

Rekomendacje postępowania w zakażeniach ośrodkowego układu nerwowego

Epidemiologia, diagnostyka kliniczna i laboratoryjna

Pod redakcją:

Prof. dr hab. n. med. **Piotra Albrechta**

Prof. dr hab. med. **Walerii Hryniewicz**

Dr n. med. **Alicji Kuch**

Prof. dr hab. n. med. **Anny Skoczyńskiej**

Prof. dr hab. n. med. **Joanny Zajkowskiej**

Ministerstwo
Zdrowia

Zadanie realizowane ze środków Narodowego Programu Zdrowia
na lata 2021-2025, finansowane przez Ministra Zdrowia



Rekomendacje postępowania w zakażeniach ośrodkowego układu nerwowego

Epidemiologia, diagnostyka kliniczna i laboratoryjna

Copyright 2023 by:

Prof. hab. n. med. Piotr Albrecht
Dr n. med. Krystyna Bober-Olesińska
Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Dzierżanowska-Fangrat
Dr n. med. Adam Garkowski
Prof. dr hab. n. med. Waleria Hryniewicz
Dr n. med. Beata Kasztelewicz
Mgr Marlena Kiedrowska
Dr n. med. Lek. Mirosław Kiedrowski
Dr n. med. Alicja Kuch
Prof. dr hab. n. med. Joanna Matowicka-Karna
Prof. dr hab. n. med. Anna Skoczyńska
Prof. dr hab. n. med. Leszek Szenborn
Dr hab. n. med. Magdalena Suchacz
Dr n. med. Beata Sulik-Tyszka
Dr n. med. Joanna Tarasiuk
Mgr Aleksandra Tukendorf
Dr n. med. Urszula Wendt
Mgr Agnieszka Wiśniewska
Prof. dr hab. n. med. Joanna Zajkowska

Warszawa 2023

All rights reserved
Wszystkie prawa zastrzeżone

Wydanie drugie, poszerzone

Wydawca
Narodowy Instytut Leków, Warszawa

Zadanie realizowane ze środków Narodowego Programu Zdrowia na lata 2021-2025, finansowane przez Ministra Zdrowia

Projekt okładki:
Magdalena Borek

Skład i łamanie:
Jacek Freyer

ISBN 978-83-949636-8-2

Rekomendacje postępowania w zakażeniach ośrodkowego układu nerwowego

Epidemiologia, diagnostyka kliniczna i laboratoryjna

Zespół autorów:

Prof. hab. n. med. Piotr Albrecht

Klinika Gastroenterologii i Żywienia Dzieci Warszawskiego Uniwersytetu Medycznego, Warszawa

Dr n. med. Krystyna Bober-Olesińska

Oddział Neonatologiczny Międzyleskiego Szpitala Specjalistycznego w Warszawie

Prof. dr hab. n. med. Katarzyna Dzierżanowska-Fangrat

Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

Dr n. med. Adam Garkowski

Zakład Radiologii, Uniwersytet Medyczny, Białystok

Prof. dr hab. n. med. Waleria Hryniewicz

Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Bakteryjnych Zakażeń Ośrodkowego Układu Nerwowego „KOROUN”, Zakład Epidemiologii i Mikrobiologii Klinicznej, Narodowy Instytut Leków, Warszawa

Dr n. med. Beata Kasztelewicz

Zakład Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej, Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

Mgr Marlena Kiedrowska

Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Bakteryjnych Zakażeń Ośrodkowego Układu Nerwowego „KOROUN”, Zakład Epidemiologii i Mikrobiologii Klinicznej, Narodowy Instytut Leków, Warszawa

Dr n. med. Lek. Mirosław Kiedrowski

Oddział Onkologii, Państwowy Instytut Medyczny MSWiA, Warszawa

Dr n. med. Alicja Kuch

Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Bakteryjnych Zakażeń Ośrodkowego Układu Nerwowego „KOROUN”, Zakład Epidemiologii i Mikrobiologii Klinicznej, Narodowy Instytut Leków, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Joanna Matowicka-Karna

Zakład Laboratoryjnej Diagnostyki Klinicznej, Uniwersytet Medyczny, Białystok

Prof. dr hab. n. med. Anna Skoczyńska

Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Bakteryjnych Zakażeń Ośrodkowego Układu Nerwowego „KOROUN”, Zakład Epidemiologii i Mikrobiologii Klinicznej, Narodowy Instytut Leków, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Leszek Szenborn

Katedra i Klinika Pediatrii i Chorób Infekcyjnych; Uniwersytet Medyczny im. Piastów Śląskich, Wrocław

Dr hab. n. med. Magdalena Suchacz

Klinika Chorób Zakaźnych, Tropikalnych i Hepatologii, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Wojewódzki Szpital Zakaźny, Warszawa

Dr n. med. Beata Sulik-Tyszka

Zakład Mikrobiologii Stomatologicznej, Warszawski Uniwersytet Medyczny
Laboratorium Mikrobiologii UCML Uniwersyteckie Centrum Kliniczne WUM
Narodowy Instytut Onkologii im. Marii Skłodowskiej-Curie Państwowy Instytut Badawczy, Warszawa

Dr n. med. Joanna Tarasiuk

Klinika Neurologii, Uniwersytet Medyczny, Białystok

Mgr Aleksandra Tukendorf

Instytut „Pomnik – Centrum Zdrowia Dziecka”, Warszawa

Dr n. med. Urszula Wendt

Audytor PCA, Warszawa

Mgr Agnieszka Wiśniewska

Laboratorium Centralne Uniwersyteckiego Centrum Klinicznego, Warszawski Uniwersytet Medyczny, Warszawa

Prof. dr hab. n. med. Joanna Zajkowska

Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji, Uniwersytet Medyczny, Białystok

1. Spis treści

1. WPROWADZENIE	15
2. CHARAKTERYSTYKA GŁÓWNYCH CZYNNIKÓW ETIOLOGICZNYCH ZAKAŻEŃ OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO (OUN).....	16
2.1. Bakteryjne czynniki zakażeń OUN	16
2.1.1. <i>Neisseria meningitidis</i>	16
2.1.2. <i>Streptococcus pneumoniae</i>	19
2.1.3. <i>Haemophilus influenzae</i>	21
2.1.4. <i>Streptococcus agalactiae</i>	22
2.1.5. <i>Escherichia coli</i>	25
2.1.6. <i>Listeria monocytogenes</i>	27
2.2. Inne bakteryjne czynniki zakażeń OUN	28
2.2.1. <i>Staphylococcus aureus</i>	28
2.2.2. Gronkowce koagulazoujemne (coagulase-negative staphylococci, CoNS).....	29
2.2.3. <i>Streptococcus pyogenes</i> (paciorkowiec β -hemolizujący grupy A, GAS).....	29
2.2.4. Paciorkowce α -hemolizujące	30
2.2.5. Enterokoki	30
2.2.6. <i>Klebsiella pneumoniae</i> i inne pałeczki <i>Enterobacterales</i>	31
2.2.7. Pałeczki niefermentujące <i>Pseudomonas aeruginosa</i> i <i>Acinetobacter</i> sp.	31
2.2.8. Bakterie beztlenowe.....	32
2.3. Bakteryjne swoiste czynniki zakażeń OUN	34
2.3.1. Borelioza z Lyme, neuroborelioza.	34
2.3.2. Gruźlica ośrodkowego układu nerwowego	36
2.3.3. Trąd	38
2.3.4. Kiła ośrodkowego układu nerwowego	38
2.4. Wirusowe czynniki zakażeń OUN	40
2.4.1. Enterowirusy	40
2.4.2. Herpeswirusy.....	41
2.4.3. Wirus kleszczowego zapalenia mózgu.....	42
2.4.4. Inne wirusowe czynniki etiologiczne neuroinfekcji	43
2.5. Grzybicze czynniki zakażeń OUN i ropni mózgu.....	45
2.5.1. <i>Candida</i>	46
2.5.2. <i>Cryptococcus</i>	46
2.5.3. <i>Aspergillus</i>	47
2.5.4. Mukormykoza	47
2.6. Pasożytnicze czynniki zakażeń OUN	48
2.6.1. <i>Acanthamoeba castellanii</i>	49
2.6.2. <i>Naegleria fowleri</i>	50
2.6.3. <i>Trypanosoma brucei gambiense</i> i <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>	52
2.6.4. <i>Trypanosoma cruzi</i>	52
2.6.5. <i>Toxoplasma gondii</i>	53
2.6.6. <i>Entamoeba histolytica</i>	55
2.6.7. Neurocysticerkoza (wągryca mózgu) wywołwana przez <i>Taenia solium</i>	55

2.6.8. <i>Taenia multiceps</i>	57
2.6.9. Bąblowica OUN wywoływana przez <i>Echinococcus granulosus</i>	57
2.6.10. Bąblowica OUN wywoływana przez <i>Echinococcus multilocularis</i>	58
2.6.11. <i>Toxocara canis/cati</i>	59
3. ZAKAŻENIA OPORTUNISTYCZNE U PACJENTÓW Z AIDS.....	63
3.1. Toksoplazmoza OUN.....	63
3.2. Kryptokokoza OUN.....	63
3.3. Gruźlica OUN.....	63
3.4. Zakażenie wirusem opryszczki typu 1 i 2 (HSV).....	64
3.5. Zakażenie wirusem ospy wietrznej i półpaśca (VZV).....	64
3.6. Zakażenie wirusem cytomegalii (CMV).....	64
3.7. Wieloogniskowa leukoencefalopatia (PML).....	65
4. ROZPOZNANIE KLINICZNE BAKTERYJNEGO ZAPALENIA OPON MÓZGOWO-RDZENIOWYCH (BZOMR) U DZIECI I U DOROSŁYCH.....	66
5. ROZPOZNANIE KLINICZNE WIRUSOWEGO ZAPALENIA OPON MÓZGOWO-RDZENIOWYCH.....	73
6. BAKTERYJNE ZAPALENIE OPON MÓZGOWO-RDZENIOWYCH U NOWORODKÓW.....	75
7. SEPSA W WYNIKU ZAKAŻENIA POZASZPITALNEGO.....	79
8. ROPNIE MÓZGU.....	81
9. ROZPOZNANIE KLINICZNE ZAPALENIA MÓZGU.....	84
10. ROLA NEUROOBRAZOWANIA W INFЕКCYJACH UKŁADU NERWOWEGO.....	92
11. BADANIE EEG (ELEKTROENCEFALOGRAFIA).....	98
12. DIAGNOSTYKA LABORATORYJNA NEUROINFЕКCJI.....	100
13. MATERIAŁ DO BADAŃ LABORATORYJNYCH W KIERUNKU ZAKAŻEŃ OUN, ZASADY POBIERANIA.....	101
13.1. Rodzaj materiału klinicznego.....	101
13.2. Zasady pobierania płynu mózgowo-rdzeniowego i nakłucie lędźwiowe.....	102
13.3. Zasady pobierania krwi.....	109
13.3.1. Pobranie krwi na posiew (badanie mikrobiologiczne).....	109
13.3.2. Pobieranie krwi do badania analitycznego.....	111
13.4. Zasady pobierania innych materiałów.....	111
13.4.1. Pobieranie wymazów z nosogardzieli.....	111
13.4.2. Pobieranie materiału z wybroczyn na skórze.....	112
13.4.3. Pobieranie materiałów <i>post mortem</i>	112
13.4.4. Inne materiały diagnostyczne w zakażeniach OUN.....	115
14. BADANIA ANALITYCZNE MATERIAŁÓW KLINICZNYCH.....	116
14.1. Badanie ogólne PMR.....	116
14.1.1. Ocena wyglądu PMR.....	116
14.1.2. Badania biochemiczne PMR.....	117
14.1.3. Połączenie wskaźników laboratoryjnych i klinicznych jako metoda różnicowania bakteryjnego i wirusowego ZOMR.....	118
14.1.4. Badanie cytologiczne.....	119
14.2. Prawidłowy i zmieniony zapalnie PMR.....	121
14.3. Czynniki wpływające na wynik badania PMR.....	124

14.3.1. Czynniki przedlaboratoryjne	124
14.3.2. Czynniki laboratoryjne	125
14.4. Badanie ogólne krwi	125
14.4.1. Morfologia z rozdziałem automatycznym i rozmazem	125
14.4.2. OB.....	125
14.4.3. CRP	125
14.4.4. PCT	126
14.4.5. IL-6	126
15. IDENTYFIKACJA CZYNNIKA ETIOLOGICZNEGO ZAKAŻEŃ OUN	127
15.1. Posiew PMR.....	127
15.1.1. Zagęszczanie PMR.....	129
15.1.2. Postępowanie z PMR	129
15.1.3. Przygotowywanie preparatu mikroskopowego z PMR	130
15.1.4. Barwienie metodą Grama.....	131
15.1.5. Barwienie błękitem metylenowym wg Loefflera	131
15.2. Bezpośrednie wykrywanie antygenów otoczkowych w PMR i innych płynach ustrojowych	132
15.3. Identyfikacja drobnoustrojów z wykorzystaniem spektrometrii mas	133
15.4. Posiew krwi	134
15.5. Posiew materiału pobranego z wybroczyn na skórze	136
15.6. Posiew wymazu z nosogardła	137
15.7. Posiew innych materiałów diagnostycznych w zakażeniu OUN	138
15.8. Histopatologia przyżyciowa	138
15.9. Badanie bakteriologiczne materiału pobranego <i>post mortem</i>	139
15.10. Postępowanie z drobnoustrojem tego samego gatunku izolowanym z różnych materiałów od tego samego pacjenta.....	140
16. DIAGNOSTYKA BORELIOZY	141
16.1. Diagnostyka serologiczna w surowicy	141
16.2. Badanie ogólne płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR).....	142
16.3. Wewnątrzoponowa synteza przeciwciał – wskaźnik przeciwciał swoistych dla boreliozy (AI)	142
16.4. Chemokina CXCL13	142
16.5. Metody detekcji <i>B. burgdorferi</i> metodą PCR.....	142
17. DIAGNOSTYKA GRUŹLICY OUN	144
18. DIAGNOSTYKA TRĄDU	146
18.1. Badanie histopatologiczne i bakteriologiczne	146
18.2. Badanie elektrofizjologiczne	146
18.3. Testy skórne i serologiczne	146
18.4. Inne badania.....	146
19. DIAGNOSTYKA KIŁY OUN	147
19.1. Testy serologiczne.....	147
19.2. Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego	147
19.3. Badania neuroobrazowe	147
19.4. Diagnostyka różnicowa kiły OUN	147
20. DIAGNOSTYKA WIRUSOWYCH NEUROINFEKCJI	148

20.1.	Metody amplifikacji kwasów nukleinowych	148
20.2.	Diagnostyka serologiczna.....	148
21.	DIAGNOSTYKA MYKOLOGICZNA NEUROINFEKCI.....	150
21.1.	Badania obrazowe	150
21.2.	Bakterioskopia	150
21.3.	Hodowla i identyfikacja zakażeń grzybiczych w OUN	150
21.4.	Ocena lekowrażliwości badanego szczepu wyizolowanego z OUN	151
21.5.	Badania serologiczne	151
21.6.	Badania genetyczne.....	152
22.	DIAGNOSTYKA PARAZYTOZ OUN.....	153
22.1.	<i>Acanthamoeba castellanii</i>	153
22.1.1.	Diagnostyka GAE (ziarniniakowe amebiczne zapalenie mózgu) polega na:.....	153
22.1.2.	Metody biologii molekularnej w diagnostyce <i>Acanthamoeba</i>	153
22.2.	<i>Naegleria fowleri</i>	153
22.3.	<i>Trypanosoma brucei gambiense</i> , <i>Trypanosoma brucei rhodesiense</i>	154
22.4.	<i>Trypanosoma cruzi</i>	155
22.5.	<i>Toxoplasma gondii</i>	155
22.6.	<i>Entamoeba histolytica</i>	155
22.7.	Neurocysticerkoza (wągryzca mózgu) wywoływana przez <i>Taenia solium</i>	155
22.8.	<i>Taenia multiceps</i>	156
22.9.	Bąblowica OUN wywoływana przez <i>Echinococcus multilocularis</i>	156
22.10.	<i>Toxocara canis</i>	156
23.	OZNACZANIE WRAŻLIWOŚCI NA ANTYBIOTYKI CZYNNIKÓW ETIOLOGICZNYCH ZAKAŻEŃ OUN	158
23.1.	Oznaczanie lekowrażliwości drobnoustrojów metodami automatycznymi	158
24.	BEZPOŚREDNIE WYKRYWANIE DNA CZYNNIKÓW ETIOLOGICZNYCH NEUROINFEKCI W MATERIALE KLINICZNYM...161	
24.1.	Zabezpieczenie materiału do reakcji PCR.....	161
24.1.1.	Krew	161
24.1.2.	Surowica	161
24.1.3.	PMR	161
24.1.4.	Materiały kliniczne pobrane <i>post mortem</i>	161
24.2.	Panele syndromiczne w diagnostyce zakażeń OUN.....	161

Słowniczek

- ACA** – przewlekłe zanikowe zapalenie skóry (*ang.* acrodermatitis chronica atrophicans)
- ADC** – (*ang.* apparent diffusion coefficient)
- ADH** – wazopresyna; hormon antydiuretyczny
- AE** – autoimmunologiczne zapalenie mózgu (*ang.* autoimmune encephalitis)
- AI** – indeks syntezy wewnątrzoponowej przeciwciał (*ang.* antibody indeks)
- BF** – płyny ustrojowe (*ang.* body fluids)
- BINet** – sieć monitorowania inwazyjnych zakażeń bakteryjnych
- BZOMR** – bakteryjne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych
- CDC** – Centrum Zwalczania i Kontroli Chorób (*ang.* Centers for Disease Control and Prevention)
- Cl** – chlorki
- CMV** – wirus cytomegalii
- CoNS** – gronkowce koagulazoujemne (*ang.* coagulase-negative staphylococci)
- COVID – 19** – zespół ostrej niewydolności oddechowej spowodowany przez SARS-CoV-2
- CRP** – białko C-reaktywne
- DIC** – zespół rozlanego wykrzepiania wewnątrznaczyniowego (*ang.* disseminated intravascular coagulation)
- DWI** – obrazowanie zależne od dyfuzji w rezonansie magnetycznym (*ang.* diffusion-weighted imaging)
- EBA** – nadmierna czynność beta (*ang.* excess beta activity)
- ECDC** – Europejskie Centrum ds. Zapobiegania i Kontroli Chorób (*ang.* European Centre for Disease Prevention and Control)
- EEG** – elektroencefalografia
- ELISA** – test immunoenzymatyczny (*ang.* enzyme – linked immunosorbent assay)
- EMA** – Europejska Agencja Leków (*ang.* European Medicines Agency)
- EOD** – wczesny zespół chorobowy (*ang.* early onset disease)
- ER** – rumień wędrujący (*ang.* erythema migrans)
- EUCAST** – Europejski Komitet ds. Oznaczania Lekowrażliwości (*ang.* European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing)
- EBV** – wirus Epsteina-Barr
- ESBL** – beta-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (*ang.* extended-spectrum β -lactamases)
- EV** – enterowirus
- FIRDA** – czołowa przerywana rytmiczna czynność delta (*ang.* frontal intermittent rhythmic delta activity)
- FISH** – fluorescencyjna hybrydyzacja *in situ*
- FLAIR** – modyfikacja sekwencji T2-zależnej w rezonansie magnetycznym (*ang.* fluid attenuated inversion recovery)
- FTA** – test immunofluorescencji krętków (*ang.* Fluorescent Treponema Antibody)
- FTA-ABS** – test immunofluorescencji krętków w modyfikacji absorpcyjnej (*ang.* fluorescent treponemal antibody absorption test)
- GAS** – paciorkowiec ropotwórczy grupy A (*ang.* group A *Streptococcus*)
- GAE** – ziarniniakowe zapalenie mózgu
- GBS** – paciorkowiec β -hemolizujący grupy B (*ang.* group B *Streptococcus*)
- Glu** – glukoza
- GRDA** – uogólniona rytmiczna czynność delta (*ang.* frontal intermittent rhythmic delta activity)
- gyrA** – gen kodujący podjednostkę A gyrazy DNA
- H+E** – barwienie hematoksyliną i eozyną
- Hia** – *Haemophilus influenzae* typ a

