

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

SŁAWOMIR SŁABISZ

DIAGNOSTYKA SYDROMICZNA W WYBRANYCH ZAKAŻENIACH UKŁADOWYCH

SYNDROMIC DIAGNOSIS IN THE SELECTED SYSTEMIC INFECTIONS

ORCID: 0000-0002-8499-3657

STRESZCZENIE: Zakażenia układu pokarmowego, oddechowego oraz centralnego układu nerwowego charakteryzują się odmienną specyfiką patogenów wywołujących te infekcje. Duża różnorodność prawdopodobnych drobnoustrojów stwarza wyzwanie dla procesu diagnostycznego, który powinien być możliwie jak najszybszy i najdokładniejszy. Kluczową rolę w podjęciu optymalnych decyzji terapeutycznych odgrywa czas uzyskania wyniku badania mikrobiologicznego. Zbyt długi czas uzyskania wyniku bądź błędna diagnoza może przekładać się bezpośrednio na zwiększenie śmiertelności i wydłużenie rekonwalescencji pacjenta, wynikających z niewłaściwego bądź opóźnionego wdrożenia leczenia przeciwdrobnoustrojowego. Pomimo iż w rutynowej diagnostyce mikrobiologicznej konwencjonalna hodowla pozostaje dalej złotym standardem, coraz większe znaczenie mają nowoczesne systemy paneli syndromicznych, tzw. „Syndromic Testing”, bazujące na różnych technikach genetycznych (np. PCR, multiplex PCR, LAMP). Panele te umożliwiają identyfikację szerokiego zakresu patogenów oraz pozwalają na wykrycie genów determinujących oporność na antybiotyki. W zależności od specyfiki infekcji specjaliści mają do dyspozycji różne panele diagnostyczne, jak: panel oddechowy, panel gastroenterologiczny oraz panel zakażenia centralnego układu nerwowego (CUN) i zakażenia mózgu. Materiałem do badania w diagnostyce tych zakażeń są najczęściej płwocina, popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe, aspirat tchawiczy, próbki kału oraz płyn mózgowo-rdzeniowy. Dzięki zastosowaniu nowoczesnych metod biologii molekularnej czas uzyskania takiego wyniku wynosi od 45 min. do 2h. Testowanie syndromiczne skraca znacznie czas uzyskania wyniku czynnika etiologicznego infekcji, co pozwala na szybszą reakcję personelu medycznego, a tym samym szybszą eskalację lub deeskalację wdrożonej terapii empirycznej. W praktyce odpowiednio zastosowany i zinterpretowany wynik panelu syndromicznego pozwala uzyskać lepsze efekty kliniczne oraz ekonomiczne leczenia zakażeń.

SŁOWA KLUCZOWE: diagnostyka molekularna, diagnostyka zakażeń centralnego układu nerwowego, układu oddechowego oraz układu pokarmowego, panele syndromiczne, zakażenia mózgu

ABSTRACT: Infections of the digestive, respiratory and central nervous systems are characterized by a different specificity of the pathogens causing these infections. The great diversity of these infections presents a challenge for the diagnostic process, which should be as quick and accurate as possible. The time of obtaining the microbiological test results plays a key role in establishing optimal therapeutic decisions. Excessive time to obtain the results, or an incorrect diagnosis may contribute to an increase in mortality and prolonged convalescence of the patient, resulting from inappropriate or delayed implementation of antimicrobial treatment. Although conventional culture remains the gold standard in routine microbiological diagnostics, modern syndromic panel systems, also referred to as “Syndromic Testing” based on various genetic techniques (e.g. PCR, multiplex PCR, LAMP) are increasingly important. These

Laboratorium Mikrobiologiczne i Analiz Medycznych LABO,
ul. Paderewskiego 4j, 56-400 Oleśnica,
e-mail: kontakt@labo-olesnica.pl

Wpłynęło: 03.10.2022

Zaakceptowano: 14.10.2022

DOI: dx.doi.org/10.15374/FZ2022025

- ! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

panels facilitate the identification of a wide range of pathogens and allow for the detection of genes which determine antibiotic resistance. Depending on the specificity of the infection, different diagnostic panels are available, such as respiratory panel, gastroenterological panel, central nervous system (CNS) infection and brain infections panel. The test material is usually sputum, alveolar-bronchial lavage, tracheal aspirate, stool samples and cerebrospinal fluid. Using modern methods of molecular biology, the time to obtain such a result ranges from 45 minutes to 2 hours. Syndromic testing significantly shortens the time to obtain the result of the etiological agent of infection, allowing a quicker response of medical professionals, and thus faster escalation or de-escalation of the implemented empirical therapy. In practice, properly applied and interpreted syndromic panel results facilitates better clinical as well as economic outcomes of the treatment.

