

Alicja Sobolewska, Elżbieta Gołąb, Tadeusz H. Dzbeński

SEROLOGICZNA OCENA WYSTĘPOWANIA ZAKAŻEŃ *PNEUMOCYSTIS JIROVECI* U DZIECI Z CHOROBYMI DRÓG ODDECHOWYCH W POLSCE

SEROLOGICAL EVALUATION OF THE PREVALENCE OF *PNEUMOCYSTIS JIROVECI* INFECTION IN CHILDREN WITH RESPIRATORY TRACT INFECTIONS IN POLAND

Zakład Parazytologii Lekarskiej Narodowego Instytutu Zdrowia Publicznego-PZH

STRESZCZENIE

Zbadano w kierunku pneumocystozy próbki surowic, które zebrano w okresie lat 1998 – 2008 od 5223 dzieci z objawami chorobowymi ze strony dróg oddechowych. Badania przeprowadzono za pomocą odczynu immunofluorescencji pośredniej określając obecność swoistych przeciwciał klasy G i M. Przeciwciała przeciw *Pneumocystis* wykryto u 68,7% dzieci, w tym przeciwciała klasy G u 68,49% zbadanych, a przeciwciała klasy M u 2,85%. Najwyższe odsetki wyników dodatnich na przeciwciała klasy M i G wykazano odpowiednio u dzieci w pierwszym półroczu życia (4,17%) i drugim półroczu życia (73%). Wyniki przeprowadzonych badań wskazują na rozprzestrzenienie pneumocystozy wśród dzieci z objawami ze strony dróg oddechowych w stopniu zbliżonym do opisanego przez autorów zagranicznych u zdrowych, immunokompetentnych dzieci.

Słowa kluczowe: *pneumocystozowe zapalenie płuc (PCP), pneumocystoza, Pneumocystis jirovecii, przeciwciała*

ABSTRACT

In the years 1998 – 2008 there were examined for pneumocystosis serum samples collected from 5223 children with respiratory tract infections, aged up to 10 years. The examinations were carried out for the presence of specific IgG and IgM antibodies with an indirect immunofluorescent antibody test. Specific anti-*Pneumocystis* antibodies were detected in 68,7% of the examined children, including 68,49% with IgG and 2,85% with IgM antibodies. The highest percentages of IgM and IgG positive samples were encountered, respectively, in children aged up to 6 months (4,17%) and in those in the second half of the first year of life. The results of the examinations indicated that in Poland the prevalence of pneumocystosis in children with symptoms of respiratory tract infection is similar to that described by foreign authors for healthy, immunocompetent children.

Key words: *Pneumocystis pneumonia, pneumocystosis, Pneumocystis jirovecii, antibodies*

WSTĘP

Pneumocystis jirovecii jest patogenem oportunistycznym powodującym pneumocystozowe zapalenie płuc (PCP) głównie wśród osób z obniżoną odpornością, w tym u pacjentów z AIDS, z wrodzonymi niedoborami odporności, wśród wcześniaków i niemowląt, zwłaszcza w okresie fizjologicznego spadku odporności oraz u osób poddanych leczeniu środkami immunosupresyjnymi. Pomimo wieloletnich prac nad sposobem szerzenia się infekcji, które prowadzono z wykorzystaniem najnowszych technik badawczych, epidemiologia pneumocystozy nie została w pełni poznana. Badania seroepidemiologiczne wykazały, że do zakażenia *Pneumocystis* dochodzi niejednokrotnie już we wczesnym dzieciństwie (1), przy czym zakażeniu ulegają często

immunokompetentne dzieci, które nie wykazują wprawdzie objawów chorobowych, stanowią jednak rezerwuuar *Pneumocystis* dla lokalnych społeczności (2). Przyjmuje się, że *Pneumocystis* rozprzestrzenia się drogą powietrzną, w tym za pomocą hipotetycznej formy wolno żyjącej (3), wykazano ponadto możliwość przezłożyskowego przenoszenia zakażenia z matki na płód (4). Przytoczone informacje o występowaniu i szerzeniu się pneumocystozy pochodzą z badań wykonanych poza granicami naszego kraju, w różnych regionach świata. Ponieważ w Polsce brak danych dotyczących rozprzestrzenienia zakażenia *Pneumocystis* wśród dzieci, Zakład Parazytologii Lekarskiej NIZP-PZH postanowił sprawdzić jak często zakażenia te występują u dzieci z objawami ostrej infekcji układu oddechowego.