Hib – *Haemophilus influenzae* typ b
Hie – *Haemophilus influenzae* typ e
Hif – *Haemophilus influenzae* typ f
HHV – ludzki herpeswirus
HIV – ludzki wirus niedoboru odporności
HSE – opryszczkowe zapalenie mózgu (*Herpes simplex encephalitis*)
HSV – wirus opryszczki ludzkiej/ wirus opryszczki zwykłej
IChM – inwazyjna choroba meningokokowa
IChP – inwazyjna choroba pneumokokowa
iGAS – inwazyjne zakażenia wywoływane przez paciorkowce β -hemolizujące grupy A (*Streptococcus pyogenes*)
IgG – immunoglobulina G
IHA – test hemaglutynacji biernej
IL – interleukina
IHC – barwienie immunohistochemiczne
IIF – barwienie immunofluorescencyjne
IVD – diagnostyka in-vitro
JC – wirus Johna Cunninghama
KOROUN – Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Diagnostyki Bakteryjnych Zakażeń Ośrodkowego Układu Nerwowego
KZM – kleszczowe zapalenie mózgu
LA – (*ang.* latex agglutination)
LCMV – wirus limfocytarnego zapalenia splotu naczyńiówkowego i opon mózgowo-rdzeniowych
LNB – neuroborelioza
LOD – późny zespół chorobowy (*ang.* late onset disease)
MALDI-TOF – spektrometria mas; desorpcja i jonizacja laserowa z użyciem matrycy (*ang.* Matrix-Assisted Laser Desorption / Ionization Time of Flight)
MGG – barwienie metodą May-Grünwalda-Giemsy
MIC – minimalne stężenie hamujące (*ang.* minimum inhibitory concentration)
MN – mononukleary
MR – rezonans magnetyczny (*ang.* magnetic resonance)
MRSA – *S. aureus* oporny na metycylinę (*ang.* methicillin-resistant *S. aureus*)
MRSE – *S. epidermidis* oporny na metycylinę (*ang.* methicillin-resistant *S. epidermidis*)
NAAT – test amplifikacji kwasów nukleinowych (*ang.* nucleic acid amplification testing)
NIZP-PZH – PIB – Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego - Państwowy Zakład Higieny - Państwowy Instytut Badawczy
NMDA – receptor N-metylo-D-asparaginowy (*ang.* N-methyl-D-aspartate receptor)
NPEV – zakażenia enterowirusami innymi niż polio (*ang.* non-polio enteroviruses)
NTHI – nieotoczkowy, nietypujący się (*ang.* nontypeable *Haemophilus influenzae*)
OB – odczyn Biernackiego
OUN – ośrodkowy układ nerwowy
OZUŚ – ostre zapalenie ucha środkowego
PAM – pierwotne amebowe zapalenie mózgu i opon mózgowo-rdzeniowych o ostrym przebiegu (*ang.* primary amoebic meningo-encephalitis)
PAS – barwienie kwasem nadjodowym-Schiffa
PBPs – białka wiążące penicylinę (*ang.* penicillin binding proteins)
PCR – łańcuchowa reakcja polimerazy (*ang.* polymerase chain reaction)

-
- PCT** – prokalcytonina
- PED** – okresowe wyładowania padaczkokształtne (*ang.* periodic epileptiform discharges)
- LP** – punkcja lędźwiowa
- PLED** – okresowe zlateralizowane wyładowania padaczkokształtne (*ang.* periodic lateralized epileptiform discharges)
- PML** – postępująca leukoencefalopatia wielogniskowa (*ang.* progressive multifocal leukoencephalopathy)
- PMN** – polinukleary
- PMR** - płyn mózgowo-rdzeniowy
- POChP** – przewlekła obturacyjna choroba płuc
- PP** – probówka polipropylenowa
- QAlb** – wskaźnik albuminowy ; Alb (PMR)/Alb (surowica)
- QGlu** – współczynnik glukozy
- RBC** – eryocyty, krwinki czerwone (*ang.* red blood cells)
- RCM** – mukormykoza nosowo–mózgowa (*ang.* rhinocerebral mucormycosis)
- RM** – ropień mózgu
- rpoB** – gen kodujący podjednostkę beta polimerazy RNA
- RTG** – rentgen, radiogram
- RT-PCR** – PCR w czasie rzeczywistym (*ang.* real time polymerase chain reaction)
- RZS** – reumatoidalne zapalenie stawów
- SIADH** – zespół nieadekwatnego wydzielania wazopresyny (*ang.* syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion)
- SIRS** – uogólniona reakcja zapalna/zespół ogólnoustrojowej reakcji zapalnej (*ang.* soluble immune response suppressor)
- SM** – stwardnienie rozsiane
- SSPE** – podostre stwardniające zapalenie mózgu (*ang.* subacute sclerosing panencephalitis)
- TBEV** – wirus kleszczowego zapalenia mózgu (*ang.* tick-borne encephalitis virus)
- TBil** – bilirubina całkowita (*ang.* total bilirubin)
- TK** – tomografia komputerowa
- TNF- α** – czynnik martwicy nowotworów α
- TP** – białko całkowite (*ang.* total protein)
- TPHA** – swoisty test hemaglutynacji – (*ang.* Treponema pallidum hemagglutination assay)
- TSS** – zespół wstrząsu toksycznego (*ang.* toxic shock syndrome)
- USG** – ultrasonografia
- USR** – makroskopowy test kłaczkowania (*ang.* unheated serum reagin)
- WB** – test Western Blot
- WBC** – leukocyty, krwinki białe (*ang.* white blood cell)
- WHO** – Światowa Organizacja Zdrowia (*ang.* World Health Organization)
- VDRL** – mikroskopowy test kłaczkowania (*ang.* venereal disease research laboratory)
- VLM** – zespół larwy wędrującej trzewnej (*ang.* syndrom larvae migrans)
- VRE** – enterokoki wankomycynooporne (*ang.* vancomycin-resistant *enterococcus*)
- VZV** – wirus ospy wietrznej i półpaśca
- ZOMR** – zapalenie opon mózgowo–rdzeniowych
-

1. WPROWADZENIE

Ostre zakażenie ośrodkowego układu nerwowego (OUN), stanowi poważny problem diagnostyczny i terapeutyczny. Oprócz bezpośredniego zagrożenia życia może prowadzić do trwałych następstw, skutkujących ograniczeniem sprawności umysłowej i fizycznej. Dlatego w każdym przypadku podejrzenia zakażenia OUN konieczna jest natychmiastowa konsultacja lekarska i w razie potwierdzenia wstępnego rozpoznania podjęcie szybkiego leczenia i hospitalizacja. Najczęstszą postacią zakażenia OUN jest zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (ZOMR). Może być wywoływane przez wirusy, bakterie, grzyby i pasożyty, jednak najpoważniejszym problemem epidemiologicznym i klinicznym są zakażenia bakteryjne ze względu na częstość ich występowania, ciężkość przebiegu oraz coraz bardziej ograniczone możliwości skutecznego leczenia z powodu narastającej oporności bakterii na antybiotyki. Z danych epidemiologicznych wynika, że ZOMR mimo rozwoju medycyny jest w dalszym ciągu jedną z najczęstszych przyczyn zachorowalności i śmiertelności u dzieci.

W okresie noworodkowym i wczesnym niemowlęcym w bakteryjnych zakażeniach inwazyjnych tzn. rozwijających się w fizjologicznie jałowych miejscach organizmu, a więc także w OUN, dominują *Streptococcus agalactiae*, *Escherichia coli* i *Listeria monocytogenes*. Przebieg tych zakażeń jest ciężki, najczęściej związany z zakażeniem uogólnionym, a śmiertelność w tych przypadkach przekracza 50%. Po tym okresie dominują *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae* i *Haemophilus influenzae* (patrz rozdz. 2.1).

Występowanie inwazyjnego zakażenia bakteryjnego jest na tyle częste, że lekarz pierwszego kontaktu powinien podejrzewać ten typ zakażenia u każdego pacjenta z szybko narastającą gorączką, sztywnością karku, pobudzeniem lub zaburzeniami świadomości. Rozpoznanie ZOMR u chorych w wieku powyżej 1-2 lat zwykle nie jest trudne, ponieważ choroba najczęściej przebiega gwałtownie, z wysoką gorączką, bólami głowy i charakterystycznym zespołem objawów oponowych. Objawy te mogą się szybko nasilać, prowadząc do zaburzeń świadomości, a w najcięższych przypadkach do śpiączki i zgonu. Natomiast u niemowląt rozpoznanie ZOMR może być trudne, ponieważ objawy są na ogół nietypowe (m.in. zaburzenia łaknienia i drgawki) i mogą sugerować inne schorzenia. Również początkowe rozpoznanie sepsy, niezależnie od wieku pacjenta, może być niezwykle trudne ze względu na brak charakterystycznych początkowych objawów i zachowaną świadomość pacjenta nawet w bardzo zaawansowanym stadium zakażenia.

Rzadziej mamy do czynienia z ropniem mózgu i infekcyjnym zakrzepowym zapaleniem żył łączących ognisko zakażenia w obrębie głowy z zatoką jamistą lub ropniem podtwardówkowym.

W każdym przypadku tak ciężkiego zakażenia, jakim jest ostre bakteryjne zakażenie OUN decydujące znaczenie rokownicze ma natychmiastowe wdrożenie skutecznego leczenia przeciwbakteryjnego. Z tego względu bardzo istotne jest precyzyjne rozpoznanie czynnika etiologicznego, ponieważ tylko wówczas możliwe jest prawidłowe i skuteczne leczenie przyczynowe, a także w przypadku niektórych bakteryjnych zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych (BZOMR) zapobieganie kolejnym zakażeniom w otoczeniu poprzez szczepienia lub profilaktyczne stosowanie antybiotyków (chemioprophylaktyka).

Należy także pamiętać, że również wirusy, grzyby i pasożyty mogą stanowić etiologię zakażeń ośrodkowego układu nerwowego. Są one przyczyną tzw. aseptycznego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, które może być także wywołane przez bakterie takie jak *Treponema pallidum* i *Borrelia burgdorferi* oraz *Leptospira* spp a także *Mycobacterium tuberculosis*. U pacjentów z aseptycznym zapaleniem opon poza kilkudniową gorączką obserwujemy sztywność karku, ból głowy, nudności i światłowstręt. U pacjentów nie obserwuje się splątania i zaburzenia świadomości a przebieg jest zazwyczaj łagodniejszy niż w przypadku ostrego bakteryjnego zapalenia opon. Najczęstszą etiologię stanowią wirusy, z których wiodącą rolę odgrywają enterowirusy, parechowirusy, wirusy Herpes, Arbowirusy, wirus świnki oraz HIV. Spośród czynników grzybiczych wiodącymi są *Cryptococcus neoformans*, *Coccidioides immitis* oraz *Fusarium* spp., z rodzaju *Candida* - *Candida albicans*. W regionie Pacyfiku i południowo-wschodniej Azji występują endemiczne zarażenia nicieniem *Angiostrongylus cantonensis*. Objawy obejmują ostry ból głowy, parestezje i niekiedy porażenie nerwu twarowego. Różnicowanie między ostrym bakteryjnym a aseptycznym zapaleniem ośrodkowego układu nerwowego może być bardzo trudne i wymaga starannej oceny klinicznej (badanie podmiotowe i przedmiotowe) a także rozbudowanej diagnostyki laboratoryjnej.

W przedstawionej publikacji zawarte są zarówno zagadnienia klinicznej, laboratoryjnej jak i obrazowej diagnostyki zakażeń OUN. Znajdują się także odniesienia do diagnostyki *post mortem*.

2. CHARAKTERYSTYKA GŁÓWNYCH CZYNNIKÓW ETIOLOGICZNYCH ZAKAŻEŃ OŚRODKOWEGO UKŁADU NERWOWEGO (OUN)

Etiologia zakażeń OUN zależy od wieku chorego, chorób współistniejących, stanu odporności organizmu, lokalizacji geograficznej oraz miejsca zachorowania (pozaszpitalne vs szpitalne) [1,2].

2.1. Bakteryjne czynniki zakażeń OUN

2.1.1. *Neisseria meningitidis*

Neisseria meningitidis, Gram-ujemna dwójka (meningokok, dwójka zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych) jest chorobotwórczą bakterią, wywołującą m.in. ciężkie zakażenia inwazyjne takie jak ZOMR i sepsa (posocznica), określane jako inwazyjna choroba meningokokowa (IChM) [1,2,3]. *N. meningitidis* może również wywoływać inne dużo rzadsze krwiopochodne infekcje w fizjologicznie jałowych miejscach organizmu: ropne zapalenie stawów, zapalenie płuc, zapalenie osierdzia i wsierdzia, szpiku kostnego oraz zakażenia miejscowe jak zapalenie spojówek, ucha środkowego, gardła, zakażenia w obrębie układu moczowo-płciowego i miednicy małej [2]. Bakteria ta wzbudza duży niepokój, ponieważ choroba może przebiegać piorunująco, a ponadto zakażenia mogą występować nie tylko sporadycznie, endemicznie i hiperendemicznie, ale również w postaci ognisk epidemicznych, epidemii i pandemii [2,3]. Ze względu na różnice antygenowe wielocukrów otoczkowych szczepy *N. meningitidis* podzielono na 12 grup serologicznych: A, B, C, X, Y, Z, W, E, H, I, K i L, z których sześć (A, B, C, W, X i Y) odpowiada za większość zakażeń na całym świecie [4].

Pod względem objawów klinicznych ZOMR wywoływane przez *N. meningitidis* zasadniczo nie różni się od innych bakteryjnych ZOMR. Częstym objawem sepsy meningokokowej, ale mogącym występować również w przypadku zakażeń innymi czynnikami etiologicznymi, jest wysypka krwotoczna, pojawiająca się u około 10-50% chorych. Niekiedy w postaci piorunującej choroby występują wylewy do nadnerczy (zespół Waterhouse-Friderichsena), będące niekorzystnym czynnikiem rokowniczym [2,5,6]. Zakażenia meningokokowe występują we wszystkich grupach wiekowych, ale zapadalność jest najwyższa u dzieci w pierwszym roku życia [2,3].

Źródło zakażenia. Wyłącznym źródłem zakażenia jest człowiek, zarówno chory jak i bezobjawowy nosiciel. Meningokoki kolonizują jamę nosowo-gardłową [2,7].

Transmisja. Meningokoki przenoszone są drogą kropelkową lub przez kontakt bezpośredni z wydzieliną z górnych dróg oddechowych [8]. Szerzenie się choroby meningokokowej odbywa się zazwyczaj za pośrednictwem bezobjawowych nosicieli (rzadziej pomiędzy osobami, które zachorowały) [8-10]. Nosicielstwo może utrzymywać się przez wiele miesięcy. Nosiciele mogą stanowić 2-25% populacji, ale w środowiskach zamkniętych ich odsetek może sięgać 40-80% [7,11].

Okres wylegania IChM wynosi 2-10 dni, na ogół jednak jest to okres 3-5 dni. Choroba może mieć przebieg piorunujący, prowadząc w ciągu kilku godzin do zgonu. Połowa zgonów na IChM występuje w czasie 24 godzin od pojawienia się pierwszych objawów [6]. Najwięcej zachorowań wywołanych przez *N. meningitidis* obserwuje się u młodszych dzieci (zwłaszcza w pierwszym roku życia) i młodzieży, a największy odsetek nosicieli występuje u osób w wieku od 15 do 24 lat [2,3,7,11,12]. Śmiertelność wynosi około 10-13%, ale w przypadku wystąpienia sepsy i wstrząsu septycznego może sięgać 80% [2,6,13].

Ogniska epidemiczne i epidemie. Historycznie, epidemie wywoływane były głównie przez szczepy z grupy serologicznej A [2,3]. Największe epidemie, dotychczas wywoływane przez tę grupę serologiczną miały miejsce w tzw. afrykańskim „pasie zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych” (meningitis belt) rozciągającym się na południe od Sahary [2,3]. Sytuacja w Afryce zmieniła się radykalnie po wprowadzeniu masowych szczepień koniugowaną szczepionką przeciw meningokokom serogrupy A [14,15,16]. Szczepy innych grup serologicznych są najczęściej związane z zachorowaniami sporadycznymi, ale mogą również wywoływać ogniska epidemiczne i epidemie [2,3,17-20].

Zapadalność. W Europie zapadalność wynosi około 1/100 000, a w Polsce od wielu lat jest na poziomie ok. 0,5/100 000. Należy jednak podkreślić, że zapadalność na IChM znacząco spadła podczas epidemii COVID (zespół ostrej niewydolności oddechowej spowodowany przez SARS-CoV-2), tak jak to miało miejsce w innych krajach [21,22]. Wprowadzenie w wielu

krajach masowych szczepień za pomocą różnych koniugowanych szczepionek przeciw meningokokom serogrupy A, C, W, Y i białkowych przeciw meningokokom serogrupy B, ograniczyło bardzo poważnie liczbę przypadków IChM, wywoływanych przez izolaty należące do tych właśnie grup serologicznych [14-16,23-25].

Oporność na leki przeciwbakteryjne. Oporność *N. meningitidis* na antybiotyki stosowane w terapii i profilaktyce IChM jest zjawiskiem rzadkim [26]. Narasta natomiast liczba szczepów z obniżoną wrażliwością na penicylinę, która jest wynikiem zmian w białku wiążącym penicylinę, PBP2 (ang. penicillin-binding proteins – PBPs) w następstwie zmian w genie *penA* [27,28]. Szacuje się, że ogółem około 33% meningokoków ma zmiany w genie *penA*, ale występują duże różnice pomiędzy krajami (np. 88% we Włoszech i 6% w Szwecji) [29]. Innym rzadkim mechanizmem oporności na penicylinę jest wytwarzanie beta-laktamazy, prawdopodobnie w konsekwencji przekazania genów odpowiedzialnych za produkcję enzymu od szczepów *Neisseria gonorrhoeae* [28,30-32]. Ponadto, w ostatnich latach pojawiły się w kilku krajach meningokoki serogrupy Y z kompleksu klonalnego cc23, posiadające gen beta-laktamazy ROB-1, który najprawdopodobniej w wyniku transformacji genetycznej został nabyty od *Haemophilus influenzae* [33,34].

Należy podkreślić, że w 2012 roku pojawiły się we Francji szczepy nie tylko z obniżoną wrażliwością na penicylinę, ale również na cefalosporyny trzeciej generacji. Wszystkie one posiadały taki sam allel genu *penA* (*penA* 327), pochodzącego od *Neisseria gonorrhoeae*. Ponad 90% szczepów z allelem *penA* 327 charakteryzowało graniczne najmniejsze stężenie hamujące (MIC) cefotaksymu 0,125 mg/L [35].

Równie rzadkim mechanizmem oporności jest oporność wysokiego stopnia na rifampicynę związana z mutacją w genie *rpoB* i w konsekwencji zmniejszonym powinowactwem β -polimerazy RNA do rifampicyny oraz oporność na ciprofloksacynę w następstwie mutacji w genie *gyrA* [36,37]. Te dwa ostatnie leki nie są stosowane w leczeniu IChM, a jedynie w chemioprophylaktyce IChM.

Nadzór nad inwazyjną chorobą meningokokową w Polsce

W Polsce nadzór nad inwazyjną chorobą meningokokową prowadzony jest dwutorowo przez dwa podmioty. Nadzór obowiązkowy, na podstawie zgłoszeń lekarzy i laboratoriów identyfikujących przypadek IChM, prowadzi Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego Państwowy Zakład Higieny-Państwowy Instytut Badawczy (NIZP PZH-PIB). Natomiast za monitorowanie zakażeń meningokokowych potwierdzonych laboratoryjnie i dogłębną charakterystykę szczepów odpowiada Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Diagnostyki Bakteryjnych Zakażeń Ośrodkowego Układu Nerwowego (KOROUN) w Narodowym Instytucie Leków.

Bieżące dane epidemiologiczne dotyczące IChM są publikowane przez obie instytucje na ich stronach internetowych NIZP-PZH PIB (<https://www.pzh.gov.pl/serwisy-tematyczne/meldunki-epidemiologiczne/>) i KOROUN (<https://koroun.nil.gov.pl/dane-epidemiologiczne/>).

Piśmiennictwo

1. Pace D, Pollard AJ. Meningococcal disease: clinical presentation and sequelae. *Vaccine* 2012; 30 (Suppl 2): B3–9 .
2. Rosenstein NE, Perkins BA, Stephens DS i wsp. Meningococcal disease. *N Engl J Med* 2001; 344: 1378-1388.
3. Stephens DS, Greenwood B, Brandtzaeg P. Epidemic meningitis, meningococcaemia, and *Neisseria meningitidis*. *Lancet*, 2007; 369, 2196-2210.
4. Harrison LH, Pelton SI, Wilder-Smith A i wsp. The global meningococcal initiative: recommendations for reducing the global burden of meningococcal disease. *Vaccine* 2011; 29 :3363–3371 .
5. Brandtzaeg, P, Kieruf P, Gaustad P i wsp. Plasma endotoxin as predictor of multiple organ failure and death in systemic meningococcal disease. *J Infect Dis* 1989; 159: 195-204.
6. Van Deuren M, Brandtzaeg P, Van der Meer JW. Update on meningococcal disease with emphasis on pathogenesis and clinical management. *Clin Microbiol Rev*, 2000; 13; 144-166.
7. Broome CV. The carrier state: *Neisseria meningitidis*. *J Antimicrobial Chemother* 1986; 18 (Suppl. A): 25-34.
8. Centers for Disease Control and Prevention. Prevention and Control of Meningococcal Disease. Recommendations of the Advisory Committee on Immunization Practices. *MMWR* 2013;62,2:1-28.