KEY WORDS: brain infections, diagnostics of respiratory, digestive and central nervous system infections, molecular diagnostics, syndromic panels

WSTĘP

Rozwój technologii w dziedzinie molekularnej diagnostyki laboratoryjnej prowadzi do coraz nowszych rozwiązań w diagnostyce mikrobiologicznej infekcji układowych. Jednym z takich rozwiązań jest tzw. Syndromic Testing – diagnostyka objawowa wykorzystująca multipleksowe panele molekularne pozwalające na identyfikację większej ilości patogenów w jednej próbce oraz określenie ich mechanizmów oporności. Nowatorskie podejście do szybkiej diagnostyki w dodatnich hodowlach krwi, wydzielin z dolnego układu oddechowego, kału czy zakażeniach płynu mózgowo-rdzeniowego może znacznie usprawnić proces podejmowania decyzji klinicznych oraz zoptymalizować samą antybiotykoterapię. Szybciej uzyskany wynik umożliwi wcześniejszą decyzję dotyczącą dalszego postępowania klinicznego, np. przyjęcie do szpitala, izolacja i leczenie przeciwdrobnoustrojowe lub jego brak. Wszystko to przekłada się na dobro samego pacjenta, zwiększając jego szanse na szybszą rekonwalescencję [4, 24]. Wskutek stale rosnącej lekooporności istnieje potrzeba wprowadzania nowych leków przeciwdrobnoustrojowych. Niestety szybkość, z jaką pojawiają się szczepy wielolekooporne, jest wyższa w stosunku do aktualnie prowadzonych badań nad nowymi lekami przeciwdrobnoustrojowymi. Proces diagnostyki mikrobiologicznej chorób zakaźnych jest bezpośrednio związany ze schematem leczenia. Szybszy czas uzyskania wyniku przekłada się bezpośrednio na krótszy czas stosowania leków przeciwdrobnoustrojowych o szerokim spektrum działania i zwiększenie szansy na sukces terapeutyczny [22].

Tradycyjne metody diagnostyki infekcji opierające się na hodowli i identyfikacji z wykorzystaniem metod biochemicznych mogą potrwać nawet kilka dni, zanim uzyska się precyzyjny wynik sugerujący schemat leczenia. W tym miejscu z pomocą mogą przyjść nowoczesne panele multiplex PCR (mPCR), tzw. „Syndromic Testing”, skracając znacznie czas do uzyskania wyniku [4].

Multiplex PCR zastosowany w panelach pozwala na kompleksową identyfikację prawdopodobnych grup patogenów mogących wywoływać dane objawy chorobowe w jednym szybkim teście. Jednak panele syndromiczne są często bardzo drogie i wymagają odpowiedniej interpretacji, dlatego też konieczne jest wprowadzanie nowych strategii diagnostycznych [15].

ZAKAŻENIE DOLNYCH I GÓRNYCH DRÓG ODDECHOWYCH

Biorąc pod uwagę duże obciążenie układu oddechowego wirusowymi oraz bakteryjnymi infekcjami, panele syndromiczne mogą w szybki sposób zidentyfikować i odróżnić infekcję bakteryjną od wirusowej, co w znaczny sposób może zoptymalizować i ograniczyć stosowanie leków przeciwdrobnoustrojowych o szerokim spektrum działania [10, 25]. W przypadku górnych dróg oddechowych próbkę badaną może stanowić wymaz z nosogardzieli, a w przypadku materiałów z dolnych dróg oddechowych odpowiednio płwocina oraz popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe [22]. W panelach oddechowych tylko dla grypy, RSV i adenowirusa możliwa jest dedykowana terapia przeciwdrobnoustrojowa. W praktyce jednak wykrycie innych wirusów może przynieść wymierne korzyści dla pacjenta, poprzez wykluczenie etiologii bakteryjnej, i tym samym rezygnację z wdrożenia niepotrzebnej antybiotykoterapii [4].

W retrospektywnym badaniu kohortowym Rappo i wsp. porównano czas wykonania testu i wyniki leczenia 337 dorosłych pacjentów badanych w izbie przyjęć w kierunku infekcji górnych dróg oddechowych. Próbkę została poddana badaniu konwencjonalną metodą PCR oraz z zastosowaniem panelu oddechowego metodą mPCR. Zaobserwowano istotnie krótszy czas uzyskania wyniku dla pacjentów z gripą (1,7h mPCR do 7,5h PCR metodą konwencjonalną) oraz dla pacjentów, u których nie doszło do zakażenia wirusem

- ! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

grypy (1,5h mPCR wobec 13,5h PCR metodą konwencjonalną). Autorzy nie znaleźli różnicy między analizowanymi grupami w odniesieniu do wewnątrzszpitalnego stosowania antybiotyków wśród pacjentów z pozytywnym wynikiem testu na obecność jakiegokolwiek wirusa. W badaniu z zastosowanym mPCR uwzględniającym wiele czynników, takich jak wiek, płeć i ogólny stan zdrowia pacjentów, u których zdiagnozowano grypę, Rappo i wsp. stwierdzili krótszy czas pobytu w szpitalu, krótszy czas stosowania leków przeciwdrobnoustrojowych oraz mniejszą liczbę zdjęć RTG klatki piersiowej, w porównaniu z konwencjonalną metodą detekcji patogenów [17]. W podobnym badaniu Rogers i wsp. wykazali zbliżone wyniki. Badaniu poddano 1136 pacjentów pediatrycznych, u których zdiagnozowano wirusową infekcję górnych dróg oddechowych za pomocą mPCR, w porównaniu z konwencjonalnym testem PCR. Znacznemu skróceniu uległ czas potrzebny do uzyskania wyniku. Przy zastosowaniu testowania syndromicznego metodą mPCR wyniki uzyskano średnio w ciągu 383 min., w porównaniu z czasem 1119 min. przy konwencjonalnym teście PCR. Pacjenci częściej otrzymywali wyniki podczas ich pobytu w Oddziale Ratunkowym, jednak długość pobytu w szpitalu i stosowanie antybiotyków było podobne w obu grupach. Zaletą zastosowania panelu syndromicznego okazało się zmniejszenie liczby przypadków, dla których zbędne okazałoby się zastosowanie antybiotyków o szerokim spektrum działania [18].

