej przez innych autorów dobitnie wykazały, że krztusiec nie jest chorobą wyłącznie wieku dziecięcego. Według *Senzilet* i wsp. (6) do 32% przypadków przewlekłego kaszlu u osób dorosłych może być spowodowane zakażeniem pałeczkami *B. pertussis*. *Kapaskelis* i wsp. (19) przeciwciała klasy IgM dla toksyny krztuścowej w mianie diagnostycznie znamiennej wykrył u 10,6%, a przeciwciała klasy IgG u 71,3% dorosłych osób z objawami kaszlu trwającego ponad 3 tygodnie. Równie częste lub nawet częstsze występowanie przeciwciał klasy IgG dla toksyny krztuścowej zanotowano także u nastolatków (3,20,21). Przeprowadzone badania przez *Pavlopoulou* i wsp. (5) u zdrowych mieszkańców Aten, wykazały z kolei, że najczęściej przeciwciała klasy IgG wykrywano u szczepionych dzieci w wieku do 2 roku życia, najrzadziej zaś u dzieci w wieku 6-12 lat. U nastolatków i osób dorosłych autorzy ci stwierdzili ponowny wzrost częstości występowania przeciwciał klasy IgG, związany tym razem z reinfekcjami *B. pertussis*.

W badaniach własnych podwyższony poziom przeciwciał klasy IgA wykazano u 15,6%, przeciwciał klasy IgM u 21,3%, a przeciwciał klasy IgG u ponad 63,6% osób chorych powyżej 20 roku życia. Zdecydowanie częściej wykrywano przeciwciała, zwłaszcza w klasie IgA i IgM, u osób w wieku 16-20 lat, a więc szczepionych ostatnio 10 - 14 lat temu. Do jednych z najciekawszych spostrzeżeń przedstawianej analizy, z punktu widzenia seroepidemiologii krztuśca, zaliczyć należy fakt dwukrotnie wyższej częstości występowania przeciwciał klasy IgM, w stosunku do przeciwciał klasy IgA, u osób w wieku 21-40 lat. Przeciwciała klasy IgM wykrywane były w surowicy osób dorosłych zazwyczaj równoległe z przeciwciałami klasy IgG, choć w dwóch przypadkach występowały jako jedyne wykrywane immunoglobuliny. Ponieważ osoby dorosłe nie podlegały

od lat szczepieniu przeciw krztuścowi, należy przyjąć, że odwrotnie niż u dzieci, wykrycie przeciwciał klasy IgM u osób dorosłych w każdym przypadku może wskazywać na ostre, aktualne zakażenie pałeczkami *B. pertussis*. Co za tym idzie, przeciwciała klasy IgM powinny być rutynowo poszukiwane testem ELISA w próbkach surowicy osób nieszczepionych lub szczepionych ostatni raz kilka czy kilkanaście lat temu. Co więcej, nawet u dzieci szczepionych stosunkowo niedawno, wykazanie diagnostycznie znamiennego przyrostu przeciwciał IgM w czasie trwania choroby może mieć znaczącą wartość diagnostyczną. Za tezę tą przemawia również fakt rzadszego od oczekiwanego występowania przeciwciał klasy IgM u dzieci aktualnie szczepionych, w wieku poniżej 1 roku życia, czy też u dzieci z grupy wieku 6-10 lat, a więc po ostatniej dawce przypominającej szczepionki przeciwkrztuścowej. Jednakże, ponieważ w prezentowanej pracy dysponowaliśmy wyłącznie wynikami badania próbek surowicy uzyskanych od osób chorych, nie było możliwe przeprowadzenie porównawczej analizy humoralnej odpowiedzi u osób chorych na krztusiec i osób zdrowych, ale szczepionych przeciwko krztuścowi.

Ciekawych obserwacji dostarczyła również analiza występowania przeciwciał w kolejnych próbkach surowicy uzyskanych od osób chorych w odstępie 2-3 tygodni. Okazało się, że aż w 11 (73,3%) przypadkach na 15 badanych (9 przypadków w klasie IgG bądź IgG+IgA i 2 przypadki w klasie IgM) wykazano diagnostycznie znamienne przyrosty swoistych przeciwciał w próbkach surowicy uzyskanych z drugiego pobrania. Na uwagę zasługuje również fakt, że u 3 badanych osób już po 2-3 tygodniach stwierdzono diagnostycznie znamienne spadki poziomu przeciwciał IgG lub IgM. Tak więc, pobieranie kolejnych, kontrolnych próbek krwi po okresie 2-3 tygodni trwania choroby wydaje się jak najbardziej zasadne, zwłaszcza jeżeli w pierwszej próbce surowicy uzyskano wynik wątpliwy. Wypada tylko żałować, że kontrolne próbki, przynajmniej w analizowanej przez nas grupie osób, były pobierane w tak nieznacznym odsetku (15 osób na 485 badanych). Wydaje się, że z powodów finansowych, jak również często z braku świadomości co do celowości wykonywania takich kontrolnych badań, w innych laboratoriach wykonujących badania serologiczne w kierunku krztuśca odsetek ten może być podobny. Sytuacja taka rodzi jednakże poważne komplikacje, jeżeli chodzi o rzetelność zgłaszania dodatnich wyników badań serologicznych. Zgodnie z przyjętymi obecnie kryteriami laboratoryjnymi w stosunku do badań serologicznych, powinny być zgłaszane jedynie przypadki wykrycia znamiennego wzrostu miana swoistych przeciwciał dla *B. pertussis* w dwóch kolejnych próbkach surowicy. Oczywiście, gdyby laboratoria rygorystycznie przestrzegały tej zasady, zgłaszalność przypadków laboratoryjnego potwierdze-