9. Cartwright KA, Stuart JM, Robinson PM. Meningococcal carriage in close contacts of cases. *Epidemiol Infect.* 1991;106: 133-141.
10. Kristiansen BE, Tveten Y, Jenkins A. Which contacts of patients with meningococcal disease carry the pathogenic strain of *Neisseria meningitidis*? A population based study. *BMJ.* 1998;317: 621.
11. Trotter CL, Gay NJ, Edmunds WJ. The natural history of meningococcal carriage and disease. *Epidemiol Infect.* 2006;134: 556-566.
12. Christensen H, May M, Bowen L i wsp. Meningococcal carriage by age: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis.* 2010;10: 853-861.
13. Skoczyńska A, Kadłubowski M, Knap J i wsp. Invasive meningococcal disease associated with very high case fatality rate in the North-West of Poland. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2006; 46: 230-235.
14. Daugla DM, Gami JP, Gamougam K i wsp. Effect of a serogroup A meningococcal conjugate vaccine (PsA-TT) on serogroup A meningococcal meningitis and carriage in Chad: a community study [corrected]. *Lancet* 2014; 383(9911): 40–47 .
15. Gamougam K, Daugla DM, Toralta J i wsp. Continuing effectiveness of serogroup A meningococcal conjugate vaccine, Chad, 2013. *Emerg Infect Dis* 2015; 21: 115–18 .
16. Kristiansen PA, Ba AK, Sanou I i wsp. Persistent low carriage of serogroup A *Neisseria meningitidis* two years after mass vaccination with the meningococcal conjugate vaccine, MenAfriVac. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 1–11 .
17. Skoczyńska A, Wasko I, Kuch A i wsp. Outbreak of invasive meningococcal disease in Goleniów County, north-west Poland, March 2009. *Euro Surveill.* 2010;15: pii=19646.
18. Lucidarme J, Scott KJ, Ure R i wsp. An international invasive meningococcal disease outbreak due to a novel and rapidly expanding serogroup W strain, Scotland and Sweden, July to August 2015. *EuroSurveill.* 2016;21: 30395.
19. Taha MK, Achtman M, Alonso JM i wsp. Serogroup W135 meningococcal disease in Hajj pilgrims. *Lancet.* 2000;356: 2159.
20. Mandal S, Wu HM, MacNeil JR i wsp. Prolonged university outbreak of meningococcal disease associated with a serogroup B strain rarely seen in the United States. *Clin Infect Dis.* 2013;57: 344-348.
21. Brueggemann AB, Jansen van Rensburg MJ, Shaw D i wsp. Changes in the incidence of invasive disease due to *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae*, and *Neisseria meningitidis* during the COVID-19 pandemic in 26 countries and territories in the Invasive Respiratory Infection Surveillance Initiative: a prospective analysis of surveillance data. *Lancet Digit Health.* 2021; 3: e360-e370.
22. Shaw D, Abad R, Amin-Chowdhury Z i wsp. Trends in invasive bacterial diseases during the first 2 years of the COVID-19 pandemic: analyses of prospective surveillance data from 30 countries and territories in the IRIS Consortium. *Lancet Digit Health.* 2023; S2589-7500(23)00108-5.
23. Campbell H, Borrow R, Salisbury D, Miller E. Meningococcal C conjugate vaccine: the experience in England and Wales. *Vaccine.* 2009;27 Suppl 2: B20-9.
24. Miller E, Salisbury D, Ramsay M. Planning, registration, and implementation of an immunisation campaign against meningococcal serogroup C disease in the UK: a success story. *Vaccine* 2001; 20 Suppl: S58–67.
25. Parikh SRAN, Beebeejaun K, Campbell H i wsp. Early evidence of effectiveness against group B meningococcal disease and population impact of a reduced infant schedule with 4CMenB vaccine in England. *Lancet* 2016;338: 2775–2782 .
26. Bai X, Borrow R, Bukovski S i wsp. Prevention and control of meningococcal disease: Updates from the Global Meningococcal Initiative in Eastern Europe. *J Infect.* 2019;79: 528-541.
27. Acevedo R, Bai X, Borrow R i wsp. The global meningococcal initiative meeting on prevention of meningococcal disease worldwide: epidemiology, surveillance, hypervirulent strains, antibiotic resistance and high-risk populations. *Expert Rev Vaccines* 2019; 18: 15–30.
28. Antignac A, Boneca IG, Rousselle JC i wsp. Correlation between alterations of the penicillin-binding protein 2 and modifications of the peptidoglycan structure in *Neisseria meningitidis* with reduced susceptibility to penicillin G. *J Biol Chem* 2003; 278: 31529–1535.
29. Taha MK, Vazquez JA, Hong E i wsp. Target gene sequencing to characterize the penicillin G susceptibility of *Neisseria meningitidis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2007; 51: 2784–2792.
30. Backman A, Orvelid P, Vazquez JA i wsp. Complete sequence of a beta-lactamase-encoding plasmid in *Neisseria meningitidis*. *Antimicrob Agents Chemother* 2000; 44: 210–212.
31. Botha P. Penicillin-resistant *Neisseria meningitidis* in southern Africa. *Lancet* 1988; 1: 54.

32. Vazquez JA, Enriquez AM, De la Fuente L i wsp. Isolation of a strain of beta-lactamase-producing *Neisseria meningitidis* in Spain. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1996; 15: 181–182.
33. Tsang RSW, Ahmad T, Tyler S i wsp. Whole genome typing of the recently emerged Canadian serogroup W *Neisseria meningitidis* sequence type 11 clonal complex isolates associated with invasive meningococcal disease. *Int J Infect Dis* 2018; 69: 55–62.
34. Hong E, Deghmane AE, Taha MK. Acquisition of beta-lactamase by *Neisseria meningitidis* through possible horizontal gene transfer. *Antimicrob Agents Chemother* 2018; 62: e00831-18.
35. Deghmane AE, Hong E, Taha MK. Emergence of meningococci with reduced susceptibility to third-generation cephalosporins. *J Antimicrob Chemother* 2017; 72: 95–98.
36. Murakami KS, Masuda S, Campbell EA i wsp. Structural basis of transcription initiation: an RNA polymerase holoenzyme-DNA complex. *Science* 2002; 296: 1285–1290.
37. Hong E, Thulin Hedberg S, Abad R i wsp. Target gene sequencing to define the susceptibility of *Neisseria meningitidis* to ciprofloxacin. *Antimicrob Agents Chemother* 2013; 57: 1961–1964.

2.1.2. *Streptococcus pneumoniae*

Streptococcus pneumoniae (pneumokok, dwoinka zapalenia płuc) to Gram-dodatnia, katalazo-ujemna bakteria, wytwarzająca otoczkę wielocukrową. Różnice w jej budowie prowadzą do odrębności antygenowych, na podstawie których wyróżnia się obecnie ponad 100 serotypów otoczkowych, a liczba ta stale się powiększa. Otoczką stanowi jeden z najważniejszych czynników zjadliwości pneumokoków, a przeciwciała przeciwko wielocukrom otoczkowym są przeciwciałami ochronnymi. Udział poszczególnych serotypów w zakażeniach jest zróżnicowany między grupami wiekowymi pacjentów, jednostkami chorobowymi i geograficznie [1-7]. Zakażenia *S. pneumoniae* należą do najczęstszych przyczyn zachorowalności i umieralności w skali świata [8]. Do wiodących chorób inwazyjnych wywoływanych przez pneumokoki należą zapalenie płuc z bakteriami, sepsa i ZOMR, określane mianem inwazyjnej choroby pneumokokowej, IChP. Drobnoustrój ten odpowiada również za zakażenia nieinwazyjne, z których najczęstsze to ostre zapalenie ucha środkowego (OZUŚ), zatok, zapalenie płuc, zaostrzenia w przewlekłej obturacyjnej chorobie płuc (POChP) oraz zapalenie spojówek [9,10]. Śmiertelność w przebiegu sepsy jest podobna do opisywanej dla pneumokokowego ZOMR i wynosi średnio 17-25%. *S. pneumoniae*, jako czynnik etiologiczny ZOMR dużo częściej niż inne bakterie wywołuje poważne powikłania i może odpowiadać za nawrotowe ZOMR. Najwięcej inwazyjnych zachorowań występuje w skrajnych grupach wiekowych, tj. u dzieci do 2 lat oraz u osób powyżej 65 lat [9,11,12].

Źródło zakażenia. U człowieka naturalnym miejscem bytowania pneumokoków jest jama nosowo-gardłowa, a kolonizacja dotyczy około 5-10% zdrowych dorosłych i 20-60% zdrowych dzieci [9,11].

Transmisja. Pneumokoki są przenoszone drogą kropelkową lub przez kontakt bezpośredni [9,11].

Zapadalność jest bardzo zróżnicowana w zależności od wieku i innych czynników ryzyka. U dzieci poniżej pięciu lat, pneumokokowe ZOMR jest poważnym problemem zdrowia publicznego; zapadalność w tej grupie wiekowej wynosi 17/100.000 [13]. Wprowadzenie do powszechnego użycia koniugowanych szczepionek przeciw pneumokokom bardzo poważnie ograniczyło liczbę przypadków IChP, w tym ZOMR [10,14-17].

Oporność na leki przeciwbakteryjne. Poważny problem ze względu na konsekwencje kliniczne i epidemiologiczne stanowi oporność szczepów *S. pneumoniae* na penicylinę, łącząca się zazwyczaj z wielolekoopornością. W takiej sytuacji poza opornością na β -laktamy szczepki mogą być odporne na tetracykliny, makrolidy, linkozamidy, kotrimoksazol i chloramfenikol, co ogranicza znacznie możliwości terapeutyczne [18-23]. Oporność na β -laktamy u *S. pneumoniae* jest wynikiem różnego stopnia zmian w białkach wiążących penicylinę (PBP), biorących udział w biosyntezie ściany komórkowej i jednocześnie będących celem działania tych leków. W wyniku tego procesu powstają białka o tzw. mozaikowej strukturze, kodowane przez geny wykazujące cechy genów zarówno dawcy, jak i biorcy DNA, niekiedy prezentujące wysoką homologię sekwencji z odpowiednimi genami komensalnych gatunków paciorkowców, zwłaszcza *S. oralis* lub *S. mitis*. Zmiany te, powodujące różny stopień oporności na penicylinę i cefalosporyny, mogą zachodzić w 3 z 5 wysokocząsteczkowych pneumokokowych PBP, to jest w PBP1A, 2B i 2X [24,25].

Nadzór nad inwazyjną chorobą pneumokokową w Polsce

W Polsce nadzór nad inwazyjną chorobą pneumokokową, podobnie jak w przypadku inwazyjnych zakażeń meningokokowych prowadzą Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego Państwowy Zakład Higieny-Państwowy Instytut Badawczy (NIZP-PZH-PIB) oraz Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Diagnostyki Bakteryjnych Zakażeń Ośrodkowego Układu Nerwowego (KOROUN) w Narodowym Instytucie Leków.

Bieżące dane epidemiologiczne dotyczące IChP publikowane przez obie instytucje są dostępne na stronach internetowych NIZP-PZH PIB (<https://www.pzh.gov.pl/serwisy-tematyczne/meldunki-epidemiologiczne/>) i KOROUN (<https://koroun.nil.gov.pl/dane-epidemiologiczne/>).

Piśmiennictwo

1. AlonsoDeVelasco E, Verheul A, Verhoef J, Snippe H. *Streptococcus pneumoniae*: virulence factors, pathogenesis, and vaccines. *Microbiol Rev* 1995;59: 591–603.
2. WHO. Pneumococcal conjugate vaccines in infants and children under 5 years of age: WHO position paper – February 2019. *WER*. 2019; 94: 85-104.
3. Austrian R. The enduring Pneumococcus: unfinished business and opportunities for the future. *Microb Drug Resist* 1997; 3: 111-115.
4. Austrian R. Some observations on the pneumococcus and on the current status of pneumococcal disease and its prevention. *Rev Infect Dis* 1981;3(Suppl): S1–S17.
5. Bentley SD, Aanensen DM, Mavroidi A i wsp. Genetic analysis of the capsular biosynthetic locus from all 90 pneumococcal serotypes. *PLoS Genet* 2006;2: e31.
6. Aanensen DM, Mavroidi A, Bentley SD i wsp. Predicted functions and linkage specificities of the products of the *Streptococcus pneumoniae* capsular biosynthetic loci. *J Bacteriol* 2007;189: 7856-7876.
7. Ganaie F, Saad JS, McGee L i wsp. A new pneumococcal capsule type, 10D, is the 100th serotype and has a large *cps* fragment from an oral *Streptococcus*. *mBio* 2020; 11.
8. GBD 2019 Antimicrobial Resistance Collaborators. Global mortality associated with 33 bacterial pathogens in 2019: a systematic analysis for the Global Burden of Disease Study 2019. *Lancet* 2022; 400: 2221–2248.
9. Weiser JN, Ferreira DM, Paton JC. *Streptococcus pneumoniae*: transmission, colonization and invasion. *Nat Rev Microbiol* 2018;16: 355-367.
10. WHO. Pneumococcal vaccines WHO position paper-2012. *Wkly Epidemiol Rec*. 2012;87: 129-144.
11. Wyllie AL, Wijmenga-Monsuur AJ, van Houten MA i wsp. Molecular surveillance of nasopharyngeal carriage of *Streptococcus pneumoniae* in children vaccinated with conjugated polysaccharide pneumococcal vaccines. *Sci Rep* 2016;6: 23809.
12. Cundell D, Masure HR, Tuomanen EI. The molecular basis of pneumococcal infection: a hypothesis. *Clin Infect Dis* 1995;21 (Suppl. 3): S204-212.
13. O'Brien KL, Wolfson LJ, Watt JP i wsp. Burden of disease caused by *Streptococcus pneumoniae* in children younger than 5 years: global estimates. *Lancet* 2009;374: 893–902.
14. Whitney CG, Farley MM, Hadler J i wsp. Decline in invasive pneumococcal disease after the introduction of protein-polysaccharide conjugate vaccine. *N Engl J Med* 2003;348: 1737-1746.
15. Andrejko K, Ratnasiri B, Hausdorff WP i wsp. Antimicrobial resistance in paediatric *Streptococcus pneumoniae* isolates amid global implementation of pneumococcal conjugate vaccines: a systematic review and meta-regression analysis. *Lancet Microbe* 2021;2: e450-e60.
16. Iwata S, Takata M, Morozumi M i wsp. Drastic reduction in pneumococcal meningitis in children owing to the introduction of pneumococcal conjugate vaccines: Longitudinal analysis from 2002 to 2016 in Japan. *J Infect Chemother* 2021;27: 604–612.
17. Schuck-Paim C, Taylor RJ, Alonso WJ i wsp. Effect of pneumococcal conjugate vaccine introduction on childhood pneumonia mortality in Brazil: a retrospective observational study. *Lancet Glob Health* 2019;7: e249–e256.

18. Chenoweth C, Lynch JP. Antimicrobial resistance: implications for managing respiratory failure. *Curr Opin Pulm Med* 1997;3: 159–169.
19. Doern GV, Pfaller MA, Kugler K i wsp. Prevalence of antimicrobial resistance among respiratory tract isolates of *Streptococcus pneumoniae* in North America: 1997 results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program. *Clin Infect Dis* 1998;27: 764–770.
20. Jones RN, Low DE, Pfaller MA. Epidemiologic trends in nosocomial and community-acquired infections due to antibiotic-resistant gram-positive bacteria: The role of streptogramins and other newer compounds. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;33: 101–112.
21. Chenoweth CE, Saint S, Martinez F i wsp. Antimicrobial resistance in *Streptococcus pneumoniae*: Implications for patients with community-acquired pneumonia. *Mayo Clin Proc.* 2000;75: 1161–1168.
22. Liñares J, Ardanuy C, Pallares R i wsp. Changes in antimicrobial resistance, serotypes and genotypes in *Streptococcus pneumoniae* over a 30-year period. *Clin Microbiol Infect* 2010;16: 402–410.
23. Lynch J, Zhanel G. *Streptococcus pneumoniae*: does antimicrobial resistance matter? *Semin Respir Crit Care Med* 2009;30: 210–238.
24. Klugman KP. Pneumococcal resistance to antibiotics. *Clin Microbiol Rev* 1990;3: 171-196.
25. Hakenbeck R, Brückner R, Denapaite D, Maurer P. Molecular mechanisms of β -lactam resistance in *Streptococcus pneumoniae*. *Future Microbiol.* 2012;7: 395-410.

2.1.3. *Haemophilus influenzae*

Bakterie z gatunku *Haemophilus influenzae* to drobne, pleomorficzne, niewykazujące ruchu, Gram-ujemne pałeczki lub ziarniako-pałeczki. Niektóre szczepy wytwarzają otoczkę, której odmienność antygenowa stanowi podstawę do podziału tego gatunku na 6 typów serologicznych (a-f). Przeciwciała przeciwko polisacharydowi otoczkowemu serotypu b mają właściwości ochronne, co zostało wykorzystane do stworzenia szczepionki przeciw Hib (patrz rozdział dotyczący immunoprofilaktyki).

Historycznie, w dobie przed szczepieniami *H. influenzae* serotypu b (Hib) był przyczyną przeważającej większości ciężkich inwazyjnych zakażeń u dzieci poniżej 5 lat (najwięcej zachorowań występowało pomiędzy 4 m.ż. a 24 m.ż.). Serotyp ten odpowiedzialny był za ponad 90% zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych wywoływanych przez ten gatunek, a także inne zakażenia o charakterze inwazyjnym takie jak sepsa, zapalenie płuc, zapalenie nagłośni, zapalenie kości i stawów oraz tkanki podskórnej. W krajach, które wprowadziły szczepienia masowe (Polska od 2007 roku) uzyskano redukcję zachorowań do pojedynczych przypadków. W erze po szczepionce przeciw Hib, zaobserwowano wzrost liczby zakażeń inwazyjnych wywoływanych przez szczepy nieotoczkowe (NTHi) oraz izolaty innych serotypów jak Hie, Hif i Hia, aczkolwiek to NTHi jest główną przyczyną zakażeń inwazyjnych w Europie i na świecie [1-4]. Wśród zakażeń nieinwazyjnych wywoływanych przez ten gatunek, przede wszystkim przez NTHi, można wymienić ostre zapalenie ucha środkowego, zatok i spojówek oraz zaostrzenia POChP.

Źródło zakażenia. Wyłącznym źródłem zakażenia jest człowiek, zarówno chory jak i bezobjawowy nosiciel. *Haemophilus influenzae* kolonizuje jamę nosowo-gardłową człowieka.

Transmisja. Bakterie te są przenoszone drogą kropelkową lub przez kontakt bezpośredni. Ogólnie określa się, że od 25 do 80% zdrowej populacji jest nosicielami szczepów z gatunku *H. influenzae*; u małych dzieci odsetek ten jest najwyższy i wynosić może 60-80%.

Zapadalność. Przed wprowadzeniem masowych szczepień przeciw *H. influenzae* typu b łączna roczna średnia częstość występowania inwazyjnej choroby Hib u dzieci w wieku poniżej pięciu lat została oszacowana na 40/100 000 populacji w Azji, 41/100 000 populacji w Europie, 60/100 000 ludności w Ameryce Łacińskiej i 88/100 000 w USA, a drobnoustrój ten był najczęstszym czynnikiem etiologicznym bakteryjnych pozaszpitalnych ZOMR [5]. W krajach, które wprowadziły powszechne szczepienia dzieci przeciw Hib, zakażenia inwazyjne wywoływane przez ten drobnoustrój zostały prawie całkowicie wyeliminowane. Szczepienia wpłynęły również na zmniejszenie poziomu nosicielstwa Hib w całej populacji.

Oporność na leki przeciwbakteryjne. Z klinicznego punktu widzenia najważniejszymi mechanizmami oporności występującymi u *Haemophilus influenzae* jest oporność na antybiotyki beta-laktamowe związana z produkcją β -laktamazy lub/i zmianami w białkach wiążących penicylinę PBP3. Wg danych KOROUN za lata 1997-2021 wśród szczepów izolowanych z zakażeń inwazyjnych oporność na ampicylinę dotyczyła 12% szczepów i związana była głównie z produkcją beta-laktamazy. Prawie wszystkie inwazyjne izolaty *H. influenzae* (99%) były wrażliwe na cefalosporyny III generacji [6].

Zakażenia inwazyjne wywołane przez *H. influenzae* w Polsce

W Polsce, w roku 2007, szczepienie przeciwko Hib włączono do obowiązkowego kalendarza szczepień. Dane KOROUN, pochodzące z monitorowania inwazyjnych zakażeń *H. influenzae* wskazują, że do roku 2007 Hib odpowiadał za 93% wszystkich zakażeń inwazyjnych wywołanych przez gatunek *H. influenzae*, a w grupie najbardziej narażonej na te zakażenia, czyli u dzieci < 5 lat stanowił 98% odnotowanych przypadków. W 15 lat po wprowadzeniu szczepień obowiązkowych p/Hib obserwuje się redukcję zakażeń wywołanych przez izolaty tego serotypu do pojedynczych przypadków. Kolejną obserwowaną zmianą jest, znaczący wzrost zakażeń wywołanych przez szczepy NTHI, również w grupie dzieci < 5 lat. Należy jednak podkreślić, że obserwowany wzrost liczby zakażeń inwazyjnych wywołanych przez NTHI nie jest następstwem szczepień przeciw Hib. Doświadczenia innych krajów nie wykazały zjawiska zajęcia niszy zwolnionej przez Hib przez inne szczepy z gatunku *H. influenzae*. Przyczyną jest wzrost zainteresowania danymi epidemiologicznymi po rozpoczęciu szczepień obowiązkowych oraz coraz lepsze monitorowanie pozaszpitalnych zakażeń inwazyjnych.

Nadzór nad inwazyjną chorobą wywołaną przez *H. influenzae* w Polsce

W Polsce nadzór nad inwazyjną chorobą wywołaną przez *H. influenzae*, podobnie jak w przypadku inwazyjnych zakażeń meningokokowych i pneumokokowych prowadzą Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego – Państwowy Zakład Higieny Państwowy Instytut Badawczy (NIZP-PZH PIB) oraz Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Diagnostyki Bakteryjnych Zakażeń Ośrodkowego Układu Nerwowego (KOROUN) w Narodowym Instytucie Leków.