MATEIAŁ I METODY

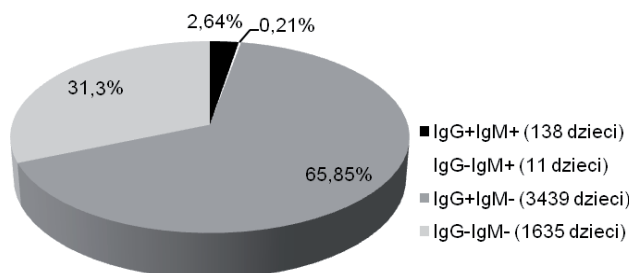
Przeprowadzono analizę wyników badań serologicznych dzieci z objawami infekcji dróg oddechowych na obecność przeciwciał klasy M i G przeciwko *Pneumocystis jirovecii*. Badania 5223 dzieci do 10 roku życia, pochodzących z różnych rejonów Polski, wykonano w Zakładzie Parazytologii Lekarskiej NIZP-PZH w latach 1998-2008 wykorzystując jednorazowo pobrane próbki krwi. Dla potrzeb niniejszej pracy wyodrębniono 5 grup wiekowych dzieci: 0-6 m-cy życia (I), 7-12 m-cy (II), 13-24 m-cy (III), 25-36 m-cy (IV) i 37 m-cy - 10 rok życia (V). Liczba dzieci w poszczególnych grupach wiekowych wynosiła: w I grupie - 1918, w II grupie - 932, w III grupie - 654, w IV grupie - 377 oraz w V grupie - 1342.

Badania serologiczne przeprowadzone były za pomocą immunofluorescencji pośredniej z użyciem skrawków mikrotomowych płuca zakażonego *Pneumocystis jirovecii* jako antygeny (5). Jako koniugatu użyto znakowanej fluoresceiną koziej surowicy odpornościowej przeciwko ludzkim immunoglobulinom G lub M. Kontrolę stanowiły surowice dodatnie (w klasie G i M) uzyskane od osób z PCP, natomiast kontrolą ujemną były surowice osób zdrowych nie wykazujących obecności przeciwciał pneumocystozowych. Preparaty oceniano w mikroskopie fluorescencyjnym Reicherta przy użyciu lampy HBO 200 jako źródła promieni UV.

Do analizy statystycznej zastosowano test t-Studenta, przyjmując, że istotne różnice statystyczne między porównywanymi grupami występują wówczas, jeżeli $p < 0,05$, natomiast nieistotne dla $p > 0,1$.

WYNIKI

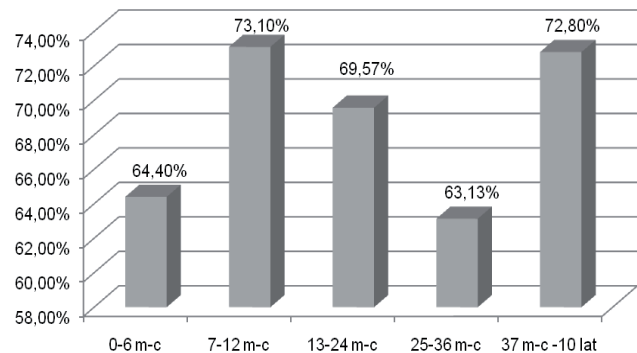
Przeciwciała przeciwko *Pneumocystis* wykryto u 3588 dzieci (68,7%) spośród 5223 ogółu zbadanych, w tym przeciwciała klasy M świadczące o aktywnej infekcji *Pneumocystis* u 149 (2,85%), a klasy G u 3577



Ryc. 1. Wyniki badań serologicznych w kierunku pneumocystozy u dzieci do 10 roku życia z chorobami dróg oddechowych

Fig. 1. Results of serological examination for pneumocystosis in children with respiratory tract infections aged up to 10 years