W diagnostyce zakażeń dolnych dróg oddechowych istnieje możliwość zastosowania panelu oddechowego PneumoniaPlus (PN+) firmy Biomérieux, który oprócz identyfikacji dużej ilości patogenów, daje możliwość wykrycia obecności genów oporności na antybiotyki. W badaniu wykonanym przez Buchan i wsp. oceniono różnice w zastosowaniu panelu oddechowego PneumoniaPlus metodą mPCR na aparacie Biofire® z konwencjonalną metodą hodowli bakteryjnej z popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych pobranych od 259 dorosłych pacjentów. Uzyskano 96,2% zgodności z dodatnią, konwencjonalną metodą hodowli bakteryjnej oraz 98,1% zgodności z ujemną hodowlą. W wyniku przeprowadzonego badania stwierdzono, iż użycie panelu oddechowego z użyciem metody mPCR pozwoliło na wcześniejsze włączenie bądź zmianę antybiotyku u 70,7% badanych oraz deeskalację bądź przerwanie leczenia u 48,2%. Zastosowanie takiej metody diagnostycznej pozwoliło skrócić czas stosowania antybiotyku średnio o 6,2 dnia na pacjenta [3].

W innym badaniu Lee i wsp. ocenili zastosowanie panelu oddechowego PneumoniaPlus w prospektywnym badaniu 51 pacjentów, u których pobrano do badania aspirat tchawiczy bądź popłuczyny oskrzelowo-pęcherzykowe. Ogólna zgodność pomiędzy metodami wyniosła 79%, przy czym 90% zgodności dla hodowli dodatnich oraz 97,4% dla hodowli ujemnych – wyniki uzyskane dla metody jakościowej

mPCR. Przy wykorzystaniu metody ilościowej mPCR procent ten był znacznie niższy, odpowiednio 53,6% dla próbek z posiewem dodatnim i 86,3% dla hodowli ujemnych. Zaobserwowane różnice wynikają prawdopodobnie z amplifikacji materiału genetycznego, a nie detekcji organizmów. Panel syndromiczny wykrył znacznie większą liczbę wirusów oraz koinfekcje u 42,3% pacjentów. Test mPCR pozwolił na wykrycie u 7 pacjentów (24,1%) bakterii, które nie zostały zidentyfikowane poprzez prowadzenie rutynowej hodowli, jednak u 18 pacjentów (30,5%) wyhodowano drobnoustroje, które nie były zawarte w panelu oddechowym. Znaczące rozbieżności były także odnotowane w identyfikacji genów oporności na antybiotyki przez mPCR z konwencjonalną metodą badania lekowrażliwości. Autorzy oszacowali, że identyfikacja z użyciem panelu oddechowego pod tym kątem mogła doprowadzić do deeskalacji antybiotyków zastosowanych empirycznie u 27,1% pacjentów, eskalacji u 13,6% pacjentów i bez zmian u 55,9% pacjentów. W przeprowadzonym badaniu ustalono, że najkorzystniejsze okazało się zastosowanie syndromicznego panelu oddechowego dla pacjentów na wczesnym etapie choroby, gdyż szybko otrzymane wyniki miały wpływ na empiryczne decyzje terapeutyczne [11].

Przedstawione dane wskazują na różne czynniki i ograniczenia w diagnostyce syndromicznej dolnych dróg oddechowych. Otrzymane dane jakościowe i ilościowe gwarantują większą dokładność w interpretacji wyników. Podczas tworzenia planu terapii przeciwdrobnoustrojowej klinicyści powinni zatem interpretować jednocześnie wyniki uzyskane z paneli syndromicznych mPCR oraz końcowe wyniki hodowli. Hodowla bakterii typowych, wywołujących zakażenia dróg oddechowych jest uważana w dalszym ciągu za złoty standard, istnieje jednak wiele czynników, które przyczyniają się do jej ograniczeń, m.in. wcześniejsza ekspozycja na antybiotyki, słaby wzrost drobnoustrojów wymagających oraz subiektywna ocena wzrostu bakterii na podłożach. Ze względu na to, że rodzaj próbki jest ograniczony do płwociny, aspiratu tchawicznego oraz popłuczyn oskrzelowo-pęcherzykowych, może być uzasadnione, aby szpitale wykorzystywały tę technologię do takich oddziałów, jak pulmonologia oraz intensywna terapia [4, 19].