Beżące dane epidemiologiczne dotyczące tych zakażeń publikowane przez obie instytucje są dostępne na stronach internetowych NIZP-PZH PIB (<https://www.pzh.gov.pl/serwisy-tematyczne/meldunki-epidemiologiczne/>) i KOROUN (<https://koroun.nil.gov.pl/dane-epidemiologiczne/>).

Piśmiennictwo:

1. Przyjałkowski W, Paul M. Zakażenia ośrodkowego układu nerwowego. W: Szczekliki A, Gajewski P (red.) Interna Szczekliki. Wydawnictwo Medycyna Praktyczna, Kraków, 2022, 2503-2515.
2. Tunkel AR. Central nervous system infections. W: Mandell Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Eight ed. Philadelphia PA: Elsevier; 2015, 1091-1193.
3. Topaz N, Tsang R, Deghmane AE i wsp. Phylogenetic Structure and Comparative Genomics of Multi-National Invasive *Haemophilus influenzae* Serotype a Isolates. *Front Microbiol* 2022; 13: 856884.
4. Whittaker R, Economopoulou A, Dias JG i wsp. Epidemiology of Invasive *Haemophilus influenzae* Disease, Europe, 2007-2014. *Emerg Infect Dis* 2017; 23: 396-404.
5. Factsheet about Invasive *Haemophilus influenzae* disease, European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). <https://www.ecdc.europa.eu/en/invasive-haemophilus-influenzae-disease/facts>, dostęp 17.10.2023.
6. Kiedrowska M, Kuch A, Żabicka D i wsp. β -Lactam resistance among *Haemophilus influenzae* isolates in Poland. *J Glob Antimicrob Resist*. 2017; 11:161-166.

2.1.4. *Streptococcus agalactiae*

Streptococcus agalactiae należy do beta-hemolizujących paciorkowców grupy B (GBS – ang. *Group B Streptococcus*) wg klasyfikacji Lancefield [1]. GBS stanowi istotną przyczynę zakażeń występujących u noworodków i niemowląt, a także osób starszych i dorosłych z chorobami współistniejącymi [2,3].

Badania wskazują, że ok. 15-35% kobiet w ciąży jest nosicielkami GBS w pochwie i/ lub odbyticy; nosicielstwo zazwyczaj jest bezobjawowe, może być przejściowe i zmieniać się w trakcie trwania ciąży [3–5]. U kobiet ciężarnych może prowadzić

do zapalenia dróg moczowych, zapalenia pochwy i sromu lub zapalenia owodni, po porodzie GBS może być przyczyną zapalenia błony śluzowej macicy, zapalenia sutka, zakażenia rany po cięciu cesarskim i zakażeń inwazyjnych [6].

Zakażenia u noworodków i niemowląt, w zależności od przebiegu i czasu wystąpienia pierwszych objawów dzieli się na: wczesny zespół chorobowy (EOD–ang. *early onset disease*) – u noworodków do 6. dnia życia oraz późny zespół chorobowy (LOD–ang. *late onset disease*) – u dzieci od 7. dnia życia do 3 miesiąca życia [7]. W przypadku zakażeń GBS–EOD jest ono wynikiem przeniesienia GBS od matki na dziecko drogą wertykalną podczas porodu (poprzez kontakt błon śluzowych noworodka z drobnoustrojami w drogach rodnych kobiety) bądź przed porodem poprzez zaaspirowanie zakażonego płynu owodniowego przez płód. Do zakażeń LOD dochodzi na skutek horyzontalnej transmisji GBS od matki (kolonizacja – główny czynnik ryzyka) lub innych kontaktów (środowisko szpitalne, domowe). Rzadko choroba LOD pojawia się po 3 miesiącu życia, głównie u wcześniaków lub niemowląt z zespołami niedoborów odporności [8, 9, rozdział 6].

Zarówno EOD jak i LOD wywoływane przez GBS przebiegać mogą pod postacią sepsy, zapaleń płuc i/lub ZOMR i mogą skutkować śmiercią lub trwałymi powikłaniami neurologicznymi. W LOD częściej mogą pojawiać się zapalenia stawów i kości [10].

U dorosłych częstość zakażeń wzrasta u osób starszych i osób z czynnikami ryzyka (cukrzyca, zaburzenia neurologiczne, marskość wątroby). Zakażenia występują najczęściej w postaci zakażeń skóry i tkanek miękkich, urosepsy, zapalenia płuc, rzadziej ZOMR lub zapalenia wsierdza [2].

Na podstawie różnic w strukturze polisacharydów otoczkowych wyróżnia się dziesięć serotypów GBS (Ia, Ib, II-IX). Częstość występowania poszczególnych serotypów otoczkowych jest różna w zależności od regionu geograficznego. W Europie najczęściej spotykanymi serotypami wśród nosicieli są: Ia, Ib, II, III i V a ostatnio również serotyp IX, który zaczął dominować w Danii [11-13]. Metaanaliza przeprowadzona przez Madrid i wsp. wykazała, że za większość przypadków EOD i LOD wywołanych przez GBS na świecie odpowiedzialny był serotyp III [14].

Źródło zakażenia. *S. agalactiae* stanowi część naturalnej mikroflory człowieka, zasiedla drogi moczowo-płciowe oraz końcowy odcinek przewodu pokarmowego. Nosicielstwo GBS może dotyczyć także jamy ustnej i gardła; stwierdza się je u ok. 15-35% kobiet ciężarnych, jak również u kobiet niebędących w ciąży [3,5,15-17].

Okoloporodowa profilaktyka antybiotykowa, mająca na celu zapobieganie wczesnemu wystąpieniu choroby, zmniejsza kolonizację GBS u noworodków podczas porodu; jednakże znaczna część noworodków urodzonych przez matki nosicielki GBS nabywa patogen już w pierwszych tygodniach życia. Kolonizacja noworodków ma miejsce na 40–75% urodzeń pochodzących od matek z nosicielstwem GBS, przy czym 1–2% przypadków prowadzi do choroby inwazyjnej.

Transmisja. W przypadku EOD narażenie na GBS może wystąpić na kilka godzin lub kilka dni przed porodem albo podczas przejścia noworodka przez kanał rodny. Przed urodzeniem GBS jest aspirowany do płuc, eksponowany na powierzchni nabłonka dróg oddechowych a w konsekwencji dochodzi do inwazji naczyń płucnych. Podczas porodu aspiracja i połykanie wydzieliny z pochwy powoduje przyleganie bakterii do błon śluzowych dróg oddechowych i przewodu pokarmowego, a następnie inwazję bakterii do krwioobiegu. W obu przypadkach u noworodków występuje zapalenie płuc lub sepsa. Mechanizmy leżące u podstaw przenoszenia GBS w LOD nie zostały w pełni wyjaśnione; GBS można nabywać na powierzchni błon śluzowych w trakcie porodu lub w okresie poporodowym, od matki lub z innych źródeł. Pokonując bariery nabłonkowe i wrodzoną odporność komórkową, GBS prowadzi do LOD [4].

Uważa się, że mleko matki zakażone GBS, jest potencjalnym nośnikiem GBS i wiąże się z wystąpieniem LOD. Przypadki szpitalnego przenoszenia GBS na oddziałach intensywnej terapii noworodków są rzadko raportowane. Zakażenia GBS mogą czasami nawracać i są zwykle spowodowane przez ten sam serotyp GBS, który spowodował pierwotną infekcję [4].

Zapadalność. Średnią ogólnoswiatową częstość występowania zakażeń GBS u niemowląt w wieku 0–89 dni szacuje się na 0,53 przypadki na 1000 żywych urodzeń [4]. Przed wprowadzeniem profilaktyki okołoporodowej częstość występowania EOD była około czterokrotnie wyższa niż LOD. Podawanie antybiotyków podczas porodu znacznie zmniejszyło częstość występowania EOD [9, 18] bez widocznego wpływu na częstość występowania LOD [19]. Pomimo tego paciorkowce grupy B są nadal bardzo istotnym czynnikiem etiologicznym zakażeń okołoporodowych, zwłaszcza w krajach o niskich dochodach. W 2015 r. wg Seale i wsp. GBS odpowiadał za ok. 320 000 przypadków zakażeń noworodkowych na całym świecie,

powodując 90 000 zgonów i co najmniej 57 000 martwych urodzeń. Największą zapadalność odnotowano w Afryce, gdzie zakażenia te stanowiły 54% inwazyjnych przypadków i 65% wszystkich zgonów płodów/niemowląt [20]. Według szacunków z 2020 r. kolonizacja GBS wystąpiła u około 20 milionów kobiet w ciąży, a liczba inwazyjnych przypadków GBS u niemowląt wyniosła: 393 000 (231 000 EOD i 162 000 LOD). Skutki tych infekcji były poważne, u około 37 100 dzieci rozwinęły się zaburzenia neurorozwojowe o nasileniu od umiarkowanego do ciężkiego. Zakażenia te doprowadziły do śmierci 91 000 dzieci, co stanowiło nieproporcjonalne obciążenie dla Afryki Subsaharyjskiej [4, 21]. Szacuje się, że w skali globalnej wskaźnik śmiertelności przypadków LOD wynosi 7%, wahając się od 4% w krajach wyższych dochodach do 12% w Afryce [14]. Należy zauważyć, że wskaźnik śmiertelności przypadków LOD u wcześniaków urodzonych przed 37. tygodniem ciąży jest w przybliżeniu dwukrotnie większy niż u noworodków urodzonych o czasie (7,8% w porównaniu z 3,4%) i prawie trzykrotnie wyższy w przypadku ZOMR (9,7 w porównaniu z 3,5%) [19].

Piśmiennictwo:

1. Lancefield RC. A serological differentiation of specific types of bovine hemolytic Streptococci (group B). *J Exp Med.* 1934; 59: 441–4.
2. Filkins L, Garner O. Group B Streptococcus Cultures. Leber A, Burnham C-A (red.), *Clinical Microbiology, Procedures Handbook, Fifth Edition*, ASM 2023; tom 1.
3. Hansen SM, Uldbjerg N, Kilian M i wsp. Dynamics of Streptococcus agalactiae colonization in women during and after pregnancy and in their infants. *J Clin Microbiol.* 2004; 42: 83–89.
4. Miselli F, Frabboni I, Di Martino M i wsp. Transmission of Group B Streptococcus in late-onset neonatal disease: a narrative review of current evidence. *Ther Adv Infect Dis.* 2022; 9: 20499361221142732.
5. Khalil MR, Uldbjerg N, Thorsen PB i wsp. Risk-based approach versus culture-based screening for identification of group B streptococci among women in labor. *Int J Gynecol Obstet.* 2019; 144: 187–91.
6. Muller AE, Oostvogel PM, Steegers EA i wsp. Morbidity related to maternal group B streptococcal infections. *Acta Obstet Gynecol Scand.* 2006; 85: 1027–1037.
7. David W. Kimberlin, MD i wsp. Group B streptococcal infections. *Red Book: 2021–2024 Report of the Committee on Infectious Diseases (32nd Edition)*; 2021: 707–713.
8. Hussain SM, Luedtke GS, Baker CJ i wsp. Invasive group B streptococcal disease in children beyond early infancy. *Pediatr Infect Dis J.* 1995; 14: 278–281.
9. Guilbert J, Levy C, Cohen R i wsp. Late and ultra late onset Streptococcus B meningitis: clinical and bacteriological data over 6 years in France. *Acta Paediatr.* 2010; 99:47–51.
10. Puopolo KM, Lynfield R, Cummings JJ; Committee on fetus and newborn; Committee on infectious diseases. Management of Infants at Risk for Group B Streptococcal Disease; *Pediatrics.* 2019; 144: e20191881.
11. Shabayek S, Spellerberg B. Group B Streptococcal Colonization, Molecular Characteristics, and Epidemiology. *Front Microbiol.* 2018; 9: 437.
12. Slotved HC, Kong F, Lambertsen L i wsp. Serotype IX, a proposed new Streptococcus agalactiae serotype. *J Clin Microbiol.* 2007; 45: 2929–36.
13. Slotved HC, Møller JK, Khalil MR i wsp. The serotype distribution of Streptococcus agalactiae (GBS) carriage isolates among pregnant women having risk factors for early-onset GBS disease: a comparative study with GBS causing invasive infections during the same period in Denmark. *BMC Infect Dis.* 2021; 21: 1129.
14. Madrid L, Seale AC, Kohli-Lynch M i wsp. Infant Group B Streptococcal Disease Incidence and Serotypes Worldwide: Systematic Review and Meta-analyses. *Clin Infect Dis.* 2017; 65: S160–S172.
15. Meyn LA, Krohn MA, Hillier SL. Rectal colonization by group B Streptococcus as a predictor of vaginal colonization. *Am J Obstet Gynecol.* 2009; 201: 76.e1–76.e767.
16. Christensen KK, Christensen P. Typing of group B streptococci from the throat and urogenital tract of females. *Scand J Infect Dis.* 1978; 10: 209–212.
17. Van Kassel MN, Janssen SWCM, Kofman S i wsp. Prevalence of group B streptococcal colonization in the healthy non-pregnant population: a systematic review and meta-analysis. *Clin Microbiol Infect.* 2021; 27: 968–980.
18. Edmond KM, Kortsalioudaki C, Scott S i wsp. Group B streptococcal disease in infants aged younger than 3 months: systematic review and meta-analysis. *Lancet* 2012; 379: 547–556.

19. Nanduri SA, Petit S, Smelser C i wsp. Epidemiology of invasive early-onset and late-onset group b streptococcal disease in the United States, 2006 to 2015: multistate laboratory and population-based surveillance. *JAMA Pediatr* 2019; 173: 224–233.
20. Seale AC, Bianchi-Jassir F, Russell NJ i wsp. Estimates of the burden of group B streptococcal disease worldwide for pregnant women, stillbirths, and children. *Clin Infect Dis* 2017; 65: S200–S219.
21. Gonçalves BP, Procter SR, Paul P i wsp. Group B streptococcus infection during pregnancy and infancy: estimates of regional and global burden. *Lancet Glob Health* 2022; 10: e807–e819.
22. Patras KA, Nizet V. Group B Streptococcal Maternal Colonization and Neonatal Disease: Molecular Mechanisms and Preventative Approaches. *Front Pediatr*. 2018; 6: 27.

2.1.5. *Escherichia coli*

Bakterie *Escherichia coli* (*E. coli*) tworzą dużą i zróżnicowaną grupę bakterii, występującą powszechnie w przewodzie pokarmowym ludzi i zwierząt, środowisku i żywności. Kolonizacja przewodu pokarmowego ludzi rozpoczyna się już w ciągu kilku godzin po urodzeniu. Komensalne szczepy rzadko powodują choroby, z wyjątkiem osób o obniżonej odporności lub w przypadku naruszenia fizjologicznej bariery żołądkowo-jelitowej.

Na skutek nabywania różnych czynników zjadliwości szczepy *E. coli* mogą odpowiadać za wiele zakażeń często obarczonych poważnymi powikłaniami. Czynniki wirulencji, przenoszone są najczęściej na ruchomych elementach genetycznych (np. plazmidach, transpozonach) niosących geny kodujące toksyny, struktury promujące adhezję istotną w kolonizacji (fimbrie), zewnątrzkomórkowe polisacharydy (antygeny O i K) i białkowe podjednostki rzęsek (antygen H), które wyznaczają ich serotypy [2,3]. Z uwagi na plastyczny genom ciągle powstające nowe kombinacje czynników wirulencji są rozpowszechniane wśród szczepów, które u wrażliwych gospodarzy powodują rozwój infekcji i nowe objawy kliniczne [4].

Ogólnie infekcje wywoływane przez patogenne *E. coli* dzieli się na: zakażenia jelitowo-żołądkowe oraz zakażenia pozajelitowe – najczęściej w postaci zakażeń dróg moczowych oraz zakażeń inwazyjnych (sepsa, ZOMR). W oparciu o obraz kliniczny i czynniki zjadliwości, patogenne jelitowe klony dzieli się na kilka grup: enteropatogenna *E. coli* (EPEC), enterokrwotoczna *E. coli* (EHEC), enterotoksyczna *E. coli* (ETEC), enteroagregacyjna *E. coli* (EAEC), enteroinwazyjna *E. coli* (EIEC) i adherencyjna *E. coli* (DAEC). Natomiast za zakażenia układu moczowego odpowiadają uropatogenne bakterie *E. coli* (UPEC) [5]. Na potrzeby tych rekomendacji wymienione powyżej grupy nie będą omawiane.

Inwazyjna choroba wywołana przez bakterie *E. coli* obejmuje zakażenia krwi i innych normalnie jałowych miejsc ciała – płynu mózgowo-rdzeniowego, jamy opłucnej, jamy otrzewnowej lub kości i stawów (6).

Spośród znanych ponad 80 różnych serotypów otoczkowych szczepów *E. coli*, tylko kilka z nich posiada zdolność wywoływania chorób pozajelitowych, w tym zakażeń inwazyjnych, najczęstsze z nich to: serotyp K1 zawierający kwas polisialowy, serotyp K4 zawierający chondrotynę oraz serotyp K5 zawierający heparosan. Zdolność ta związana jest najprawdopodobniej z budową otoczki, często identyczną lub podobną strukturalnie i chemicznie do polisacharydów występujących w tkankach ludzkich, zapewniając w ten sposób bakteriom nieimmunogenną ochronę umożliwiającą przeżycie w tkankach ludzkich a tym samym wywoływanie chorób. Dodatkowo obecność otoczki zmniejsza skuteczność białek przeciwdrobnoustrojowych i układu dopełniacza, hamuje fagocytozę, sprzyja przeżyciu wewnątrzkomórkowemu oraz przyczynia się do obrony przed środkami przeciwdrobnoustrojowymi. Epidemiologia typów otoczkowych pozostaje w dużej mierze niezbadana ze względu na brak danych z typowania serologicznego [7].

Poza paciorkowcami grupy B i *L. monocytogenes*, najczęstszymi przyczynami bakteryjnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych u noworodków są pałeczki *E. coli* [8]. Noworodkowe ZOMR o etiologii *E. coli*, stanowi około 30% wszystkich noworodkowych ZOMR o wczesnym początku i jest udokumentowane, jako najczęstsza przyczyna wczesnej sepsy i ZOMR u noworodków z niską masą urodzeniową i wcześniaków [9].

Zakażenia *E. coli* o wczesnym początku (EOD), ze wskaźnikiem śmiertelności przekraczającym 10% stanowią poważny problem [10]. Badania przeprowadzone zarówno w Kanadzie, jak i w USA wykazują rosnącą częstość występowania EOD wywołaną przez *E. coli*, a także wysoki odsetek oporności na ampicylinę i gentamycynę, powszechnie stosowane antybiotyki empirycznie w leczeniu EOD (11). W EOD większość infekcji *E. coli* objawia się zaburzeniami oddychania prowadzonymi

do niestabilności hemodynamicznej, u starszych noworodków może powodować izolowane zapalenie płuc, miejscowe zakażenie skóry i ropnie, bezobjawową bakteriemie i ZOMR [12].

Wśród izolatów *E. coli* wywołujących noworodkowe ZOMR dominują szczepy posiadające polisacharyd otoczkowy K1 (~80%). Ten ważny czynnik zjadliwości pozwala bakteriom przetrwać i namnażać się w przewodzie pokarmowym i poza nim, jak również adaptować do nowego środowiska [13,14]. *E. coli* K1 związany jest również z odmiedniczkowym zapaleniem nerek [15].

Otoczka polisacharydowa typu K1 jest zbudowana z polimeru kwasu sialowego i reaguje krzyżowo z polisacharydami otoczki szczepów *N. meningitidis* serogrupy B. Należy o tym pamiętać stosując testy lateksowe, gdyż ten sam odczynnik wykrywa antygeny obu tych patogenów.

Źródło zakażenia i transmisja. W przypadku infekcji noworodkowych o wczesnym początku – EOD, *E. coli* jest nabywana z dróg rodnych matki w macicy lub podczas przejścia przez kanał rodny [16,17]. W przypadku choroby o późnym początku niemowlę może zakażać się tym drobnoustrojem od matki, w szpitalu lub w wyniku kontaktów społecznych (18,19). Patogeneza ZOMR związanego z *E. coli* K1 nie jest w pełni poznana. Wczesne etapy mogą obejmować kolonizację przewodu pokarmowego, po której następuje translokacja bakterii z jelita cienkiego i okrężnicy do krążenia ogólnoustrojowego. Bakteriemia może prowadzić do sepsy i/lub zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych poprzez przekroczenie bariery krew-mózg. Niewiele wciąż wiadomo na temat częstości występowania kolonizacji okolicy pochwowo/odbytowej patogenną *E. coli* podczas ciąży i jej późniejszych skutków u noworodków. W badaniu Tzu-Hao Liu i wsp. u 35,8% (49/137) kobiet w ciąży stwierdzono kolonizację patogenną *E. coli*. Kolonizacja była powiązana z chorobami noworodków [20].

Zapadalność. Obserwuje się znaczną zmienność w częstości występowania inwazyjnej infekcji noworodków *E. coli* w różnych obszarach geograficznych i krajach. W badaniu przeprowadzonym na 30 oddziałach intensywnej terapii noworodków w Wielkiej Brytanii częstość występowania sepsy EOD i LOD w latach 2005 – 2014 wynosiła odpowiednio 0,12/1000 i 0,33/1000 żywych urodzeń [21]. We włoskim badaniu częstość występowania późnej sepsy *E. coli* u noworodków wynosiła 0,35/1000 żywych urodzeń [22]. W Chinach *E. coli* jest głównym patogenem wywołującym inwazyjne zakażenia noworodków, zwłaszcza w postaci sepsy [23].