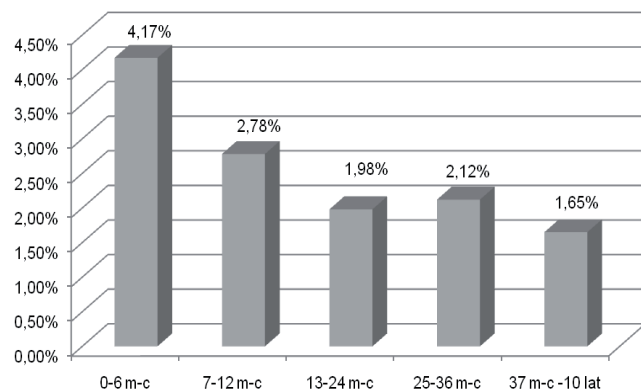
(68,49%) dzieci (ryc.1). Odsetek dzieci zakażonych w poszczególnych grupach wiekowych wynosił odpowiednio 64,4% (I), 73,1% (II), 69,57% (III), 63,13 (IV), 72,8% (V) (ryc.2).



Ryc. 2. Odsetek dzieci zakażonych *Pneumocystis jirovecii* w badanych grupach wieku

Fig. 2. Percentage of children infected with *Pneumocystis jirovecii* by age - groups

Przeciwciała klasy M występowały we wszystkich grupach wieku. Największy odsetek (4,17%) wyników dodatnich dla przeciwciał klasy IgM wykazano u dzieci w pierwszym półroczu życia (grupa I), natomiast najmniejszy stwierdzono w grupie między 37 miesiącem a 10 rokiem życia, gdzie wśród 1342 dzieci u 22 (1,65%) wykazano obecność przeciwciał klasy M (grupa V) (ryc.3).



Ryc. 3. Występowanie przeciwciał klasy M przeciw *Pneumocystis jirovecii* u dzieci z chorobami dróg oddechowych

Fig. 3. Anti-*Pneumocystis* IgM antibodies in children with respiratory tract infections

Posługując się testem t-Studenta nie stwierdzono różnic istotnych statystycznie ($p=1,742$) między odsetkiem dzieci zakażonych w wieku 7-12 miesięcy (II) i 25-36 miesięcy (IV), w których to grupach wykazano największy i najmniejszy odsetek dzieci zakażonych *Pneumocystis jirovecii*.

DYSKUSJA

Jak dotychczas nie udało się jednoznacznie stwierdzić charakterystycznych objawów towarzyszących pierwotnemu zakażeniu *Pneumocystis* u dzieci. Ponadto badania serologiczne wykazujące obecność swoistych przeciwciał skierowanych przeciwko *Pneumocystis* w populacji dzieci zdrowych wskazują, że zakażenia mogą przebiegać bezobjawowo (2). W przypadkach objawowych zakażenia częściej występują objawy ze strony górnych aniżeli dolnych dróg oddechowych. Przy diagnozowaniu pneumocystozy u noworodków lub małych dzieci w Polsce materiałem do badań są najczęściej próbki krwi, w których poszukuje się swoistych przeciwciał. Wykrywanie przeciwciał klasy G ma ograniczoną przydatność w rozpoznawaniu przypadków aktywnej pneumocystozy. Obecność tylko przeciwciał klasy G przemawia za odleglejszym kontaktem z antygenem pasożyta, ponieważ przeciwciała tej klasy utrzymują się w krążeniu zarażonej osoby wiele miesięcy.