nia krztuśca, z powodu sporadycznie wykonywanych powtórnych badań kontrolnych, spadłaby radykalnie i nie odzwierciedlałaby prawdziwej sytuacji epidemiologicznej. Z drugiej strony, dbając o rzetelność tych zgłoszeń, wypada zadać pytanie, jakie kryteria przyjmują laboratoria zgłaszając przypadki serologicznego potwierdzenia krztuśca. W praktyce może zaistnieć sytuacja, że jedne laboratoria zgłaszają wykrycie przeciwciał wyłącznie klasy IgA, a inne klasy IgG bądź IgM. Jest to o tyle istotne, że w obowiązującym formularzu zgłoszenia w kierunku badania czynników biologicznych, laboratoria nie podają ani klasy ani poziomu przeciwciał wykrytych w próbce surowicy osoby chorej. Uniemożliwia to, lub co najmniej utrudnia, prawidłową weryfikację tych zgłoszeń przez osoby zatrudnione w Powiatowych Stacjach Sanitarno-Epidemiologicznych przy rejestracji przypadków chorób zakaźnych.

Przeprowadzona przez nas analiza dotyczy tylko wyników badań wykonywanych w jednym laboratorium, przy użyciu jednego z wielu dostępnych komercyjnych testów. Choć zastosowanie testu innej firmy, różniącego się czułością i swoistością w wykrywaniu przeciwciał dla toksyny krztuścowej od testu firmy NovaTec, może dać nieco odmienne odsetki wyników dodatnich, to jednak wzajemne relacje co do częstości występowania przeciwciał u osób w poszczególnych grupach wieku muszą być bardzo podobne. Wydaje się konieczne kontynuowanie badań, na reprezentatywnej i dobrze zdefiniowanej grupie osób zarówno chorych, jak i klinicznie zdrowych, w różnym wieku, w celu określenia rzeczywistej częstości występowania krztuśca w Polsce. Badania takie dałyby odpowiedź na zasadnicze pytanie, czy celowe jest wprowadzenie do kalendarza szczepień w naszym kraju kolejnej, przypominającej dawki szczepionki przeciwkrztuścowej.

PODSUMOWANIE

1. Aktualnie testem z wyboru w rutynowo prowadzonej serodiagnostyce krztuśca jest odczyn ELISA, w którym powinno oznaczać się poziom przeciwciał dla toksyny krztuścowej, we wszystkich trzech klasach immunoglobulin.
2. Interpretując wyniki testu serologicznego należy wziąć pod uwagę wiek pacjenta, czas trwania choroby, stan zaszczepienia oraz wyniki badań klinicznych.
3. O ile to możliwe, diagnostyka serologiczna krztuśca powinna być zawsze oparta na wykazaniu diagnostycznie znamiennego przyrostu przeciwciał w co najmniej dwóch próbkach surowicy uzyskanych w odstępie 2-3 tygodni.
4. W przypadku uzyskania do badań pojedynczej próbki surowicy, kiedy nie ma możliwości określenia

serokonwersji, wykrycie przeciwciał klasy IgM bądź IgG w diagnostycznie znamionym poziomie świadczy o aktualnym zakażeniu jedynie u nieszczepionych dzieci bądź też u osób, którzy ostatnią dawkę szczepionki przeciwkrtuścowej otrzymali co najmniej kilka lat temu.

5. Należy pamiętać, że obecność przeciwciał klasy IgG u nieszczepionych dzieci w wieku poniżej 6 miesięcy życia, może wynikać z przekazania przeciwciał od matki poprzez łożysko.
6. U szczepionych dzieci, z powodu podwyższonego poziomu poszczepiennych przeciwciał klasy IgM i IgG, najlepszym swoistym markerem aktualnego zakażenia pałeczką *B. pertussis* jest wykazanie znamiennej diagnostycznego poziomu immunoglobulin klasy A. Niestety, słaba produkcja przeciwciał klasy IgA u małych dzieci może być przyczyną niskiej czułości badań serologicznych przy poszukiwaniu tej klasy immunoglobulin.
7. Wysoki poziom przeciwciał dla toksyny *B. pertussis* u starszej młodzieży i osób dorosłych z objawami stanu zapalnego dróg oddechowych potwierdza obserwacje kliniczne co do częstego występowania krtuśca u osób w tych grupach wieku.