W globalnej analizie częstości występowania bakteriemii wywołanej przez bakterie *E. coli* u dorosłych w krajach o wysokich dochodach oszacowano, że współczynnik zachorowalności wynosi 48/100 000, a współczynnik śmiertelności (CFR) wynosi 12,4%. Odnotowano rosnącą zapadalność po 60. roku życia, osiągającą 319/100 000 po 85. roku życia [24].

Piśmiennictwo:

1. Kaper, J., Nataro, J. & Mobley, H. Pathogenic Escherichia coli. Nat Rev Microbiol; 2, 2004; 123–140.
2. Köhler C.D., Dobrindt U. What defines extraintestinal pathogenic Escherichia coli? Int. J. Med. Microbiol., 2011; 301: 642–647.
3. Leimbach A., Hacker J., Dobrindt U.: E. coli as an all-rounder: the thin line between commensalism and pathogenicity. Curr. Top. Microbiol. Immunol., 2013; 358: 3–32.
4. Ahmed S.A., Awosika J., Baldwin C. i wsp. Genomic comparison of Escherichia coli O104:H4 isolates from 2009 and 2011 reveals plasmid, and prophage heterogeneity, including Shiga toxin encoding phage stx2. PLoS One, 2012; 7: e48228.
5. Nataro, J. P. & Kaper, J. B. Diarrheagenic Escherichia coli. A comprehensive review of the pathogenesis, epidemiology, diagnosis and clinical aspects of diarrhoeagenic E. coli. Clin. Microbiol. Rev. 1998; 11, 142–201.
6. Russo TA, Johnson JR. Proposal for a new inclusive designation for extraintestinal pathogenic isolates of Escherichia coli: ExPEC. J Infect Dis 2000; 181: 1753–4.
7. Arredondo-Alonso S, Blundell-Hunter G, Fu Z i wsp. Evolutionary and functional history of the Escherichia coli K1 capsule. Nat Commun. 2023; 14: 3294.
8. Berardi A, Lugli L, Rossi C i wsp. Infezioni da Streptococco B Della Regione Emilia Romagna. Neonatal bacterial meningitis. Minerva Pediatr. 2010; 62: 51–4.
9. Ku LC, Boggess KA, Cohen-Wolkowicz M. Bacterial meningitis in infants. Clin Perinatol. 2015; 42: 29–viii.

10. Jefferies AL. Management of term infants at increased risk for early-onset bacterial sepsis. *Paediatr Child Health* 2017; 22:223–8. 10.1093/pch/pxx023.
11. Schrag SJ, Farley MM, Petit S i wsp. Epidemiology of invasive early-onset neonatal sepsis, 2005 to 2014. *Pediatrics* 2016; 138: e20162013. 10.1542/peds.2016-2013.
12. Ehman D, Mugarab Samedi V, Kalaniti K i wsp. Neonatal *Escherichia coli* infection in twins: clinical spectrum and management dilemma. *BMJ Case Rep.* 2021; 14: e238470.
13. Bingen E, Bonacorsi S, Brahim N i wsp. Virulence patterns of *Escherichia coli* K1 strains associated with neonatal meningitis. *J. Clin. Microbiol.* 1997; 35:2981–2982.
14. Nucci A, Rocha EPC, Rendueles O. Adaptation to novel spatially-structured environments is driven by the capsule and alters virulence-associated traits. *Nat. Commun.* 2022; 13: 4751.
15. Kaijser B. Immunology of *Escherichia coli*: K antigen and its relation to urinary-tract infection. *J. Infect. Dis.* 1973; 127: 670–677.
16. Robbins JB, McCracken GH Jr, Gotschlich EC i wsp. *Escherichia coli* K1 capsular polysaccharide associated with neonatal meningitis. *N Engl J Med.* 1974; 290:1216–1220.
17. Sarff LD, McCracken GH, Schiffer MS i wsp. Epidemiology of *Escherichia coli* K1 in healthy and diseased newborns. *Lancet.* 1975; 1: 1099–1104.
18. Grauel EL, Halle E, Bollmann R i wsp. Neonatal septicaemia-incidence, etiology and outcome. A 6-year analysis. *Acta Paediatr Scand.* 1989; 360: 113–119.
19. Headings DL, Overall JC Jr. Outbreak of meningitis in a newborn intensive care unit caused by a single *Escherichia coli* K1 serotype. *J Pediatr.* 1977; 90: 99–102.
20. Liu TH, Wang HP, Cho FN i wsp. Rectovaginal Colonization With Pathogenic *Escherichia coli* During Pregnancy And Neonatal Outcomes. *Infect Drug Resist.* 2019; 12: 3103-3112.
21. Cailles B, Kortsalioudaki C, Buttery J i wsp. Epidemiology of UK neonatal infections: the neonIN infection surveillance network. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2018; 103: F547-F553.
22. Berardi A, Sforza F, Baroni L i wsp. Epidemiology and complications of late-onset sepsis: an Italian area-based study. *PLoS One.* 2019; 14: e0225407.
23. Jiang S, Hong L, Gai J i wsp. REIN-EPIQ Study Group. Early-onset Sepsis among preterm neonates in China, 2015 to 2018. *Pediatr Infect Dis J.* 2019; 38: 1236–41.
24. Bonten M, Johnson JR, van den Biggelaar AHJ I wsp. Epidemiology of *Escherichia coli* bacteremia: a systematic literature review. *Clin Infect Dis* 2021; 72: 1211–9.

2.1.6. *Listeria monocytogenes*

Listeria monocytogenes to Gram-dodatnia bakteria należąca do organizmów wewnątrzkomórkowych, mogąca wywoływać ZOMR u noworodków (ponad 10%) i u osób z obniżoną odpornością (często po przeszczepach nerek, u pacjentów poddawanych terapii kortykosteroidowej, alkoholików, pacjentów z nowotworami, cukrzycą, chorobami wątroby i przewlekłymi chorobami nerek). Powoduje częściej niż inne drobnoustroje niewielkie ropnie mózgu, zwłaszcza w jego części środkowej i pniu mózgu. Mimo, że zachorowania powodowane przez ten drobnoustrój nie należą do najczęstszych, to śmiertelność wśród chorych jest bardzo wysoka i sięga nawet 20-70% [1,2]. Zakażenia *L. monocytogenes* mogą mieć bardzo zróżnicowany przebieg; od łagodnego niezytu żołądkowo-jelitowego, poprzez zakażenia zlokalizowane, do ciężkiej postaci inwazyjnej, jaką jest sepsa lub ZOMR. Mogą być również przyczyną poronień. Okołoporodowa listerioza noworodków może przybierać dwie formy o wczesnym i późnym początku. Wcześniejsza jest wynikiem wewnątrzmacicznego zakażenia i objawia się na ogół pod postacią sepsy. Druga, nabywana jest w trakcie lub tuż po porodzie, rozwija się w drugim lub trzecim tygodniu życia, w większości przypadków, jako ZOMR. Kliniczne izolaty *L. monocytogenes* rzadko rozwijają oporność na antybiotyki, skutecznym lekiem pierwszego wyboru pozostaje nadal ampicylina [1,2].

Źródło zakażenia i transmisja. *L. monocytogenes* występuje powszechnie w środowisku naturalnym. Do zakażenia dochodzi drogą pokarmową poprzez spożycie żywności zanieczyszczonej bakteriami. W przypadku zakażeń płodu i noworodków transmisja drobnosustrojów ma miejsce, odpowiednio przez łożysko lub podczas porodu przez kanał rodny matki, która jest nosicielką *L. monocytogenes*.

Zapadalność. Listerioza to choroba stosunkowo rzadka, wg danych WHO występująca z częstością od 0,01 do 1,0 przypadków na 100 000, w zależności od kraju i regionu świata [3]. Wg danych ECDC w Europie ten wskaźnik jest wyższy i od kilku lat wynosi 0,47/100 000 [4]. Choć liczba przypadków listeriozy jest niewielka, wysoki wskaźnik zgonów związanych z tą infekcją sprawia, że jest to nadal poważny problem zdrowia publicznego. Grupy najbardziej narażone na zakażenie *L. monocytogenes* to kobiety w ciąży, noworodki, osoby powyżej 60 roku życia, a także osoby z obniżoną odpornością. W ostatnich latach w Europie i USA odnotowano wzrost liczby przypadków listeriozy u osób w wieku 65 lat i powyżej [4,5]. Aktualne dane na temat epidemiologii zakażeń inwazyjnych wywołanych przez *L. monocytogenes* w Polsce znajdują się na stronie Krajowego Ośrodka Referencyjnego KOROUN (www.koroun.nil.gov.pl).

Piśmiennictwo:

1. Przyjałkowski W, Paul M. Zakażenia ośrodkowego układu nerwowego. W: Szczeklik A, Gajewski P (red.) Interna Szczeklika. Wydawnictwo Medycyna Praktyczna, Kraków, 2022, 2503-2515.
2. Tunkel AR. Central nervous system infections. W: Mandell Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Eight ed. Philadelphia PA: Elsevier; 2015, 1091-1193.
3. Listeriosis – factsheets (WHO) <https://www.who.int/news-room/fact-sheets/detail/listeriosis>, dostęp 17.10.2023.
4. European Centre for Disease Prevention and Control. Listeriosis. In: ECDC. Annual Epidemiological Report for 2020. Stockholm: ECDC; 2023.
5. Kuch A, Goc A, Belkiewicz K, Filipello V i wsp. Molecular diversity and antimicrobial susceptibility of *Listeria monocytogenes* isolates from invasive infections in Poland (1997-2013). *Sci Rep.* 2018; 8: 14562.

2.2. Inne bakteryjne czynniki zakażeń OUN

2.2.1. *Staphylococcus aureus*

Gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*) jest ziarenkowcem Gram-dodatnim, należącym do grupy gronkowców koagulazo-dodatnich. Kolonizuje nozdrza przednie i wilgotne okolice skóry (m.in. doły pachowe, krocie) ok. 30% populacji (u pacjentów hospitalizowanych częstość nosicielstwa może być znacznie większa). Posiada bardzo liczne czynniki zjadliwości, w tym toksyny, z których część ma właściwości superantygenów i może wywoływać niemal wszystkie postaci zakażeń o bardzo zróżnicowanym obrazie klinicznym. Do najczęstszych zakażeń miejscowych (ropnych) należą: zapalenie mieszków włosowych, czyrak, czyrączność, liszajec zakaźny, ropień, zakażenie ran przewlekłych, zakażenie miejsca operowanego. Wśród zakażeń układowych dominują: zapalenie kości i szpiku, zapalenie stawów, bakteriemia/sepsa (w tym odcewnikowa), infekcyjne zapalenie wsierdzia, zapalenie płuc i rzadziej zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych.

Źródło zakażenia i transmisja. Zakażenia gronkowcowe mają zarówno charakter endo- jak i egzogeny. Drobnoustroj występuje powszechnie w środowisku i kolonizuje skórę i błony śluzowe człowieka, stąd może szerzyć się drogą kontaktu bezpośredniego i pośredniego oraz kropelkową. Do czynników predysponujących do wystąpienia gronkowcowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych należą: infekcyjne zapalenie wsierdzia, obecność ciał obcych, zwłaszcza implantowanych układów drenażujących płyn mózgowo-rdzeniowy i cewników centralnych, zabieg chirurgiczny oraz zakażenie skóry i tkanek miękkich (w tym owrzodzenia odleżynowe).

Zapadalność. Zapadalność na zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii *S. aureus* w Polsce nie jest znana. W metaanalizie oceniającej etiologię bakteryjnych zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych na świecie, *S. aureus* był odpowiedzialny za 4,4% zakażeń w Europie (2,2% u dzieci i 5,5% u dorosłych) [1]. W dwóch niedawnych badaniach analizujących szpitalne zakażenia ośrodkowego układu nerwowego *S. aureus* był czynnikiem etiologicznym ok. 15% zapaleń opon-mózgowo-rdzeniowych i/lub komór, a śmiertelność w ich przebiegu wyniosła 14% [2,3]. U dzieci z zakażeniem związanym z drenażem komorowo-otrzewnowym częstość izolacji *S. aureus* w jednym z badań wyniosła niemal 30% [4].

Oporność. Najważniejszym z klinicznego punktu widzenia mechanizmem oporności *S. aureus* jest tzw. metycylinooporność warunkująca oporność na niemal wszystkie antybiotyki β-laktamowe (z wyjątkiem cefalosporyn V generacji, tj. ceftarolina i ceftobiprol). Wśród szczepów gronkowca złocistego odpowiedzialnych za zakażenia inwazyjne w Polsce szczepy MRSA (methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) od lat stanowią ok. 15% [5].

2.2.2. Gronkowce koagulazoujemne (coagulase-negative staphylococci, CoNS)

To liczna grupa gronkowców niewytwarzających koagulazy, z których część wchodzi w skład mikrobioty skóry i błon śluzowych człowieka. Do najważniejszych gatunków odpowiedzialnych za zakażenia u ludzi należą *Staphylococcus epidermidis* (70-80% zakażeń), *Staphylococcus haemolyticus* i *Staphylococcus lugdunensis*. Z wyjątkiem tego ostatniego gatunku, CoNS charakteryzują się stosunkowo małą zjadliwością, ale posiadają zdolność tworzenia biofilmu na biomateriałach, stąd zwykle powodują zakażenia związane z obecnością ciał obcych, m. in. bakteriemię/sepsę odcewnikową (najważniejszym czynnikiem ryzyka są cewniki centralne), zapalenie wsierdzia po operacjach rekonstrukcyjnych, zakażenia stymulatorów i wszczepialnych kardiowerterów-defibrylatorów, zakażenia protez naczyniowych, zakażenia OUN po implantacji układów drenażujących płyn mózgowo-rdzeniowy, zapalenia stawów po endoprotezoplastyce i zapalenie otrzewnej u pacjentów dializowanych otrzewnowo. CoNS mogą być również przyczyną zakażeń miejsca operowanego niezwiązanych z wszczepieniem biomateriału. Poza w/w grupami ryzyka, na zakażenie CoNS szczególnie narażone są noworodki (zwłaszcza wcześniaki z bardzo niską masą urodzeniową, długotrwale hospitalizowane, z cewnikiem centralnym i całkowitym żywieniem pozajelitowym) oraz pacjenci w immunosupresji.

Źródło zakażenia i transmisja. Zakażenia CoNS zwykle mają charakter endogeny i rozwijają się na skutek translokacji drobnoustrojów kolonizujących skórę lub błony śluzowe do przestrzeni wewnątrznaczyniowej lub jam ciała w wyniku naruszenia ich ciągłości i wprowadzenia ciał obcych. U pacjentów z w/w czynnikami ryzyka możliwe są również zakażenia egzogenne drogą kontaktu bezpośredniego lub pośredniego. Zakażenia ośrodkowego układu nerwowego o tej etiologii w większości są następstwem implantacji układów drenażujących płyn mózgowo-rdzeniowy lub innych zabiegów neurochirurgicznych (wyjątek dotyczy noworodków, u których do zakażenia CoNS ośrodkowego układu nerwowego może dochodzić w przebiegu sepsy).

Zapadalność. Zapadalność na zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii CoNS w Polsce nie jest znana. Gronkowce koagulazoujemne są odpowiedzialne za niemal połowę wszystkich zakażeń związanych z wszczepieniem układów drenażujących płyn mózgowo-rdzeniowy [4,6]. U pacjentów z zewnętrznym drenażem komorowym CoNS były najczęściej izolowanymi drobnoustrojami stanowiąc ok. 30% czynników etiologicznych [7]. CoNS są również jednymi z najczęściej hodowanych drobnoustrojów z krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego u noworodków z późną sepsą [8].

Oporność. Większość gronkowców koagulazo-ujemnych jest oporna na metycylinę, co eliminuje β -laktamy z terapii empirycznej zakażeń ze spodziewanym udziałem tych drobnoustrojów. Dotyczy to m.in. wszystkich szpitalnych zakażeń OUN.

2.2.3. *Streptococcus pyogenes* (paciorkowiec β -hemolizujący grupy A, GAS)

Streptococcus pyogenes jest ziarenkowcem Gram-dodatnim β -hemolizującym grupy A (GAS – ang. Group A Streptococcus). Może kolonizować błony śluzowe górnych dróg oddechowych. Częstość kolonizacji jest najwyższa u dzieci i wynosi ok. 12%. Posiada wiele czynników zjadliwości, w tym enzymy i toksyny, a wśród tych ostatnich egzotoksyny pirogenne o właściwościach superantygenów. Wywołuje różne postaci zakażeń ropnych: zapalenie gardła i migdałków, płonicę, różę, zakażenie skóry i tkanki podskórnej, martwicze zapalenie powięzi, gorączkę połogową, zapalenie kości i stawów, zapalenie płuc i rzadziej zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Zakażenie szczepem wytwarzającym toksyny pirogenne może prowadzić do paciorkowcowego zespołu wstrząsu toksycznego. W następstwie zakażeń ropnych może dochodzić do powikłań takich jak gorączka reumatyczna lub ostre kłębuszkowe zapalenie nerek.

Źródło zakażenia i transmisja. GAS szerzy się drogą kropelkową oraz kontaktu bezpośredniego i pośredniego z wydzieliną dróg oddechowych chorego / nosiciela lub zakażoną tkanką. Większość zakażeń OUN o tej etiologii rozwija się w następstwie kolonizacji lub zakażenia dróg oddechowych, a do najważniejszych czynników ryzyka ZOMR należą operacja zatok, płynotok pourazowy, zapalenie ucha środkowego, zatok lub gardła [9,10].

Zapadalność. W Polsce nie prowadzi się osobnego wykazu zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych wywoływanych przez *S. pyogenes*. Rejestracji podlegają wszystkie inwazyjne zakażenia GAS (iGAS), wśród których wyodrębnia się różę, zespół wstrząsu toksycznego, gorączkę połogową oraz grupę „inne”, do której należą m.in. ZOMR. W roku 2022 łączna liczba zarejestrowanych przypadków iGAS wyniosła 3 426, co daje zapadalność 8,98/100 tys., a w roku 2021, odpowiednio 2 174 i 5,70/100 tys. (natomiast liczba i zapadalność na inne iGAS w roku 2022 i 2021 wyniosły odpowiednio 249; 0,65/100 tys. i 76; 0,20/100 tys.) [11]. ZOMR o etiologii *S. pyogenes* występuje u ok. 2% pacjentów z iGAS i stanowi 0,2-1% wszystkich

zapaleń opon mózgowych [12,13]. Zakażenia OUN o etiologii GAS charakteryzują się wysoką śmiertelnością (nawet ok. 20% u dzieci i blisko 30% u dorosłych) oraz bardzo dużą częstością powikłań (40-70%) [9,14]. Powikłania mózgowie takie jak ropnie mózgu, płynotok, zakrzepica zatoki jamistej występują u 25-35% pacjentów [15,16].

Oporność. *Streptococcus pyogenes* pozostaje wrażliwy na penicylinę (i inne antybiotyki β -laktamowe), w związku, z czym penicylina G jest lekiem z wyboru w terapii zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych o tej etiologii [17]. W ostatnich latach pojawiły się doniesienia o izolacji szczepów GAS z mutacją w genie pbp2x powodującą kilkukrotny wzrost wartości MIC ampicyliny, amoksycyliny i cefotaksymu, co może stanowić krok w rozwoju oporności na β -laktamy [18].

2.2.4. Paciorkowce α -hemolizujące

Paciorkowce α -hemolizujące to duża i heterogenna grupa względnie beztlenowych ziarenkowców Gram-dodatnich, należących do kilku grup: grupa Mitis (obejmująca m.in. *Streptococcus mitis*, *Streptococcus oralis*, *Streptococcus sanguinis*), grupa Mutans (m.in. *Streptococcus mutans*, *Streptococcus sobrinus*, *Streptococcus rattii*), grupa Salivarius (*Streptococcus salivarius*, *Streptococcus vestibularis*), grupa Anginosus (*Streptococcus anginosus*, *Streptococcus intermedius*, *Streptococcus constelatus*). Drobnoustroje te wchodzi w skład mikrobioty jamy ustnej i przewodu pokarmowego człowieka. Wywołują zakażenia związane z naruszeniem ciągłości błon śluzowych w/w okolic (jatrogennych bądź wynikających z miejscowych patologii), w tym zakażenia wewnątrzbrzusne, ginekologiczne, w obrębie głowy i szyi, sepsę i infekcyjne zapalenie wsierdzia. Do czynników predysponujących należą neutropenia i zapalenie błon śluzowych.

Źródło zakażeń i transmisja. Zakażenia ośrodkowego układu nerwowego o tej etiologii (zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i ropnie mózgu) bardzo często mają charakter endogenny, tj. są wynikiem szerzenia się zakażenia z okolicznych tkanek (zapalenia zatok, ucha środkowego, wyrostka sutkowatego, zakażeń zębopochodnych) lub rozsiewu hematogennego u pacjentów z bakteriami lub infekcyjnym zapaleniem wsierdzia. Paciorkowce α -hemolizujące mogą być także przyczyną zakażeń pourazowych (zwłaszcza penetrujących) i jatrogennych (po zabiegach neurochirurgicznych lub procedurach związanych z naruszeniem ciągłości opon).