U noworodka przeciwciała klasy G mogą być przeniesione biernie przez łożysko, ich obecność nie musi zatem dowodzić inwazji, natomiast obecność swoistych IgM w surowicy dziecka lub dorosłego świadczy o aktywnym zakażeniu *Pneumocystis*. W przeprowadzonych badaniach przeciwciała przeciwko *Pneumocystis* wykryto u 68,7% badanych, natomiast swoiste IgM wykryto u 149 (2,85%) dzieci z objawami ze strony układu oddechowego, przy czym największy odsetek 4,17% występował wśród dzieci do 6 miesiąca życia. Podobne wyniki, aczkolwiek na podstawie badania mniej licznego materiału, uzyskali wcześniej Gołąb i wsp. (6) stwierdzając występowanie przeciwciał przeciwko *Pneumocystis* u 70,4% niemowląt z infekcjami układu oddechowego w wieku od 10 do 24 tygodnia, natomiast swoiste IgM u 4,6% w tej grupie badanych dzieci. Obecność przeciwciał stwierdzono też u 44% zdrowych dzieci z grupy kontrolnej, w wieku od 2 do 12 miesięcy (6). Prócz powyższego wykryto DNA *Pneumocystis jirovecii* u 5 (10,4%) ze zbadanych 49 immunokompetentnych dzieci z Warszawy, w wieku od 1 do 6 roku życia (średnia 4 lata), z infekcjami górnych dróg oddechowych (7). Dla porównania, Pifer i wsp. (1) wykryli swoiste IgG u jednej trzeciej spośród 19 zbadanych zdrowych dzieci w przedziale wiekowym 4-6 miesięcy. Wymienieni autorzy donoszą, że średnio 75% dzieci przebywa zakażenie *Pneumocystis* przed ukończeniem 4 roku życia. Natomiast badania serologiczne przeprowadzone w Chile w 2001 roku przez Vargasa i wsp. wśród zdrowych niemowląt wykazały serokonwersję aż u 85% zbadanych przed ukończeniem 20 miesięcy życia. O szerokim rozpowszechnieniu *Pneumocystis* wśród immunokompetentnych niemowląt

świadczyć może również obecność grzyba w płucach 51,7% dzieci zmarłych w sposób nagły (8).

WNIOSKI

Ponieważ wyniki przeprowadzonych przez nas badań wskazują na rozprzestrzenianie pneumocystozy wśród dzieci z objawami ze strony dróg oddechowych w stopniu zbliżonym do opisanego przez autorów zagranicznych u zdrowych, immunokompetentnych dzieci, można zatem wyciągnąć na tej podstawie wniosek analogiczny do sformułowanego przez tych autorów – populacja dziecięca wykazująca wysoki odsetek zakażonych mogą stanowić rezerwuuar *Pneumocystis* dla całej populacji w Polsce.

PIŚMIENNICTWO

1. Pifer LL, Huges WT, Stagno S, et al. *Pneumocystis carinii* infection: evidence for high prevalence in normal and immunosuppressed children. *Pediatrics* 1978; 61(1):35-41.
2. Vargas SL, Hughes WT, Santolaya ME, et al. Search for primary infection by *Pneumocystis carinii* in a cohort of normal, healthy infants. *Clin Infect Dis* 2001; 32:855-61.
3. Wakefield AE. Detection of DNA sequences identical to *Pneumocystis carinii* in samples of ambient air. *J Eukaryot Microbiol* 1994; 41:116S.
4. Montes-Cano MA, Chabe M, Fontillon-Alberdi M, et al. Vertical transmission of *Pneumocystis jirovecii* in humans. *Emerg Infect Dis* 2009; 15 (1):125-127.
5. Nowosławski A, Brzosko W. Indirect immunofluorescent test for serodiagnosis of *Pneumocystis carinii* infection. *Bulletin de L'Academie Polonaise des Science* 1964; 12:143-147.
6. Gołąb E, Sobolewska A, Matysiak E. Występowanie DNA *Pneumocystis carinii* i przeciwciał pneumocystozowych w surowicach niemowląt w okresie fizjologicznego spadku odporności. *Wiad Parazyt* 2002; 48(3): 287-292.
7. Gołąb E, Sadkowska-Todys M, Szkoda MT, i in. The occurrence of *Pneumocystis jirovecii* in people from three different age groups of Warsaw (Poland). *Acta Parasitol* 2008; 53:106-9.
8. Vargas S, Ponce CA, Luchsinger V, et al. Detection of *Pneumocystis carinii* f. sp. *hominis* and viruses in presumably immunocompetent infants who died in the hospital or in the community. *J Infect Dis* 2005; 191(1):122-126.

Otrzymano: 18.05.2009 r.

Zaakceptowano do druku: 28.05.2009 r.

Adres do korespondencji:

dr n. med. Alicja Sobolewska

Zakład Parazytologii Lekarskiej NIZP-PZH

ul. Chocimska 24, 00-791 Warszawa

tel. (22) 54-21-220

e-mail: asobolewska@pzh.gov.pl