ZAKAŻENIA UKŁADU POKARMOWEGO

Zastosowanie paneli syndromicznych w zakażeniach układu pokarmowego umożliwia jednocześnie i szybkie diagnozowanie zakażeń pochodzenia bakteryjnego, wirusowego i pasożytniczego. W samych Stanach Zjednoczonych dochodzi do 48 milionów zakażeń układu pokarmowego wywołujących biegunkę oraz 3000 zgonów rocznie. Światowa Organizacja Gastroenterologiczna szacuje, że rocznie dochodzi do 2 miliardów zakażeń układu pokarmowego na

- ! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

całym świecie, prowadząc tym samym nawet do 1,9 miliona zgonów wśród dzieci poniżej 5. roku życia [5, 6]. Diagnostyka molekularna umożliwia szybsze i bardziej precyzyjne leczenie pacjentów z biegunką zakaźną, co przekłada się na skuteczniejsze łagodzenie jej objawów i ograniczenie dalszej transmisji zakażenia. Patogeny powodujące zakażenie układu pokarmowego mogą być przenoszone przez zanieczyszczone źródła wody, kontakt z osobą zarażoną czy niewłaściwie przygotowaną żywność. Postępująca globalizacja dystrybucji żywności wymaga zapewnienia restrykcyjnego poziomu bezpieczeństwa mikrobiologicznego produktów, a bez odpowiedniego nadzoru może stanowić niebezpieczne źródło transmisji patogenów. Tradycyjne metody diagnostyczne, jak hodowla, wykrywanie antygeny czy pojedyncze testy PCR, sprawiają, że czas otrzymania konkretnej diagnozy wydłuża się i może wymagać kilku próbek stolca, aby zapewnić odpowiedni poziom czułości badania [12]. Syndromiczne metody molekularne umożliwiają szybszą oraz kompleksową diagnostykę czynników etiologicznych i koinfekcji takich zakażeń, co ma kluczowe znaczenie w podjęciu decyzji o sposobie leczenia [6]. Często w rutynowej diagnostyce dochodzi do generowania większej liczby pojedynczych zleceń na testy, co w końcowym rozrachunku może być porównywalne pod względem finansowym do zastosowania jednego, szerokiego panelu syndromicznego [4]. Beal i wsp. przeprowadzili badanie na 241 próbkach kału od pacjentów z biegunką z zastosowaniem panelu syndromicznego, oraz 594 próbkach z zastosowaniem konwencjonalnych metod. Zaobserwowali krótszy czas uzyskania wyniku oraz dokładniejszą identyfikację czynników zakaźnych. W badaniach wykluczono diagnostykę *Clostridioides difficile*. W trakcie badania okazało się, że pacjenci badani metodą mPCR uzyskiwali wyniki szybciej – 8,94h wobec 54,75h, oraz zmniejszeniu uległa częstotliwość badania USG, a średnia długość pobytu w szpitalu zmniejszyła się o 0,5 dnia. Krótszy czas pobytu przekłada się bezpośrednio na zmniejszenie kosztów leczenia wynikających z wykonywania badań obrazowych, zastosowania leków przeciwdrobnoustrojowych i innych badań diagnostycznych. W trakcie badania ustalono także, iż zwiększeniu uległa liczba istotnych klinicznie patogenów, które udało się wykryć [2]. Axelrad i wsp. potwierdzili te wyniki podczas badania grupy 1533 pacjentów z biegunką zakaźną. Do badań zastosowano konwencjonalną diagnostykę oraz panel gastroenterologiczny, w którym stosowana jest molekularna technika detekcji czynnika chorobotwórczego metodą mPCR. Procent pozytywnych wyników wzrósł z 4,1% do 29,2%, ponadto pacjenci badani metodą mPCR byli rzadziej poddawani badaniu endoskopowemu oraz rzadziej przepisywano im antybiotyki o szerokim spektrum działania. Wdrażając panele syndromiczne do rutynowej szpitalnej diagnostyki infekcji żołądkowo-jelitowych, należy zachować ostrożność, ze względu na wysokie koszty takiej diagnostyki i możliwość tańszego

wykrycia niektórych patogenów jelitowych konwencjonalną metodą diagnostyczną. Przy zastosowaniu paneli mPCR należy zwrócić uwagę na trudności w odróżnieniu patogenów istotnych klinicznie od tych, które nie wywołują w danym momencie objawów. Jest mało prawdopodobne, aby pacjenci o łagodnym przebiegu infekcji wymagali zastosowania tak szerokich paneli gastroenterologicznych. Osoby te zwykle wymagają umiarkowanej opieki szpitalnej, bez prowadzenia kosztochłonnej diagnostyki mikrobiologicznej [1]. Beal i wsp., przeprowadzając badanie wśród 2431 pacjentów, stwierdzili, że większość z nich nie miałaby ostatecznej diagnozy w przypadku zastosowania konwencjonalnej diagnostyki, którą udało się jednak postawić z zastosowaniem szerokich paneli syndromicznych. Może to prowadzić do pytania, czy taka diagnostyka jest zawsze opłacalna, zwłaszcza że większość z tych infekcji nie wymagała żadnych środków farmakologicznych, a jedynie leczenia objawowego, poza opieką szpitalną. Ponadto pacjenci, u których wystąpiła biegunka po 72h od przyjęcia do szpitala, mieli największe prawdopodobieństwo infekcji *C. difficile* – które można w prosty sposób zdiagnozować testem na obecność antygeny, unikając tym samym zastosowania drogiego panelu mPCR [2].