Zapadalność i oporność. W Polsce nie prowadzi się rejestru zakażeń ośrodkowego układu nerwowego wywołanych przez te drobnoustroje oraz nie monitoruje systemowo ich lekowrażliwości. W jednym z badań paciorkowce α -hemolizujące stanowiły ok. 30% wszystkich drobnoustrojów izolowanych z ropni mózgu [19]. A w dwóch badaniach dotyczących jatrogennego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, były odpowiedzialne odpowiednio za 49% i 63% przypadków związanych z punkcją lędźwiową [20,21]. W jednym z nich postulowano, że istotnym źródłem zakażenia mogła być kontaminacja miejsca wkłucia aerozolem z jamy ustnej pracowników medycznych [20].

2.2.5. Enterokoki

Enterokoki stanowią dużą grupę względnie beztlenowych ziarenkowców Gram-dodatnich, spośród których najistotniejsze klinicznie są 2 gatunki, tj. *E. faecalis* i *E. faecium*. Drobnoustroje te wchodzi w skład mikrobioty przewodu pokarmowego człowieka, mogą także kolonizować układ moczowo-płciowy i skórę. Są istotnym czynnikiem etiologicznym zakażeń układu moczowego, powikłanych zakażeń wewnątrzbrzusznych, zakażeń w miednicy małej, mogą także wywoływać bakteriamię i infekcyjne zapalenie wsierdzia (zwłaszcza w następstwie zabiegów urologicznych). W/w postaci zakażeń zazwyczaj mają charakter endogenny, często szpitalny. Zakażenia OUN najczęściej mają związek z drenażem płynu mózgowo-rdzeniowego, zwłaszcza z implantacją zastawek komorowo-otrzewnowych.

Źródło zakażeń i transmisja. Enterokokowe zakażenia OUN często mają charakter endogenny – ich źródłem może być przewód pokarmowy lub skóra pacjenta. Potencjalnym źródłem może być także środowisko szpitalne. Drobnoustroje te (w tym szczepy odporne na wankomycynę, tzw. VRE) wykrywane są w bezpośrednim otoczeniu pacjenta (m.in. na poręczy łóżka, stoliku, stojaku do kroplówek, etc.), skąd mogą być przenoszone np. za pośrednictwem rąk personelu medycznego [22].

2.2.6. *Klebsiella pneumoniae* i inne pałeczki *Enterobacterales*

Klebsiella pneumoniae należy do rzędu *Enterobacterales* obejmującego bardzo dużą grupę tlenowych pałeczek Gram-ujemnych, z których wiele gatunków wchodzi w skład mikrobioty przewodu pokarmowego człowieka. Pałeczki

Enterobacterales mogą wywoływać wszystkie postaci zakażeń inwazyjnych i nieinwazyjnych, a bardzo duża część z nich ma charakter endogeny. Są najczęstszymi bakteryjnymi czynnikami etiologicznymi zakażeń szpitalnych, w tym wewnątrzbrzusznych i układu moczowego. Zakażenia ośrodkowego układu nerwowego o tej etiologii występują najczęściej u noworodków (*K. pneumoniae*) i osób w podeszłym wieku, a do czynników predysponujących należą ciężkie choroby współistniejące, zabiegi neurochirurgiczne, drenaż płynu mózgowo-rdzeniowego. Kolejnym ważnym czynnikiem etiologicznym zakażeń OUN, należącym do rzędu *Enterobacterlas* jest *E. coli* (patrz rozdział 2.1.5.).

Źródło zakażenia i transmisja. Zakażenia inwazyjne pałeczkami *Enterobacterales* często mają charakter endogeny i rozwijają się na skutek translokacji drobnoustrojów bytujących w przewodzie pokarmowym do przestrzeni wewnątrznaczyniowej lub jam ciała w wyniku zwiększenia przepuszczalności błony śluzowej jelit (z powodu np. niedokrwienia, zakażenia (np. pałeczkami *Salmonella*), perforacji, guza lub innej patologii). U noworodków zakażenia *K. pneumoniae* często są wywoływane przez bakterie bytujące w drogach rodnych matki (zakażenia okołoporodowe), ale mogą być także wynikiem transmisji szpitalnej za pośrednictwem rąk personelu lub sprzętu. U pacjentów po zabiegach neurochirurgicznych ta ostatnia droga odgrywa najistotniejszą rolę; wyjątek stanowią pacjenci z zastawkami komorowo-otrzewnowymi, u których zakażenia mają zwykle charakter endogeny.

Zapadalność. W Polsce nie prowadzi się osobnego wykazu zakażeń ośrodkowego układu nerwowego wywoływanych przez *K. pneumoniae* i inne pałeczki *Enterobacterales*. W 2022 roku zanotowano 225 przypadków bakteryjnych zakażeń OUN o etiologii innej niż *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* i *H. influenzae*, (dla których istnieje taki rejestr), co daje zapadalność 0,39/100 000. Ponadto zarejestrowano 192 przypadki sepsy o etiologii *Salmonella* (zapadalność 0,50/100 tys.), ale brak danych, jakiej części z nich towarzyszyło zakażenie OUN [11].

Oporność. W Polsce obserwuje się narastającą oporność inwazyjnych izolatów *K. pneumoniae* na wszystkie istotne leki przeciwbakteryjne. W 2021 roku oporność na poszczególne grupy antybiotyków wyniosła: aminoglikozydy – 55%, fluorochinolony – 70%, cefalosporyny 3 generacji – 70%, karbapenemy – 19,5%, kolistyna – 15,5%, a 54% wykazywało oporność, na co najmniej 3 grupy antybiotyków [5].

2.2.7. Pałeczki niefermentujące *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter* sp.

P. aeruginosa i *Acinetobacter* sp. są Gram-ujemnymi tlenowymi pałeczkami niefermentującymi powszechnie występującymi w środowisku, zwłaszcza wilgotnym (woda, gleba, ścieki, rośliny). *P. aeruginosa* wytwarza wiele czynników zjadliwości w tym egzotoksyny i enzymy odpowiedzialne za destrukcję tkanek i stymulację reakcji zapalnej. Wywołują przede wszystkim zakażenia oportunistyczne u osób z zaburzeniami mechanizmów obronnych, często o charakterze szpitalnym. Są istotnymi czynnikami etiologicznymi zakażeń u pacjentów oddziałów intensywnej terapii, u których mogą powodować zapalenie płuc (zwłaszcza związane z mechaniczną wentylacją), sepsę, zwłaszcza odcewnikową oraz zakażenia układu moczowego. *P. aeruginosa* jest częstą przyczyną sepsy u pacjentów hematologicznych lub z innymi poważnymi niedoborami odporności, zapalenia płuc u pacjentów z mukowiscydozą oraz zakażeń ran oparzeniowych. Poza tym może wywoływać powikłane zakażenia wewnątrzbrzuszne, zapalenia kości i stawów, zapalenie ucha zewnętrznego i ciężkie zakażenia gałki ocznej. Zakażenia ośrodkowego układu nerwowego o etiologii *Pseudomonas* lub *Acinetobacter* zazwyczaj są powikłaniem zabiegu neurochirurgicznego i bardzo często mają związek z drenażem płynu mózgowo-rdzeniowego [23,24].

Źródło zakażenia i transmisja. Rezerwuarem *P. aeruginosa* w środowisku szpitalnym jest przede wszystkim woda i miejsca wilgotne, m.in.: zlewy, krany, toalety, nawilżacze powietrza, a także źle dekontaminowane pojemniki ze środkami dezynfekcyjnymi. *P. aeruginosa* jest także wykrywany w powietrzu w pomieszczeniach, w których przebywają pacjenci z zakażeniem dróg oddechowych o tej etiologii [25].

Acinetobacter jest zdolny do długotrwałego przetrwania w środowisku suchym. Istotnym rezerwuarem tego drobnoustroju w szpitalu jest sprzęt wielorazowego użytku (m.in. urządzenia do terapii oddechowej, ciśnieniomierze, pulsoksymetry, materace), a także telefony komórkowe i klawiatura komputerów. *Acinetobacter* jest również wykrywany w umywalkach, systemach wentylacyjnych, nawilżaczach powietrza i samym powietrzu. Do transmisji pałeczek niefermentujących w środowisku szpitalnym dochodzi za pośrednictwem skażonych powierzchni, sprzętu i rąk personelu oraz powietrza [26].

Zapadalność. W Polsce nie prowadzi się osobnego wykazu zakażeń ośrodkowego układu nerwowego wywoływanych przez pałeczki niefermentujące. Drobnoustroje te są stosunkowo rzadkimi czynnikami etiologicznymi zakażeń

neurochirurgicznych – w jednym z badań retrospektywnych ich udział w zakażeniach układów zastawkowych u dorosłych wyniósł 3% [6]. Natomiast u pacjentów z zakażeniem związanym z zewnętrznym drenażem komorowym udział *Acinetobacter* i *Pseudomonas* wyniósł odpowiednio 9 i 4% [7].

Oporność. *P. aeruginosa* i *Acinetobacter* wykazują naturalną oporność na wiele grup antybiotyków i mają dużą zdolność do nabywania oporności. Oporność inwazyjnych izolatów *P. aeruginosa* w Polsce w ostatnich latach utrzymuje się na zbliżonym poziomie (z wyjątkiem karbapenemów i kolistyny, dla których obserwuje się wzrost) i w 2021 roku wyniosła: aminoglikozydy – 12%, fluorochinolony – 32%, ceftazydym – 20%, piperacylina/tazobaktam – 27%, karbapenemy – 28%, kolistyna – 3%, a 23% wykazywało oporność, na co najmniej 3 grupy antybiotyków. Dramatycznie natomiast przedstawia się oporność *Acinetobacter*, która w analogicznym okresie wyniosła: aminoglikozydy – 74%, fluorochinolony – 93%, karbapenemy – 83% oraz równoczesna oporność na wszystkie w/w – 69% [5].

2.2.8. Bakterie beztlenowe

To bardzo duża grupa drobnoustrojów zarówno Gram-dodatnich jak i Gram-ujemnych o zróżnicowanej morfologii należących do wielu rodzajów. W zakażeniach człowieka najważniejszą rolę odgrywają rodzaje *Bacteroides*, *Prevotella*, *Porphyromonas*, *Fusobacterium*, *Veillonella*, *Peptococcus*, *Peptostreptococcus*, *Cutibacterium*, *Eubacterium* i *Clostridium*. Drobnoustroje te wchodzą w skład mikrobioty jamy ustnej, przewodu pokarmowego i dróg rodnych człowieka, a zakażenia bardzo często mają charakter endogenny i mieszany (z udziałem bakterii tlenowych) i obejmują infekcje (w tym ropnie) w obrębie głowy i szyi, wewnątrzbrzuszne, ginekologiczne – w tym pooperacyjne oraz zachyłkowe zapalenie płuc. Do czynników predysponujących do zakażeń beztlenowcami należą: cukrzyca, marskość wątroby, nowotwory i alkoholizm, a w okresie noworodkowym – martwicze zapalenie jelit [27,28].

Źródło zakażeń i transmisja. Zakażenia ośrodkowego układu nerwowego (zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i ropnie mózgu) wywołane przez beztlenowce bardzo często mają charakter endogenny, tj. są wynikiem szerzenia się zakażenia z okolicznych tkanek (zapalenia zatok, ucha środkowego, wyrostka sutkowatego, zakażeń zębopochodnych) lub rozsiewu hematogenego (u pacjentów z ropniem płuc/ropniakiem opłucnej) i często mają etiologię mieszaną (z udziałem bakterii tlenowych). Beztlenowce mogą być także przyczyną zakażeń pourazowych (zwłaszcza penetrujących) i jatrogennych – po zabiegach neurochirurgicznych i wszczepieniu układów drenażujących płyn mózgowo-rdzeniowy – w tych przypadkach częstym czynnikiem etiologicznym jest wchodzący w skład mikrobioty skóry *Cutibacterium acnes*. Zakażenia OUN o etiologii *C. acnes* mogą mieć podostry przebieg – w jednym z badań średni czas od zabiegu neurochirurgicznego do wystąpienia objawów wyniósł 54 dni (przedział 12-1578 dni) [29].

Zapadalność i oporność. W Polsce nie prowadzi się rejestru zakażeń ośrodkowego układu nerwowego wywołanych przez te drobnoustroje oraz nie monitoruje systemowo ich lekowrażliwości. W jednym z badań bakterie beztlenowe stanowiły ok. 15 % wszystkich drobnoustrojów izolowanych z ropni mózgu [9]. Natomiast u dorosłych z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych wykrywano je u 2,5% pacjentów [27].

Piśmiennictwo

1. Oordt-Speets AM, Bolijn R, van Hoorn RC et al. Global etiology of bacterial meningitis: A systematic review and meta-analysis. PLoS ONE 2018; 3: e0198772.
2. Panic H, Gjurasin B, Santini M, et al. Etiology and Outcomes of Healthcare-Associated Meningitis and Ventriculitis—A Single Center Cohort Study. Infect. Dis. Rep. 2022, 14, 420–427.
3. Sunwoo JS, Shin HR, Sang Lee HS et al. A hospital-based study on etiology and prognosis of bacterial meningitis in adults. Sci Rep 2021;11: 6028.
4. McGirt MJ, Zaas A, Fuchs HE. Risk Factors for Pediatric Ventriculoperitoneal Shunt Infection and Predictors of Infectious Pathogens. Clin Infect Dis 2003; 36:858–62.
5. Surveillance atlas of infectious diseases, European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC). <http://atlas.ecdc.europa.eu/public/index.aspx>; dostęp 11.12.2023.
6. Conen A, Walti LN, Merlo A, Fluckiger U. Characteristics and treatment outcome of cerebrospinal fluid shunt-associated infections in adults: a retrospective analysis over an 11-year period. Clin Infect Dis. 2008;47(1):73.

7. Dorresteijn K, Jellema K, van de Beek D, Brouwer MC. Factors and measures predicting external CSF drain-associated ventriculitis: A review and meta-analysis. *Neurology*. 2019;93: 964.
8. Berardi A, Sforza F, Baroni L et al. Epidemiology and complications of late-onset sepsis: an Italian area-based study. *PLoS ONE* 2019; 14: e0225407.
9. van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L et al. Group a streptococcal meningitis in adults: report of 41 cases and a review of the literature. *Clin Infect Dis* 2002;34: e32-6.
10. Perera N, Abulhoul L, Green MR, Swann RA. Group A streptococcal meningitis: case report and review of the literature. *J Infect*. 2005;51: E1-4.
11. Narodowy Instytut Zdrowia Oublicznego (PZH, Informacje o zachorowaniach na choroby zakaźne i zatruciach w Polsce w 2022 roku, http://www.wold.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/2022/index_mp.html; dostęp 11.12.2023.
12. Colman G, Tanna A, Efstratiou A, Gaworzewska ET. The serotypes of *Streptococcus pyogenes* present in Britain during 1980–1990 and their association with disease. *J Med Microbiol* 1993; 39: 165–78.
13. Schlech WF, Ward JI, Band JD et al. Bacterial meningitis in the United States, 1978–1981. The National Bacterial Meningitis Surveillance Study. *JAMA* 1985; 253:1749–54.
14. de Almeida Torres RSL, Fedalto LE, de Almeida Torres RF et al. Group A *Streptococcus* meningitis in children. *Pediatr Infect Dis J* 2013;32: 110–114.
15. Shetty AK, Frankel LR, Maldonado Y et al. Group A streptococcal meningitis: report of a case and review of literature since 1976. *Pediatr Emerg Care* 2001;17: 430–434.
16. van Dijk L, Wolfs TFW, Debast SB, Langenhorst VJV. The needs for diagnostic imaging in cases of group A streptococcal meningitis in children: a case report and review of the literature. *Access Microbiol* 2019;1: e000058.
17. Nityanand J. Group A streptococcal (GAS) infections amongst children in Europe: Taming the rising tide. *New Microbes New Infect*. 2023; 51: 101071.
18. Vannice KS, Ricaldi J, Nanduri S et al. *Streptococcus pyogenes* pbp2x mutation confers reduced susceptibility to β -lactam antibiotics. *Clin Infect Dis*. 2020;71: 201–204.
19. Roche M, Humphreys H, Smyth E et al. A twelve-year review of central nervous system bacterial abscesses; presentation and aetiology. *Clin Microbiol Infect* 2003;9: 803-9.
20. Baer ET. Post-dural puncture bacterial meningitis. *Anesthesiology*. 2006;105: 381-388.
21. Yaniv LG, Potasman I. Iatrogenic meningitis: an increasing role for resistant viridans streptococci? Case report and review of the last 20 years. *Scand J Infect Dis* 2000;32: 693-6.
22. McDermott H., Skally M., O'Rourke J., et al.: Vancomycin-Resistant Enterococci (VRE) in The Intensive Care Unit in a Nonoutbreak Setting: Identification of Potential Reservoirs and Epidemiological Associations Between Patient and Environmental VRE. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2018 ;39: 40-45.
23. van de Beek D, Drake JM, Tunkel AR. Nosocomial bacterial meningitis. van de Beek D, Drake JM, Tunkel AR. *N Engl J Med*. 2010 Jan 14;362: 146-54.
24. Pai S, Bedford L, Ruramayi R et al. *Pseudomonas aeruginosa* meningitis/ventriculitis in a UK tertiary referral hospital. *QJ*. 2016;109: 85-9.
25. Trautmann M., Lepper P.M., Haller M.: Ecology of *Pseudomonas aeruginosa* in the intensive care unit and the evolving role of water outlets as a reservoir of the organism. *Am J Infect Control* 2005; 33: S41-9.
26. Munoz-Price L.S., Weinstein R.A.: Acinetobacter infection. *N Engl J Med*. 2008;358: 1271-81.
27. Lee JJ, Lien CY, Chien CC et al. Anaerobic bacterial meningitis in adults. *J Clin Neurosci*. 2018;50: 45-50.
28. Brook I. Meningitis and shunt infection caused by anaerobic bacteria in children. *Pediatr Neurol*. 2002;26: 99-105.
29. Nisbet M, Briggs S, Ellis-Pegler R, Thomas M, Holland D. *Propionibacterium acnes*: an under-appreciated cause of post-neurosurgical infection. *J Antimicrob Chemother*. 2007;60: 1097-103.

2.3. Bakteryjne swoiste czynniki zakażeń OUN

2.3.1. Borelioza z Lyme, neuroborelioza.

Borelioza z Lyme jest wieloukładową chorobą zapalną spowodowaną zakażeniem krętkiem *Borrelia burgdorferi*. W Ameryce Północnej borelioza z Lyme jest wywoływana wyłącznie przez gatunek *Borrelia burgdorferi sensu stricte* (Bb ss), podczas gdy w Europie przez *B. afzelii*, *B. bavariensis* i *B. garini* (z predyspozycją do zajęcia układu nerwowego) i *B. spielmani*. Objawy neurologiczne występują w 3–15% zakażeń i mogą objawiać się zapaleniem wielokorzeniowym, zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych i rzadko zapaleniem mózgu i rdzenia [1,2,3,4]. W Polsce przeciwciała swoiste dla boreliozy są wykrywane u ok. 14 % bezobjawowych dawców krwi. W Polsce w ostatnich latach obserwuje się zwiększoną wykrywalność i narastającą zapadalność na boreliozę do 30-45/100 tys. Do zakażenia dochodzi tylko przez ukąszenie kleszcza, a ryzyko infekcji wzrasta wraz z czasem trwania żerowania pajęczaka na skórze, powyżej 12 godzin. Serokonwersja (pojawienie się przeciwciał) po ukąszeniu przez zakażonego kleszcza może wystąpić u 2,6 – 5,6% chorych, a choroba ujawnia się u 0,3–1,4% [4].

Neuroborelioza (LNB) jest postacią rozsianą boreliozy. Wyróżniamy etapy:

- **neuroborelioza wczesna** (objawy neurologiczne trwają krócej niż 6 miesięcy),
- **neuroborelioza późna** (objawy neurologiczne występują powyżej 6 miesięcy).

Tabela 1. Częstość występowania postaci klinicznych neuroboreliozy

Postać kliniczna	Częstość	Potwierdzenie
Triada Bannwartha: Porażenie nn czaszkowych Bolesne radiculitis Odczyn limfocytarny w PMR	Częste (95%)	Gdy jednoznaczny obraz kliniczny np. jednocześnie z rumieniem wędrującym nie wymaga bezwzględnie punkcji lędźwiowej
Objawy naczyniowe-vasculitis, zapalenie w obrębie parenchymy mózgowej (encephalitis, myelitis)	Rzadkie (1-4%)	Wymagane jednoznaczne dowody laboratoryjne: dodatnie wyniki badań serologicznych, pleocytoza i AI* w PMR
Demencja, inne rzadkie prezentacje kliniczne	Kazuistyka	

*AI-antibody indeks, indeks syntezy wewnątrzoponowej przeciwciał

Postacie kliniczne neuroboreliozy:

I. Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i korzeni nerwowych

Zespół Garina-Bujadoux-Bannwarth'a lub triada Bannwarth'a jest najczęstszą manifestacją ostrej boreliozy z Lyme u dorosłych w Europie po rumieniu wędrującym (95,4%). Objawy pojawiają się najczęściej 1-1,5 miesiąca od ukąszenia kleszcza. Mogą pojawić się jednocześnie z rumieniem wędrującym, pod postacią:

1. Zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych (bez objawów korzeniowych) obserwowanego głównie u dzieci.

2. Objawów zapalenia korzeni nerwowych pojawiających się średnio po 4–6 tygodniach (maksymalnie 1–18) po ukąszeniu przez kleszcza lub po wystąpieniu rumienia wędrującego. Najpierw występuje ból odczuwany przez chorego, jako palący, dokuczliwy, kłujący lub rwący i tylko nieznacznie odpowiadający na konwencjonalne środki przeciwbólowe. Ból jest segmentarny, nasilający się w nocy, a jego lokalizacja może być zmienna. U trzech czwartych pacjentów po 1–4 tygodniach rozwijają się deficyty neurologiczne, a niedowłady występują częściej niż zaburzenia czucia.