PIŚMIENNICTWO

1. http://www.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/inne/Def_PL2_Rob_1f.pdf. Definicje przypadków chorób zakaźnych na potrzeby nadzoru epidemiologicznego, 35 str.
2. Bamberger ES, Srugo I. What is new in pertussis? *Eur J Pediatr* 2008;167:133-9.
3. Sočan M, Prosenč K, Vegnuti M. Seroprevalence of IgG antibodies to pertussis toxin in the Slovene population. *Wien Klin Wochenschr* 2006;118(11-12):336-40.
4. Heininger U, Cherry JD, Stehr K. Serologic response and antibody-titer decay in adults with pertussis. *Clin Infect Dis* 2004;38:591-4.
5. Pavlopoulou ID, Syriopoulou V, Daikos GL. Pertussis seroprevalence in different age groups in Greece. *Scand J Infect Dis* 2007;39:14-18.
6. Senzilet LD, Halperin S.A., Spika JS. Pertussis is a frequent cause of prolonged cough illness in adults and adolescents. *Clin Infect Dis* 2001; 32:1691-7.
7. Gzyl A, Augustynowicz E, Rabcezenko D, i in. Pertussis in Poland. *Int J Epidemiol* 2004;33:358-65.
8. Lutsar I, Anca I, Bakir M, i in. Epidemiological characteristics of pertussis in Estonia, Lithuania, Romania, the Czech Republic, Poland and Turkey –1945 to 2005. *Eur J Pediatr* 2009;168:407-15.
9. Wilder-Smith A, Ng S, Earnest A. Seroepidemiology of pertussis in adult population of Singapore. *Ann Acad Med Singapore* 2006;35:780-2.
10. Hashemi SH, Ranjbar M, Hajilooi M, i in. Seroprevalence of immunoglobulin G antibodies against pertussis toxin among asymptomatic medical students in the west of Iran: a cross sectional study. *BMC Infect Dis* 2009;9:58.
11. Diez-Domingo J, Ballester A, Baldó JM. Incidence of pertussis in persons ≤ 15 years of age in Valencia, Spain: seroprevalence of antibodies to pertussis toxin (PT) in children, adolescent and adults. *J Infect* 2004;49:242-7.
12. Friedman R. Pertussis: the disease and new diagnostic methods. *Clin Microbiol Rev* 1988; 4: 365-76.
13. Wirsing von König C, Gounis D, Laukamp S, i in. Evaluation of a single –sample serological technique for diagnosing pertussis in unvaccinated children. *Eur J Clin Infect Dis* 1999; 18:341-5.
14. Kuklińska D, Chodorowska M. Bakteriologiczna i serologiczna diagnostyka krtuśca. Warszawa: PZH 1994.
15. Mertens PLJM, Stals FS, Steyerberg EW, Richardus JH. Sensitivity and specificity of single IgA and IgG antibody concentrations for early diagnosis of pertussis in adults: an evaluation for outbreak management in public health practice. *BMC Infect Dis* 2007;7:53
16. Nagel J, de Graaf S, Schijf-Evers D. Improved serodiagnosis of whooping cough caused by *Bordetella pertussis* by determination of IgG anti-LPF antibody levels. *Dev Biol Stand* 1985; 61:325-30.
17. Chodorowska M. Humoralna odpowiedź na antygeny pałeczki *Bordetella pertussis*: toksynę krtuścową, włóknkową hemaglutyninę i lipopolisacharyd u dzieci z klinicznymi objawami krtuśca. Praca doktorska. PZH, 1998.
18. Wendelboe AM, Van Rie A, Salmaso S, Englund J. Duration of immunity against pertussis after natural infection or vaccination. *Pediatr Infect Dis J* 2005; 24:58-61.
19. Kapaskelis AM, Vouloumanou EK, Rafailidis PI, i in. High prevalence of antibody titers against *Bordetella pertussis* in adult population with prolonged cough. *Resp Med* 2008;102:1586-91.
20. Van der Wielen M, Van Damme P, Van Herck K, i in. Seroprevalence of *Bordetella pertussis* antibodies in Flanders (Belgium). *Vaccine* 2003; 21:2412-17.
21. Konda T, Kamachi K, Iwaki M, Matsunaga Y. Distribution of pertussis antibodies among different age groups in Japan. *Vaccine* 2002; 20: 1711-17.

Otrzymano: 14.07.2009 r.

Zaakceptowano do druku: 24.08.2009 r.

Adres do korespondencji:

Doc. dr hab. Waldemar Rastawicki

Zakład Bakteriologii

Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego

-Państwowy Zakład Higieny

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

e-mail: wrastawicki@pzh.gov.pl, tel. +48 22 5421325