ZAKAŻENIA OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO

Diagnostyka infekcji centralnego układu nerwowego (CUN) za pomocą paneli syndromicznych stanowi dużą szansę na szybką i trafną diagnozę pacjentów z podejrzeniem zakażenia centralnego układu nerwowego. Infekcję ośrodkowego układu nerwowego (OUN), w tym zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego, są powodowane różnymi czynnikami zakaźnymi. Patogenami wywołującymi te zakażenia są organizmy pochodzenia wirusowego, bakteryjnego, grzybiczego i rzadziej pasożytniczego. Szacuje się, że do 50% przypadków zapalenia mózgu i ok. 60% zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych ma nieznaną etiologię [7, 14, 20]. Enterowirusy [EV] i wirus opryszczki (HSV) to najczęstsze przyczyny zakaźnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i zapalenia mózgu. Największe ryzyko zakażenia dotyczy grupy osób starszych i dzieci. Zakażenia opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii bakteryjnej to najczęściej są zakażenia wywołane przez: *Streptococcus pneumoniae*, *Neisseria meningitidis* oraz *Haemophilus influenzae* typu B, przy czym ich częstość spadła od czasu wprowadzenia powszechnego programu szczepień u dzieci. Nadal grupę największego ryzyka stanowią osoby w podeszłym wieku [13, 23]. Zbyt długi czas poświęcony na postawienie odpowiedniej diagnozy, leczenie zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i zapalenia mózgu stwarza większe ryzyko ciężkiego przebiegu choroby,

! *Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.*

a także większej śmiertelności. Odwrotnie, zbyt pochopne podjęcie działań, jak włącznie nieodpowiednich leków, może negatywnie odbić się na zdrowiu pacjenta i zwiększać koszty leczenia, dlatego tak istotne jest precyzyjne określenie czynnika zakaźnego. Nie jest to często łatwe ze względu na niespecyficzne objawy. Rutynowe badania laboratoryjne, jak ogólne badanie płynu mózgowo-rdzeniowego, pomagają w szybkim różnicowaniu infekcji bakteryjnych i wirusowych, ale nie są dobrym narzędziem do bardzo szczegółowej identyfikacji czynnika etiologicznego zakażenia. W takich sytuacjach bardzo szybkim i precyzyjnym rozwiązaniem jest zastosowanie multipleksowych paneli mPCR o szerokim spektrum, które jednoznacznie określają typ zakażenia [9, 12]. Leber i wsp. przeprowadzili prospektywne, wielośrodkowe badanie 1560 próbek płynu mózgowo-rdzeniowego z zastosowaniem syndromicznego panelu ME, w porównaniu z konwencjonalną hodowlą i standardowym testem PCR. Okazało się, że panel ME wykrył 141 patogenów związanych z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych, a konwencjonalne metody dały prawidłowy obraz tylko 104 przypadków [24].

W badaniu przeprowadzonym przez Tarai i Das przebadano 969 próbek płynu mózgowo-rdzeniowego pobranego od pacjentów z podejrzeniem infekcji OUN. Tylko w 101 (10,4%) przypadkach uzyskano wynik potwierdzający zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Z otrzymanych wyników można wnioskować, że nieprawidłowe zastosowanie panelu syndromicznego może znacznie zwiększyć koszty diagnostyki. Zatem wszędzie tam, gdzie istnieje niskie ryzyko podejrzenia infekcji OUN, należy dokładnie rozważyć za i przeciw zastosowania tak szerokiej diagnostyki [21]. Pfeifferle i wsp. ocenili również wykorzystanie panelu syndromicznego ME w rutynowej diagnostyce, w warunkach szpitali uniwersyteckich [15]. Pod uwagę wzięto skuteczność kliniczną, użyteczność i koszt badań. Badaniu poddano 4623 próbki płynu mózgowo-rdzeniowego i aby zminimalizować koszty, panel syndromiczny zastosowano tylko do oceny próbek z wynikami wskazującymi na zakażenie opon mózgowo-rdzeniowych, np. dodatni wynik z preparatu barwionego metodą Grama, podwyższony poziom leukocytów w morfologii krwi, lub w przypadkach, w których klinicyści zgłaszali wysokie podejrzenie infekcji. Pacjenci, u których pobrano płyn mózgowo-rdzeniowy niewykazujący cech infekcji, nie zostali poddani diagnostyce z zastosowaniem panelu syndromicznego. W wyniku takiego algorytmu spośród 4623 próbek płynu mózgowo-rdzeniowego, 171 (3,7%) spełniało te kryteria i zostało przeanalizowanych z zastosowaniem panelu ME. W próbie tej zdiagnozowano 56 patogenów (32,7%), które wykryto z czułością 96,3% i specyficznością 96,5%. Wykazany wyższy poziom pozytywnych wyników był spowodowanym zastosowaniem algorytmu umożliwiającego odrzucenie na początkowym etapie analizy próbek o niskim ryzyku infekcji i zastosowanie go tylko

tam, gdzie jego użycie wydawało się zasadne. Dodatkową kwestią jest to, że zastosowany panel syndromiczny zawiera zestaw patogenów związanych głównie z infekcjami pozaszpitalnymi. Bardzo istotną kwestią w zastosowaniu takiego rodzaju diagnostyki jest wstępna ocena próbek płynu mózgowo-rdzeniowego i wdrożenie takiego podejścia tylko u pacjentów o wysokim ryzyku infekcji. Wykrycie czynnika zakaźnego metodami molekularnymi może okazać się bardziej skuteczne, niż w przypadku standardowej hodowli, zwłaszcza gdy istniała wcześniejsza ekspozycja na antybiotyki, ponieważ wówczas wynik posiewu może być fałszywie ujemny [15, 21].