3. Porażenia nerwów czaszkowych (ok. 60% pacjentów z zespołem Bannwartha).

Zajęte mogą być wszystkie nerwy czaszkowe z wyjątkiem nerwu węchowego. W 80% w przebiegu choroby zajęty jest nerw twarzowy. Często występuje obustronna manifestacja (około 1/3 przypadków), jednoczasowa lub w odstępie kilku/kilkunastu dni. Zwykle bez wpływu na zmysł smaku. W przypadkach jednostronnych, w różnicowaniu z idiopatycznym niedowładem nerwu twarzowego, mogą być pomocne objawy dodatkowe lub dane anamnestyczne jak występujący wcześniej lub obecny rumień wędrujący (*Erythema migrans*; EM), ból korzeniowy, pora roku, możliwość ekspozycji na pokłucia kleszczy. W większości przypadków uzyskuje się całkowitą regresję deficytu, którą obserwuje się w ciągu 1–2 miesięcy, niezależnie od stopnia porażenia nerwu twarzowego. Objawy resztkowe lub częściowe, łącznie z synkinezą twarzy (ruch patologiczny), obserwuje się u około 5–10% pacjentów. Neuroborelioza z Lyme może dotyczyć również: nerwu odwodzącego, nerwu wzrokowego (zapalenie nerwu wzrokowego, obrzęk tarczy nerwu wzrokowego), relatywnie rzadko nerwu okoruchowego, nerwu błoczkowego, nerwu trójdzielnego i innych nerwów czaszkowych (IX–XII). Nie ma pewności, czy izolowane uszkodzenie nerwu przedsionkowo-ślimakowego występuje w przebiegu ostrej infekcji *Borrelia*.

II. Polineuropatie

Polineuropatia/zapalenie wielonerwowe jest związane z zakażeniem *Borrelia* spp u europejskich pacjentów. Rozpoznaje się je w połączeniu z *acrodermatitis chronica atrophicans* (ACA) w 48–64% przypadkach. Związek przyczynowy między objawami neurologicznymi, a zakażeniem *Borrelia* nie jest łatwy do ustalenia u pacjentów z polineuropatią/ zapaleniem wielonerwowym, u których testy serologiczne są dodatnie. W takich przypadkach prawdopodobieństwo związku przyczynowego zależy od tego, czy występują inne objawy kliniczne boreliozy z Lyme i czy zidentyfikowano/wykluczono inne częste przyczyny zapalenia wielonerwowego.

III. Zajęcie ośrodkowego układu nerwowego występuje rzadko (około 4% przypadków neuroboreliozy z Lyme). Początek zwykle jest stopniowy i często ma charakter przewlekły i może przebiegać pod postacią:

1. Zapalenia mózgu, które nie ma właściwości klinicznych swoistych dla patogenu.

2. Zapalenia rdzenia kręgowego, które jest częstszym objawem, ze spastycznymi ataktycznymi zaburzeniami chodu i dysfunkcją pęcherza moczowego. Objawy mogą rozwijać się w ciągu dni lub kilku miesięcy. U niektórych pacjentów może wystąpić tetra- lub parapareza. Około 60% pacjentów z zapaleniem rdzenia ma dodatkowe objawy pod postacią zapalenia mózgu, a w około 40% występuje zajęcie nerwów czaszkowych.

3. Zapalenia naczyń mózgowych. W bardzo rzadkich przypadkach objawy mózgowie (np. udar niedokrwieny) mogą być spowodowane zapaleniem naczyń wywołanym *Borrelia*. Najczęstszymi manifestacjami naczyniowo-mózgowymi LNB są ogniskowe niedokrwienie i przemijające niedokrwienie mózgu (TIA). U pacjentów w ciągu 1–4 tygodni od pokłucia przez kleszcza, rozwijają się deficyty neurologiczne, zwykle w postaci porażenia wiotkiego lub segmentalnego zaburzenia czucia [5].

4. Dementia-like syndromes – to rzadka manifestacja boreliozy z Lyme.

Częste objawy w tej postaci to utrata masy ciała i zaburzenia chodu na początku choroby, co pomaga w różnicowaniu z chorobą Alzheimera. Mogą pojawić się drżenia. W tej postaci obecna jest pleocytoza w PMR, synteza wewnątrzoponowa przeciwciał (AI) i występuje poprawa po leczeniu antybiotykami.

IV. Neuroborelioza u dzieci

W Europie limfocytowe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (około 30%) i niedowład nerwu twarzowego (ok. 55%) są najczęstszymi objawami neuroboreliozy z Lyme u dzieci. Objawy ZOMR są często bardzo dyskretne i można je przeoczyć przy braku zajęcia nerwów czaszkowych. Najczęściej zajęty jest nerw twarzowy i nerwy gałki ocznej. Objawy korzeniowe u dzieci są rzadkie [4].

Piśmiennictwo:

1. Auwaerter PG, Kobayashi T, Wormser GP. Guidelines for Lyme Disease Are Updated. *The American Journal of Medicine* 202; 11: 1314-1316.
2. Pacewicz S, Moniuszko-Malinowska A, Garlicki A i wsp. Diagnostyka i leczenie boreliozy z Lyme. Standardy Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych, http://www.pteilchz.org.pl/wp-content/uploads/2018/11/borelioza_z_lyme_2018.pdf, dostęp 11.12.2023.
3. Lantos PM, Rumbaugh J, Bockenstedt LK i wsp. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America, American Academy of Neurology, and American College of Rheumatology: 2020 Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Treatment of Lyme Disease. *Neurology* 2021; 96: 262-273..
4. Centre for Disease Prevention and Control. Neurologic Lyme Disease, 2021; <https://www.cdc.gov/lyme/treatment/NeurologicLyme.html>, dostęp 11.12.2023.
5. Zajkowska J, Drozdowski W. Choroby wywołane przez krętki. W: Stępień A (red.) *Neurologia*. Tom 2, Warszawa, Medical Tribune Polska, 2020: 53–75.

2.3.2. Gruźlica ośrodkowego układu nerwowego

Zajęcie OUN występuje u 2-5% chorych na gruźlicę, u chorych z AIDS odsetek ten wzrasta nawet do 10-15%. W krajach o dużej zapadalności na gruźlicę gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych występuje głównie u dzieci, zazwyczaj od 3 do 6 miesięcy po zakażeniu pierwotnym. W regionach o niskiej zapadalności dotyczy głównie dorosłych i choć może być następstwem zakażenia pierwotnego, zwykle jednak rozwija się w wyniku reaktywacji ogniska, pozostającego przez długi czas w uśpieniu [1,2,3].

Gruźlica OUN powstaje w wyniku zakażenia prątkami *Mycobacterium tuberculosis*, na drodze rozsiewu hematogenego z ognisk gruźliczych, najczęściej z płuc, rzadziej z układu kostnego lub moczowo-płciowego. Rzadko do zajęcia OUN może dochodzić także przez ciągłość i szerzenie się procesu zapalnego z ognisk w obrębie głowy – np. u chorych z zapaleniem kości skroniowej i ucha środkowego lub struktur kręgosłupa [4,5]. Odstęp między rozsiewem krwiopochodnym a zajęciem OUN jest różnie długi – od kilku tygodni do wielu lat. Szybki przebieg choroby występuje u małych dzieci lub u dorosłych z obniżeniem odporności [6].

Gruźlica OUN może przybierać różne formy i obejmuje zarówno zmiany pozaosiowe (przymózgowe) oraz wewnątrzmożgowe [7]. Najczęstsze postaci to gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych oraz gruźliczaki. Rzadziej w przebiegu gruźlicy występują typowe ropnie. Sporadycznie opisywane są zmiany o charakterze encefalopatii, bez towarzyszącego ZOMR [8].

I. Gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych

Gruźlicze zapalenie opon stanowi około 1% wszystkich przypadków gruźlicy oraz około 5% przypadków pozapłucnej lokalizacji u osób z prawidłową odpornością. Zapalenie morfologicznie przebiega pod postacią zapalenia leukocyтарnego z serowacieniem wysięku i tworzeniem ziarninaków na powierzchni opon lub powierzchni mózgowia. Choroba rozpoczyna się przebiegiem zawartości serowaciejącego gruzełka (ogniska Richa) do przestrzeni podpajęczynówkowej. W wyniku reakcji na antygeny prątków gruźlicy rozwija się proces zapalny, najczęściej dotyczący opon podstawy mózgu. W tym obszarze, w przestrzeni podpajęczynówkowej gromadzi się gęsty, galaretowaty wysięk. Proces zapalny może uszkadzać nerwy czaszkowe lub/i powodować zaburzenia krążenia płynu mózgowo-rdzeniowego prowadząc do wodogłowia [9].

Obraz kliniczny zależy od postaci, może występować szerokie spektrum objawów, od łagodnych objawów oponowych do śpiączki. W postaci oponowej występują zwykle bóle głowy, gorączka, splątanie, dodatnie objawy oponowe. Początek choroby jest zwykle utajony, z objawami prodromalnymi trwającymi 2-8 tygodni, takimi jak wzrost ciepłoty ciała, apatia, senność, zmiany osobowości od apatii do nadmiernego pobudzenia. W pełnoobjawowym okresie pojawiają się bóle głowy, nudności, wymioty, sztywność karku, w późniejszym okresie także drgawki, szczególnie częste u dzieci. Przy ciężkim przebiegu dochodzi do zaburzeń świadomości i śpiączki. Mogą pojawiać się objawy uszkodzenia nerwów czaszkowych lub objawy ogniskowe w postaci niedowładów kończyn. Obecne mogą być także objawy mózdkowe i piramidowe [3, 4]. U dzieci objawy kliniczne narastają zwykle szybciej, i zespół oponowy może wystąpić nagle. Rokowanie zależy od nasilenia zaburzeń świadomości w początkowym okresie choroby, śmiertelność u chorych nieprzytomnych sięga nawet 50-70%.

U znacznej liczby chorych dochodzi do trwałego uszkodzenia OUN a pozostałością może być upośledzenie umysłowe z utratą pamięci, wodogłowie, padaczka lub trwałe porażenia nerwów czaszkowych [10].

II. Gruźliczaki OUN

Gruźliczaki są zróżnicowane pod względem budowy. Część centralna ulega martwicy serowatej i nie podlega absorpcji, lecz włóknieniu i wapnieniu. Torebka gruźliczaka jest zbudowana z tkanki włóknistej i otoczona niewielką strefą obrzęku. Rzadko dochodzi do upłynnienia zawartości gruźliczaka i przekształcenia się w typowy ropień [11]. Czasem stwierdza się jednocześnie obecność obu procesów – serowacenia i upłynnienia – z powstaniem zmian o charakterze torbielowatym. Gruźlicze zapalenie opon i gruźliczaki mogą występować rozdzielnie lub jako postaci współistniejące, w 10% przypadków u chorych z gruźliczkami jednocześnie występuje postać oponowa. Gruźliczaki mogą występować pojedynczo lub w postaci mnogiej, są zazwyczaj różnej wielkości. Mogą lokalizować się w całym mózgowiu: w przestrzeni podtwardówkowej i podpajęczynówkowej zwykle są wydłużone lub płatowate, gruźliczaki mięszone najczęściej mają kształt okrągły. Zwykle powstają w pótkulach mózgu lub mózdzku, rzadko w pniu mózgu i sporadycznie w rdzeniu kręgowym [11].

Obraz kliniczny zależy od wielkości i umiejscowienia gruźliczaków. Duże zmiany wywołują objawy ciasnoty wewnątrzczaszkowej. Pojawiają się bóle głowy, drgawki, niedowład, zmiany osobowości. Płyn mózgowo-rdzeniowy jest zazwyczaj prawidłowy (przy braku współistniejącego ZOMR) lub stwierdza się jedynie nieznaczne zwiększenie stężenia białka. Pleocytoza i niskie stężenie cukru nie występują.

III. Encefalopatia gruźlicza

Encefalopatia gruźlicza jest rzadką manifestacją gruźlicy OUN. Opisywana jest w pojedynczych przypadkach, wyłącznie u dzieci z gruźlicą płuc [12]. Wyróżnienie tej postaci gruźlicy OUN pozostaje kontrowersyjne, ponieważ nie jest ostatecznie wyjaśnione czy jest wynikiem bezpośredniej infekcji OUN. W opisanych przypadkach stwierdzano rozlane zmiany o typie obrzęku mózgu lub strefy demielinizacyjne w istocie białej, czasem o cechach podobnych do ostrego rozsianego zapalenia mózgu (ADEM). Opisywane w literaturze objawy kliniczne obejmują ogniskowe ubytki neurologiczne, drgawki i zaburzenia świadomości.

Postać oponową gruźlicy należy różnicować z zapaleniami opon o innej etiologii, neurosarkoidozą oraz z przerzutami nowotworowymi do opon. Gruźliczaki wymagają różnicowania z pierwotnymi lub przerzutowymi nowotworami OUN.

Piśmiennictwo:

1. Forssbohm M, Zwahlen M, Loddenkemper R, et al. Demographic characteristics of patients with extrapulmonary tuberculosis in Germany. *Eur Respir J* 2008; 31: 99-105.
2. Peto HM, Pratt RH, Harrington TA, et al. Epidemiology of extrapulmonary tuberculosis in the United States, 1993–2006. *Clin Infect Dis* 2009; 49: 1350-7.
3. Pasco PM. Diagnostic features of tuberculous meningitis: a cross-sectional study. *BMC Res Notes* 2012; 5: 49.
4. Domżał TM. Gruźlica układu nerwowego. *Int Rev Allergol Clin Immunol Family Med* 2013; 19: 67-71.
5. Chou PS, Liu CK, Lin RT, et al. Central nervous system tuberculosis: a forgotten diagnosis. *Neurologist* 2012; 18: 219-22.
6. Drozdowski W, Zajkowska J: Gruźlica ośrodkowego układu nerwowego. *Polski Przegląd Neurologiczny* 2013; 9: 146–151.
7. Burrill J, Williams CJ, Bain G, et al. Tuberculosis: a radiologic review. *Radiographics* 2007; 27: 1255-73.
8. Kim HJ, Shim KW, Lee MK, et al. Tuberculous encephalopathy without meningitis: pathology and brain MRI findings. *Eur Neurol* 2011; 65: 156-9.
9. Cárdenas G, Soto-Hernández JL. The many faces of central nervous system tuberculosis. *Arch Neurol* 2011; 68: 1078.
10. Galimi R. Extrapulmonary tuberculosis: tuberculous meningitis new developments. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011; 15: 365-86.
11. Garg RK. Tuberculosis of the central nervous system. *Postgrad Med J* 1999; 75: 133-40.

2.3.3. Trąd

Trąd (choroba Hansena) jest wywoływany przez bakterię kwasooporną – prątek trądu (*Mycobacterium leprae*), która jest słabo patogennym mikroorganizmem o niewielkiej sile inwazyjnej, wywołującym chorobę po długim okresie wylegania (średnio 5-10 lat). Wyróżnia się dwie główne postaci trądu: tuberkuloidową oraz lepromatyczną.

Obecnie ze względów kliniczno-histologicznych, tj. lokalizację zmian i obraz histopatologiczny (ziarniniaki, skład ziarniny, prątki, stopień uszkodzenia włókien nerwowych), według klasyfikacji Ridleya-Joplinga wyróżnia się jeszcze 3 dodatkowe postaci: pośrednią, pośrednią tuberkuloidową oraz pośrednią lepromatyczną.

Według tej klasyfikacji postaci tuberkuloidową i pośrednią tuberkuloidową zalicza się do trądu ubogokomórkowego, a lepromatyczną, pośrednią i pośrednią lepromatyczną do bogatokomórkowego. W początkowej fazie choroby występuje postać nieokreślona.

Trąd jest chorobą tkanek powierzchniowych, głównie skóry i nerwów obwodowych. Nigdy nie zajmuje ośrodkowego układu nerwowego. Choroba rozpoczyna się zwykle od zmian skórnych w postaci plamek lub zbitych blaszek skórnych o zmienionej barwie (z przebarwieniami lub odbarwieniami). Czasami początek stanowią plackowate zaburzenia czucia powierzchniowego lub parestezje. Na początku występuje postać nieokreślona, mogąca w zależności od stanu odporności organizmu przybierać jeden z pięciu wariantów klinicznych (postać tuberkuloidową, pośrednią tuberkuloidową, pośrednią, pośrednią lepromatyczną lub lepromatyczną). Postacie skrajne (biegunowe) trądu spotykane są obecnie dość rzadko. Najczęściej występują przypadki jednego z trzech typów trądu „pośredniego”, które obejmują w różnym stopniu cechy obu skrajnych postaci [1]. Obecnie obserwuje się rosnącą liczbę przypadków trądu na Florydzie (USA).

Piśmiennictwo:

1. Drozdowski W. Zajkowska J. Choroby wywołane przez prątki. W: Neurologia. T. 2. Red. nauk. Adam Stępień.: Wyd. 2 Medical Tribune Polska, 2020, s. 96-113.

2.3.4. Kiła ośrodkowego układu nerwowego

Kiła (syphilis, lues) jest przewlekłą wieloukładową chorobą zakaźną wywołowaną przez krętka bladego (*Treponema pallidum*). Cechuje ją bogata symptomatologia i wieloetapowy przebieg z okresami bezobjawowego utajenia. Kiła jest wywołwana przez jeden z pięciu podgatunków krętka bladego (*Treponema pallidum subspecies pallidum*), którego jedynym naturalnym gospodarzem jest człowiek. Źródłem zakażenia jest osoba chora mająca zmiany chorobowe na skórze lub błonach śluzowych. Zakażenie następuje najczęściej przez kontakt płciowy. Wrotami zakażenia są drobne uszkodzenia błony śluzowej lub naskórka. Okres wylegania trwa 9-90 dni (średnio 2-4 tygodnie). Największa zakaźność występuje w przebiegu kiły wczesnej objawowej, tzn. w pierwszym i drugim okresie, kiedy na skórze i błonach śluzowych powstają wykwity obfitujące w krętki blade.

Określenie neurosyphilis odnosi się do zakażenia krętkiem bladym układu nerwowego, w każdym momencie po zakażeniu organizmu. Postacie objawowe dotyczą przede wszystkim kiły drugo- i trzeciorzędowej. W kile pierwszorzędowej zmiany w układzie nerwowym zazwyczaj nie występują, chociaż u 1/3 chorych dochodzi do rozprzestrzenienia się bakterii do OUN.

Kiła układu nerwowego może przebiegać, jako:

- kiła bezobjawowa układu nerwowego,
- kiła objawowa układu nerwowego w postaci: oponowej, oponowo-naczyniowej (rzadko tylko naczyniowej), mięszowej (porażenie uogólnione lub wiąd rdzenia).

W czasach przed wynalezieniem antybiotyków była chorobą powszechną, rozwijającą się u 25-35% osób zakażonych krętkiem bladym. Obecnie kiła układu nerwowego występuje bardzo rzadko, zazwyczaj, jako kiła wczesna OUN (kiłowe zapalenie opon – bezobjawowe lub rzadko ostre). Częściej rozwija się u chorych zakażonych dodatkowo HIV (zwłaszcza z małą liczbą limfocytów T CD4+). Postacie późne, takie jak wiąd rdzenia czy porażenie postępujące, nie są spotykane ze względu na skuteczne leczenie postaci wcześniejszych oraz stosowanie antybiotyków, również z innych, niezwiązanych z kiłą przyczyn. Objawowa kiła układu nerwowego rozwija się u ok. 10% nieleczonych chorych, a prawdopodobieństwo powikłań neurologicznych zwiększa się z czasem trwania choroby. Częstość występowania poszczególnych postaci uległa dużym zmianom. W czasach, kiedy nie

znano antybiotyków, dominowała kiła mięszkowa – wiąd rdzenia (>45% wszystkich postaci) i porażenie postępujące (ok. 20%) – które często prowadziły do śmierci z powodu powikłań. Obecnie dominuje kiła oponowo-naczyniowa (do 60% chorych), o dużo lepszym rokowaniu.

Kiła pierwszorzędowa

Zajęcie ośrodkowego układu nerwowego przez *Treponema pallidum* może nastąpić w pierwszych tygodniach lub miesiącach zakażenia. Nieprawidłowy obraz płynu mózgowo-rdzeniowego stwierdza się aż u 25-30% chorych. U części z nich po okresie przemijającego ZOMR (zwykle bezobjawowego) może nastąpić samoistne wyleczenie. U pozostałych po zakażeniu przestrzeni wewnątrzoponowej dochodzi do przetrwałego zapalenia (zwykle utajonego). U chorych, u których nie nastąpi samoistne wyleczenie, istnieje ryzyko pojawienia się postaci objawowych kiły układu nerwowego.