PODSUMOWANIE

Multipleksowe panele syndromiczne mPCR umożliwiają szybką i szeroką diagnostykę wielu patogenów z pojedynczej próbki, co daje szansę na duże zmiany w diagnostyce laboratoryjnej chorób zakaźnych. Zamiast stosować serie indywidualnych testów, specjaliści mają do dyspozycji narzędzie umożliwiające diagnostykę szerokiego wachlarza patogenów, adekwatnie do specyfiki poszczególnych zakażeń, takich jak infekcje układu pokarmowego, układu oddechowego czy zakażenia ośrodkowego układu nerwowego [8, 16]. Odpowiednio zastosowany i zinterpretowany panel syndromiczny umożliwia szybką diagnostykę czynnika etiologicznego zakażenia i pozwala na sprawne podjęcie decyzji dotyczącej dalszego postępowania z pacjentem. Przyczynia się to bezpośrednio także do odpowiedzialnego stosowania antybiotykoterapii – wyłącznie w przypadkach, gdzie jest ona niezbędna, co powinno być celem każdej szpitalnej polityki antybiotykowej [4]. Jednocześnie szybsze podjęcie odpowiedniej decyzji dotyczącej schematu leczenia ma ogromny wpływ na rokowania związane z rekonwalescencją pacjenta oraz zmniejszeniem kosztów przeznaczonych na inne badania, jak obrazowanie, USG czy szereg pojedynczych testów. W miarę rozwoju tego sektora diagnostyki laboratoryjnej klinicyści będą otrzymywać coraz szersze i dokładniejsze narzędzia diagnostyczne w postaci przemyślanych i dokładnych paneli syndromicznych, co będzie umożliwiać lepszą organizację w zakresie diagnostyki i opieki szpitalnej przede wszystkim w oddziałach medycyny ratunkowej, w których czas poświęcony na diagnostykę jest bardzo istotnym czynnikiem. Obecnie istnieje wiele systemów różnych firm umożliwiających szybką i precyzyjną diagnostykę wykorzystującą multiplex PCR, co pozwala na dobór odpowiedniego rodzaju panelu w zależności od profilu szpitali i ich poszczególnych oddziałów (Tabela 1).

KONFLIKT INTERESÓW: nie zgłoszono.

! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

Tabela 1. Zestawienie testów multiplex PCR.

Panel	Czułość	Specyficzność	Wykrywane patogeny i geny oporności		Czas wyniku
BioFire® FilmArray®					
Meningitis/Encephalitis Panel	94,2%	99,8%	Bakterie: <i>E. coli</i> K1 <i>H. influenzae</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>N. meningitidis</i> <i>S. agalactiae</i> <i>S. pneumoniae</i> Grzyby: <i>Cryptococcus</i> (<i>C. neoformans</i> / <i>C. gattii</i>)	Wirusy: Cytomegalovirus (CMV) Enterowirus (EV) Herpes simplex virus 1 (HSV-1) Herpes simplex virus 2 (HSV-2) Human herpesvirus 6 (HHV-6) Human parechovirus (HPeV) Varicella zoster virus (VZV)	1h
Pneumonia plus Panel	96,2%*	98,3%*	Bakterie: <i>A. calcoaceticus-baumannii clx</i> <i>E. cloacae</i> <i>E. coli</i> <i>H. influenzae</i> <i>K. aerogenes</i> <i>K. oxytoca</i> <i>K. pneumoniae group</i> <i>M. catarrhalis</i> <i>Proteus spp.</i> <i>P. aeruginosa</i> <i>S. marcescens</i> <i>S. aureus</i> <i>S. agalactiae</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>S. pyogenes</i> Bakterie atypowe: <i>L. pneumophila</i> <i>M. pneumoniae</i> <i>Ch. pneumoniae</i>	Wirusy: Wirus grypy typu A Wirus grypy typu B Adenowirus Koronawirus Wirus paragrypy RSV Ludzki rinowirus/enterowirus Ludzki metapneumowirus MERS-CoV ESBL CTX-M Karbapenemazy KPC NDM Oxa48-like VIM IMP Oporność na metycylinę mecA/mecC+MREJ	1h
Respiratory 2.1 plus Panel	97,4%	99,4%	Bakterie: <i>B. pertussis</i> <i>B. parapertussis</i> Bakterie atypowe: <i>Ch. pneumoniae</i> <i>M. pneumoniae</i>	Wirusy: Adenowirus Koronawirus 229E Koronawirus HKU1 Koronawirus OC43 Koronawirus NL63 MERS-CoV SARS-CoV-2 Ludzki metapneumowirus Ludzki rinowirus/enterowirus Grypa typu A, A/H1, A/H1-2009, A/H3 Grypa typu B Wirus paragrypy 1, 2, 3, 4 RSV	45 min.
Gastrointestinal Panel	98,5%	99,2%	Bakterie: <i>C. jejuni</i> , <i>E. coli</i> , <i>upsaliensis</i> <i>C. difficile</i> (Toxin A/B) <i>P. shigelloides</i> <i>Salmonella</i> <i>Y. enterocolitica</i> <i>V. parahaemolyticus</i> , <i>vulnificus</i> , <i>cholerae</i> <i>V. cholerae</i> <i>E. coli</i> O157 <i>E. coli</i> EAEC <i>E. coli</i> EPEC <i>E. coli</i> ETEC lt/st <i>E. coli</i> O157, STEC stx1/stx2 <i>E. coli</i> O157 <i>Shigella</i> / <i>E. coli</i> EIEC	Wirusy: Adenowirus F 40/41 Astrowirus Norowirus GI/GII Rotawirus A Sapowirus (I, II, IV, V) Pasożyty: <i>Cryptosporidium</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia lamblia</i>	1h

- ! Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.

Tabela 1 cd. Zestawienie testów multiplex PCR.

Panel	Czułość	Specyficzność	Wykrywane patogeny i geny oporności	Czas wyniku	
QIAGEN QIAstat-Dx					
Gastrointestinal Panel 2	97,9%	97,8%	Bakterie: <i>C. jejuni, coli, upsaliensis</i> <i>C. difficile</i> (Toxin A/B) <i>P. shigelloides</i> <i>Salmonella</i> <i>Y. enterocolitica</i> <i>V. parahaemolyticus, vulnificus, cholerae</i> <i>V. cholerae</i> <i>E. coli</i> O157 <i>E. coli</i> EAEC <i>E. coli</i> EPEC <i>E. coli</i> ETEC lt/st <i>E. coli</i> O157, STEC stx1/stx2 <i>E. coli</i> O157 <i>Shigella/E. coli</i> EIEC	Wirusy: Adenowirus F 40/41 Astrowirus Norowirus GI/GII Rotawirus A Sapowirus (I, II, IV, V) Pasożyty: <i>Cryptosporidium</i> <i>Cyclospora cayetanensis</i> <i>Entamoeba histolytica</i> <i>Giardia lamblia</i>	1h
Meningitis/ Encephalitis Panel	95,2%	99,9%	Bakterie: <i>E. coli</i> K1 <i>H. influenzae</i> <i>L. monocytogenes</i> <i>N. meningitidis</i> <i>M. pneumoniae</i> <i>S. agalactiae</i> <i>S. pneumoniae</i> <i>S. pyogenes</i>	Wirusy: Enterowirus (EV) Herpes simplex virus 1 (HSV-1) Herpes simplex virus 2 (HSV-2) Human herpesvirus 6 (HHV-6) Human parechovirus (HPeV) Varicella zoster virus (VZV) Grzyby: <i>Cryptococcus (C. neoformans/C. gattii)</i>	1h
Respiratory SARS-CoV-2 Panel	97,3%	98,4%	Bakterie: <i>B. pertussis</i> <i>L. pneumophila</i> Bakterie atypowe: <i>Ch. pneumoniae</i> <i>M. pneumoniae</i>	Wirusy: Adenowirus Koronawirus 229E Koronawirus HKU1 Koronawirus OC43 Koronawirus NL63 MERS-CoV SARS-CoV-2 Ludzki metapneumowirus Ludzki rinowirus/enterowirus Grypa typu A, A/H1, A/H1-2009, A/H3 Grypa typu B RSV A/B Bocawirus	1h
Amplex Genie® II					
Eazyplex® PneumoBug Expert	92,9%	98,7%	Bakterie atypowe: <i>Ch. pneumoniae</i> <i>L. pneumophila</i> <i>M. pneumoniae</i>	20 min.	
Eazyplex® CSF Direct	Bd*	Bd*	Bakterie: <i>L. monocytogenes</i> <i>N. meningitidis</i> <i>S. agalactiae</i> <i>S. pneumoniae</i>	20 min.	

PIŚMIENNICTWO

- Axelrad JE, Freedberg DE, Whittier S, Greendyke W, Lebwahl B, Green DA. Impact of gastrointestinal panel implementation on health care utilization and outcomes. *J Clin Microbiol* 2019;57(3):e01775–18.
- Beal SG, Tremblay EE, Toffel S, Velez L, Rand KH. A gastrointestinal PCR panel improves clinical management and lowers health care costs. *J Clin Microbiol* 2017;56(1):e01457–17.
- Buchan BW, Windham S, Balada-Llasat JM et al. Practical comparison of the BioFire FilmArray Pneumonia Panel to routine diagnostic methods and potential impact on antimicrobial stewardship in adult hospitalized patients with lower respiratory tract infections. *J Clin Microbiol* 2020;58(7):e00135–20.
- Dumkow LE, Worden LJ, Rao SN. Syndromic diagnostic testing: a new way to approach patient care in the treatment of infectious diseases. *J Antimicrob Chemother* 2021;76(Suppl. 3):iii4–iii11.
- Farthing M, Salam MA, Lindberg G et al. Acute diarrhea in adults and children: a global perspective. *J Clin Gastroenterol* 2013;47(1):12–20.
- Food and Drug Administration. What You Need to Know about Foodborne Illnesses. *Fda.gov* (online) 2022; <https://www.fda.gov/food/consumers/what-you-need-know-about-foodborne-illnesses> [download: 12.09.2022]
- George BP, Schneider EB, Venkatesan A. Encephalitis hospitalization rates and inpatient mortality in the United States, 2000–2010. *PLoS One* 2014;9(9):e104169.
- Hanson KE, Couturier MR. Multiplexed molecular diagnostics for respiratory, gastrointestinal, and central nervous system infections. *Clin Infect Dis* 2016;63(10):1361–1367.

! **Artykuł jest dostępny na zasadzie dozwolonego użytku osobistego. Dalsze rozpowszechnianie (w tym druk i umieszczanie w sieci) jest zabronione i stanowi poważne naruszenie przepisów prawa autorskiego oraz grozi sankcjami prawnymi.**

9. Leber AL, Everhart K, Balada-Llasat J-M et al. Multicenter evaluation of BioFire FilmArray Meningitis/Encephalitis Panel for detection of bacteria, viruses, and yeast in cerebrospinal fluid specimens. *J Clin Microbiol* 2016;54(9):2251–2261.
10. Leber AL, Everhart K, Daly JA et al. Multicenter evaluation of BioFire FilmArray Respiratory Panel 2 for detection of viruses and bacteria in nasopharyngeal swab samples. *J Clin Microbiol* 2018;56(6):e01945–17.
11. Lee SH, Ruan S-Y, Pan S-C, Lee T-F, Chien J-Y, Hsueh P-R. Performance of a multiplex PCR pneumonia panel for the identification of respiratory pathogens and the main determinants of resistance from the lower respiratory tract specimens of adult patients in intensive care units. *J Microbiol Immunol Infect* 2019;52(6):920–928.
12. Liesman RM, Strasburg AP, Heitman AK, Theel ES, Patel R, Binnicker MJ. Evaluation of a commercial multiplex molecular panel for diagnosis of infectious meningitis and encephalitis. *J Clin Microbiol* 2018;56(4):e01927–17.
13. McIntyre PB, O'Brien KL, Greenwood B, van de Beek D. Effect of vaccines on bacterial meningitis worldwide. *Lancet* 2012;380(9854):1703–1711.
14. Papa A, Kotrotsiou T, Papadopoulou E, Reusken C, GeurtsvanKessel C, Koopmans M. Challenges in laboratory diagnosis of acute viral central nervous system infections in the era of emerging infectious diseases: the syndromic approach. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2016;14(9):829–836.
15. Pfefferle S, Christner M, Aepfelbacher M, Lütgehetmann M, Rohde H. Implementation of the FilmArray ME panel in laboratory routine using a simple sample selection strategy for diagnosis of meningitis and encephalitis. *BMC Infect Dis* 2020;20:170.
16. Ramanan P, Bryson AL, Binnicker MJ, Pritt BS, Patel R. Syndromic panel-based testing in clinical microbiology. *Clin Microbiol Rev* 2017;31(1):e00024–17.
17. Rappo U, Schuetz AN, Jenkins SG et al. Impact of early detection of respiratory viruses by multiplex PCR assay on clinical outcomes in adult patients. *J Clin Microbiol* 2016;54(8):2096–2103.
18. Rogers BB, Shankar P, Jerris RC et al. Impact of a rapid respiratory panel test on patient outcomes. *Arch Pathol Lab Med* 2015;139(5):636–641.
19. Subramony A, Zachariah P, Kronen A, Whittier S, Saiman L. Impact of multiplex polymerase chain reaction testing for respiratory pathogens on healthcare resource utilization for pediatric inpatients. *J Pediatr* 2016;173:196–201.e2.
20. Takhar SS, Ting SA, Camargo CA, Jr, Pallin DJ. U.S. emergency department visits for meningitis, 1993–2008. *Acad Emerg Med* 2012;19(6):632–629.
21. Tarai B, Das P. FilmArray® meningitis/encephalitis (ME) panel, a rapid molecular platform for diagnosis of CNS infections in a tertiary care hospital in North India: one-and-half-year review. *Neurol Sci* 2019;40(1):81–88.
22. Theuretzbacher U, Bush K, Harbarth S et al. Critical analysis of antibacterial agents in clinical development. *Nat Rev Microbiol* 2020;18(5):286–298.
23. Thigpen MC, Whitney CG, Messonnier NE et al. Bacterial meningitis in the United States, 1998–2007. *N Engl J Med* 2011;364(21):2016–2025.
24. Vetter P, Schibler M, Herrmann JL, Boutolleau D. Diagnostic challenges of central nervous system infection: extensive multiplex panels versus stepwise guided approach. *Clin Microbiol Infect* 2020;26(6):706–712.
25. Walker T, Dumadag S, Lee CJ et al. Clinical impact of laboratory implementation of verigene BC-GN microarray-based assay for detection of Gram-negative bacteria in positive blood cultures. *J Clin Microbiol* 2016;54(7):1789–1796.