Kiła drugorzędowa

Kiła drugorzędowa pojawia się w pierwszych 2-12 tygodniach od zakażenia. W kile drugorzędowej może wystąpić przetrwałe bezobjawowe ZOMR lub ostre zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, oba o charakterze limfocytarnym. Cechy morfologiczne zapalenia są nieswoiste. Jest to pogrubienie opon i naciek z komórek jednojądrzastych, zwłaszcza u podstawy mózgu. Powszechnie występującym składnikiem nacieku zapalnego są plazmocyty. Ich obecność świadczy o kiłowej etiologii zmian. Stwierdza się podwyższone stężenie białka i obniżone lub prawidłowe stężenie glukozy. Sporadycznie w płynie mózgowo-rdzeniowym za pomocą badania mikroskopowego wykrywa się krętki.

Kiła trzeciorzędowa

U około 1/3 chorych nieleczonych rozwija się kiła późna (trzeciorzędowa), będąca wolno postępującym procesem zapalnym. Do kiły trzeciorzędowej zalicza się postać:

- kilakową,
- sercowo-naczyniową,
- neurologiczną.

Tabela 2. Okresy trwania poszczególnych etapów kiły nabytej

Kiła nabyta		Czas od zakażenia	Objawy	Możliwe zmiany w układzie nerwowym	
WCZESNA	Okres inkubacji	9-90 dni, średnio 21 dni	Brak	Bezobjawowe zapalenie opon	
	I	Surowiczoujemna	3-6 tygodni	Zmiana pierwotna	
		Surowiczododatnia	6-9 tygodni		
		Wczesna	9-16 tygodni	Osutka kiłowa	Przetrwałe bezobjawowe ZOMR
	II	Nawrotowa	16 tygodni - 2 lata	Osutki nawracające, grudki, kłykciny	Wczesna objawowa kiła układu nerwowego: • ostre ZOMR • objawy neurologiczne związane ze zmianami oponowymi
PÓZNA	II	Utajona	< 2 lat	Zmiany zapalne w płynie mózgowo-rdzeniowym	Jw. oraz Kiła naczyniowa i oponowo-naczyniowa
		Utajona	> 2 lat	Zmiany zapalne w płynie mózgowo-rdzeniowym	Jw. oraz Kilaki Wiąd rdzenia Porażenie postępujące
	III	Objawowa	> 5 lat	Uszkodzenie układu nerwowego, układu krążenia, kilaki	

W kile trzeciorzędowej zakażenie układu nerwowego zajmuje opony, naczynia lub struktury głębokie mózgu. Możliwe są kombinacje różnych lokalizacji zakażenia. W naczyniach często występują zmiany proliferacyjne lub włóknienie, co może prowadzić do niedokrwienia mózgu i powstania ognisk zawałowych. Z czasem może rozwinąć się włóknienie opon mózgowo-rdzeniowych z następczym utrudnieniem lub zamknięciem przepływu płynu mózgowo-rdzeniowego i wodogłowiem.

Zmiany oponowo-naczyniowe obejmujące część podpajęczynówkową korzeni grzbietowych rdzenia kręgowego powodują zwyrodnienie włókien czuciowych i objawy wiądu rdzenia. Okres utajenia w kile naczyniowo-oponowej trwa 5-10 lat od zakażenia pierwotnego. Zakażeniu krętkowemu opon może towarzyszyć zakażenie mięszu mózgu, którego skutkiem jest zanik kory, utrata neuronów i proliferacja wydłużonych komórek mikrogleju (mikroglej pałeczkowaty), powodujące objawy porażenia postępującego. Postacie mięszowe ujawniają się później, bo po 10-30 latach od infekcji początkowej. Kiła układu nerwowego obejmuje wszystkie stadia choroby i stanowi continuum zakażenia organizmu. Często jest to choroba o objawach słabo wyrażonych i postaci mieszanej.

Rozpoznanie kiły układu nerwowego opiera się na:

- typowych dla określonej postaci objawach klinicznych
- badaniu ogólnym płynu mózgowo-rdzeniowego
- ocenie odczynów serologicznych w równocześnie pobranej próbce osocza i płynu mózgowo-rdzeniowego.

W diagnostyce różnicowej należy uwzględnić przede wszystkim zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych o innej etiologii, zwłaszcza z odczynem limfocytarnym, takie jak neuroboreliozę, zakażenia wirusowe, grzybicze lub pasożytnicze. Rozstrzygające znaczenie mają inne objawy kliniczne towarzyszące kile oraz odczyn VDRL w płynie mózgowo-rdzeniowym.

W diagnozowaniu kiły oponowo-naczyniowej mózgu i rdzenia należy rozważyć wszystkie inne sytuacje kliniczne, które prowadzą do udarów niedokrwienych. U wielu chorych występują w tej postaci objawy prodromalne, takie jak bóle głowy, senność i zmiany osobowości. Rozpoznanie potwierdzają zmiany zapalne w płynie mózgowo-rdzeniowym i dodatni odczyn VDRL. Kiła mięszowa (zarówno porażenie postępujące, jak i wiąd rdzenia) obecnie występuje bardzo rzadko. O rozpoznaniu decyduje wywiad, charakterystyczny bogaty obraz kliniczny oraz wyniki badania płynu mózgowo-rdzeniowego [1].

Piśmiennictwo:

1. Zajkowska J, Drozdowski W. Choroby wywołane przez krętki. W: Stępień A (red.) Neurologia. Tom 2, Warszawa, Medical Tribune Polska, 2020: 53–75.

2.4. Wirusowe czynniki zakażeń OUN

2.4.1. Enterowirusy

Enterowirusy są szeroko rozpowszechnionymi w skali świata, bezosłonowymi wirusami RNA należącymi do rodziny *Picornaviridae*, rodzaju *Enterovirus*. Obok nieistotnych w kontekście zakażeń układu nerwowego rinowirusów A-C, rodzaj *Enterovirus* zawiera 4 chorobotwórcze dla człowieka gatunki enterowirusów (EV) A-D, które obejmują 116 typów [1]. W latach 50. ubiegłego wieku poliovirusy 1-3 (PV 1-3, należące do gatunku Enterovirus C) były przyczyną ciężkich epidemii porażennych. Zakażenia enterowirusami innymi niż polio (NPEV; non-polio enteroviruses) mogą mieć różnorodny przebieg, w zależności od typu EV, wieku i statusu układu odpornościowego gospodarza [2]. Większość zakażeń u dzieci powyżej 5. lat i dorosłych jest bezobjawowa, natomiast zakażenia objawowe zwykle mają łagodny i samoograniczający się przebieg. Zakażenia enterowirusowe mogą manifestować się, m.in. jako ostre zakażenia dróg oddechowych, zakażenia przewodu pokarmowego, choroba dłoni stóp i jamy ustnej (HFMD, hand-foot-and-mouth disease „choroba bostońska”), herpangina, pleurodynia, zapalenie mięśnia sercowego lub nieswoista choroba gorączkowa. Czasami zakażenie może mieć charakter postępujący, najczęściej z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego. Enterowirusy są najczęstszymi czynnikami etiologicznymi aseptycznego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, stanowiąc od 39% do 76,8% przypadków oraz odpowiadają za ok. 10% przypadków zapalenia mózgu o ustalonej przyczynie [3–5]. W erze „post-polio” odnotowano liczne epidemie zagrażających życiu neuroinfekcji wywołanych przez NPEV (głównie EV A71 i EV D68), w tym ostre porażenia wiotkich, zapalenia pnia mózgu, zapalenia mózgu i rdzenia [1].

Źródło zakażenia i transmisja. Człowiek jest jedynym rezerwuarem i źródłem zakażenia. Enterowirusy przenoszone są głównie drogą fekalno-oralną, w mniejszym stopniu drogą kropelkową (np. EV D68). Osoby zakażone wydalają wirusa z kałem lub wydzieliną z dróg oddechowych nawet przez kilka tygodni [6].

Sezonowość. W strefie klimatu umiarkowanego szczyt zachorowań przypada na lato i wczesną jesień (w strefie subtropikalnej zakażenia enterowirusowe występują przez cały rok).

Czynniki ryzyka. Czynniki ryzyka neuroinfekcji są młody wiek (szczególnie dzieci do 4. lat) oraz agammaglobulinemia [7,8].

Zapadalność. Dane dotyczące zapadalności są ograniczone. Szacunkowe dane pochodzące z dużych, prospektywnych badań angielskich (2011-2014) i duńskich (2015-2019) wskazują na zapadalność na enterowirusowe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych w populacji osób dorosłych na poziomie 1,57–1,80/100 000 [4,9].

Wg danych NIZP-PZH w Polsce przed wybuchem pandemii COVID-19, w latach 2018 i 2019 zarejestrowano odpowiednio 110 i 134 przypadki enterowirusowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, co odpowiada zapadalności na poziomie: 0,29 i 0,35/100 000. W latach 2020-2022 wskaźniki zapadalności były niższe niż 0,15/100 000 (w tym okresie rejestrowano od 5 do 53 przypadków rocznie) [10].

2.4.2. Herpeswirusy

Herpeswirusy stanowią grupę dużych, ostonkowych wirusów DNA należących do rodziny *Herpesviridae*, których wspólną cechą jest m.in. zdolność do wywoływania zakażeń latentnych. Wyróżnia się osiem ludzkich herpeswirusów (HHV, Human herpesvirus type 1-8), w tym należące do podrodziny:

Alfaherpesvirinae: wirus opryszczki zwykłej 1 (Herpes simplex virus type 1; HSV-1 lub HHV-1), wirus opryszczki zwykłej 2 (HSV-2 lub HHV-2), wirus ospy wietrznej i półpaśca (*Varicella Zoster Virus*; VZV lub HHV-3);

Betaherpesvirinae: ludzki wirus cytomegalii (CMV lub HHV-5, dalej określane jako CMV), ludzki herpeswirus typu 6A (HHV-6A), HHV-6B oraz HHV-7;

Gammaherpesvirinae: wirus Epsteina-Barr (EBV, lub HHV-4) oraz wirus związany z mięsakiem Kaposiego (Kaposi sarcoma-associated herpesvirus; KSHV lub HHV-8).

Spośród wymienionych ludzkich herpeswirusów, częstymi czynnikami etiologicznymi zakażeń ośrodkowego układu nerwowego są wirusy opryszczki zwykłej (HSV-1 i -2) oraz wirus ospy wietrznej i półpaśca (VZV) [11]. Poza okresem noworodkowym, opryszczkowe zapalenie mózgu (HSE, Herpes simplex encephalitis) w ponad 90% przypadków wywoływane jest przez HSV-1 i najczęściej jest wynikiem reaktywacji zakażenia latentnego [12]. Natomiast zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych zwykle jest wywoływane przez HSV-2 i może być wynikiem zakażenia pierwotnego lub nawrotowego (tzw. zespół Mollareta, który dot. 20-30% osób z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii HSV-2) [13]. Wirus ospy wietrznej i półpaśca jest drugim, po HSV najczęstszym czynnikiem etiologicznym zapalenia mózgu w krajach zachodnich [14]. W krajach endemicznego występowania arbowirusów plasuje się na 3. miejscu (w Polsce po HSV i TBEV). Powikłania neurologiczne w obrębie ośrodkowego układu nerwowego mogą być efektem zarówno zakażenia pierwotnego (np. zapalenie mózdzku, zapalenie mózgu lub zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu, jako powikłanie ospy wietrznej), jak i reaktywacji (powikłanie półpaśca, często bez towarzyszących zmian skórnych – tzw. *zoster sine herpette*) [13]. Z pozostałych herpeswirusów, zapalenie mózgu może wywoływać CMV, przede wszystkim u osób w immunosupresji (po transplantacji narządu litego lub komórek macierzystych szpiku kostnego oraz u osób z zaawansowanym zakażeniem HIV). Sporadycznie neuroinfekcje CMV mogą występować także u osób immunokompetentnych [11]. Ponadto, w przebiegu cytomegalii wrodzonej może dochodzić do zajęcia mózgu [15]. Zakażenie HHV-6 w rzadkich przypadkach może prowadzić do zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu, jako powikłanie rumienia nagłego lub w przebiegu zakażenia u osób z niedoborami immunologicznymi typu komórkowego [16]. Z uwagi na zjawisko występowania wirusowego DNA w postaci cHHV-6 we krwi i płynie mózgowo-rdzeniowym zdrowych osób, a także występowania częstej reaktywacji zakażenia latentnego do której może dochodzić w przebiegu zakażeń o innej etiologii, HHV-6 jako potencjalny czynnik neuroinfekcji powinien być rozważany po uprzednim wykluczeniu innych przyczyn [13]. Zapalenie mózgu o etiologii EBV jest rzadkim

powikłaniem mononukleozy zakaźnej. Odnotowano również przypadki zapalenia mózgu będące wynikiem reaktywacji zakażenia latentnego EBV u osób w immunosupresji [17].

Źródło zakażenia i transmisja. Jedynym rezerwuarem herpeswirusów zakażających ludzi (nie dot. małpiego Herpesvirusa B) jest człowiek. Herpeswirusy zwykle szerzą się przez kontakt bezpośredni z materiałem zakaźnym (wydzieliny, wydaliny). Drogą kontaktów seksualnych mogą być przenoszone zakażenia HSV i CMV, prawdopodobnie również EBV. Zakażenia VZV, szerzą się przez kontakt bezpośredni ze zmianami pęcherzykowymi oraz drogą powietrzno-kropelkową w czasie 1-2 dni poprzedzających pojawienie się wysypki i w okresie kilku pierwszych dni po jej wystąpieniu (w porównaniu do ospy wietrznej, zakaźność w przebiegu półpaśca jest dłuższa i trwa od momentu pojawienia się wykwitów na skórze do czasu ich przyschnięcia). Do zakażenia wewnątrzmacicznego może dojść w przypadku zakażeń HSV, VZV i CMV. Większość noworodków zakażonych HSV nabywa infekcję w czasie porodu. CMV, EBV i HHV-6 mogą być przenoszone wraz z przeszczepianym narządem lub przez krew [18].

Czynniki ryzyka. Dużym ryzykiem infekcji ośrodkowego układu nerwowego obarczone są noworodki (dot. głównie zakażeń HSV-1/2 i CMV) [7]. Do grup ryzyka występowania neuroinfekcji herpeswirusowych należą osoby w immunosupresji, po przeszczepieniach narządów litych lub komórek macierzystych szpiku kostnego (CMV, EBV, VZV i HHV-6) [14]. Osoby z zakażeniem HIV stanowią grupę ryzyka dla zakażeń o etiologii CMV, VZV i HSV [13]. Pacjenci leczeni przeciwciałami monoklonalnymi mają zwiększone ryzyko zakażeń ośrodkowego układu nerwowego o etiologii HSV i VZV [14].

Zapadalność. Na podstawie wyników prospektywnego badania przeprowadzonego w latach 2011-2014 w Wielkiej Brytanii, szacunkowa roczna zapadalność na opryszczkowe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych oraz zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii VZV w populacji osób dorosłych, wynosi odpowiednio 0,78 i 0,36/100 000 [4]. Według danych NIZP PZH-PIB w latach 2017–2022, w Polsce rocznie rejestrowano od 10 do 32 przypadków opryszczkowego zapalenia mózgu, co odpowiada zapadalności na poziomie od 0,03 do 0,08/100 000. W przypadku zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii VZV w tym okresie raportowano od 2–13 przypadków, co odpowiada zapadalności na poziomie od 0,005 do 0,034/100 000 [10].

2.4.3. Wirus kleszczowego zapalenia mózgu

Wirus kleszczowego zapalenia mózgu (TBEV, Tick-borne encephalitis virus) jest wirusem RNA, należącym do rodziny *Flaviviridae*, rodzaju *Flavivirus*. Występują trzy podtypy wirusa TBE, różniące się pod względem genetycznym: europejski, syberyjski i dalekowschodni. W ostatnim czasie zaproponowano dwa dodatkowe podtypy TBE (bajkalski i himalajski) [19]. Podtyp europejski (TBE-Eu) występuje w zachodniej, północnej, środkowej i wschodniej części Europy. TBEV jest czynnikiem etiologicznym jednej z najczęściej zgłaszanych w Europie chorób przenoszonych przez kleszcze – kleszczowego zapalenia mózgu (KZM). Większość zakażeń wywoływanych przez podtyp TBEV-Eu, przebiega bezobjawowo (70-98%), podczas gdy zakażenia objawowe najczęściej mają przebieg dwufazowy. W pierwszej fazie – wiremii (rozwijającej się zwykle po 7-14 dniach od zakażenia) występują niespecyficzne objawy grypopodobne. W 13 – 26% przypadków zakażeń, choroba kończy się na pierwszej fazie, a w pozostałych przypadkach, po kilku dniach dobrego samopoczucia, występuje druga faza choroby (neurologiczna) [20]. W drugiej fazie choroba może przybierać 4 postaci: oponową (*meningitis*), oponowo-mózgową (*encephalomeningitis*), oponowo-mózgowo-rdzeniową (*meningoencephalomyelitis*) oraz zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, mózgu i korzeni nerwowych (*meningoencephaloradiculitis*). Śmiertelność w przypadku KZM wywołanego podtypem TBEV-Eu nie przekracza 2%, natomiast w 26-46% przypadków występują powikłania neurologiczne (częściej dotyczą postaci przebiegających z zajęciem mózgu) [21,22].

Źródło zakażenia i transmisja. Naturalnym gospodarzem TBEV są małe ssaki, w tym: gryzonie (myszy), owadożerne (jeże) oraz mięsożerne (lisy). Do zakażenia człowieka dochodzi podczas ukłucia przez kleszcza (w Polsce wektorem TBEV jest *Ixodes ricinus*). Wirus przedostaje się do krwi w ciągu kilku minut od momentu rozpoczęcia ssania przez kleszcza (TBEV znajduje się w gruczołach ślinowych kleszcza, stąd też szybkie usunięcie kleszcza nie chroni przed zakażeniem). Rzadko do zakażenia dochodzi drogą pokarmową po spożyciu niepasteryzowanego mleka (krowiego, koziego, owczego) pochodzącego od zwierzęcia w fazie wiremii [22]. W literaturze opisano przypadki zakażeń krwiopochodnych (wskutek zakłucia, zranienia oraz wraz z przeszczepianym narządem) [23].

Sezonowość. Zachorowania na KZM odnotowuje się w okresie od maja do późnej jesieni (sezon aktywności kleszczy) [24].

Czynniki ryzyka. Wśród czynników ryzyka ciężkiego przebiegu KZM wymienia się starszy wiek oraz leczenie immunosupresyjne, w tym przyjmowanie glikokortykosteroidów [22].

Zapadalność. W 2020 roku w Europie zgłoszono 3817 przypadków KZM z czego potwierdzono 3734 (zapadalność 0,9/100 000), co stanowi dalszy wzrost wskaźników zapadalności w porównaniu z rokiem 2019 (0,7/100 000) oraz zapadalnością na poziomie 0,6/100 000 obserwowaną w latach 2016-2018. Większość udokumentowanych przypadków zakażeń (95%) została odnotowana między majem a listopadem [24].

Według danych NIZP PZH-PIB w latach 2020, 2021, 2022 zarejestrowano w Polsce odpowiednio 158, 210 i 446 przypadków wirusowego zapalenia mózgu przenoszonego przez kleszcze, co daje zapadalność na poziomie 0,41, 0,55 i 1,18/100 000. Rejonem endemicznym występowania KZM są województwa podlaskie i warmińsko-mazurskie [10].

2.4.4. Inne wirusowe czynniki etiologiczne neuroinfekcji

W tabeli 3 przedstawiono inne, rzadsze wirusowe czynniki zakażeń ośrodkowego układu nerwowego [2,7,8,11,13,25–28].

Tabela 3. Rzadkie wirusowe czynniki zakażeń OUN.

Czynnik etiologiczny	Charakterystyka, czynniki ryzyka
Ludzki parechowirus 3 (Human parechovirus 3, HPeV-3)	Wirus RNA z rodziny <i>Picornaviridae</i> , rodzaju <i>Parechovirus</i> , odpowiedzialny za ciężkie zakażenia u noworodków i niemowląt, często przebiegające z zajęciem ośrodkowego układu nerwowego.
Parwovirus B19	Wirus DNA z rodziny <i>Parvoviridae</i> . Czynnikiem etiologicznym rumienia zakaźnego. Szczególnie u dzieci coraz częściej obserwuje się zakażenia ośrodkowego układu nerwowego pod postacią zapalenia mózgu.
Adenowirusy (w tym typ 7)	Wirusy DNA z rodziny <i>Adenoviridae</i> . Do grupy ryzyka rozwoju zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu należą dzieci, i osoby w immunosupresji. Neuroinfekcja może mieć charakter pierwotny lub stanowić powikłanie zakażenia dróg oddechowych.
Ludzki wirus niedoboru odporności (HIV, Human immunodeficiency virus)	Wirus RNA z rodziny <i>Retroviridae</i> . Szacuje się, że do 24% przypadków ostrej infekcji reowirusowej może przebiegać z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych.
Wirus świnki (MuV, Mumps virus)	Wirus RNA z rodziny <i>Paramyxoviridae</i> . W 1-10% przypadków świnki obserwuje się zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (w rzadkich przypadkach bez zajęcia ślinianek). Zapalenie mózgu występuje sporadycznie (<1% przypadków). Do grupy ryzyka należą osoby niezaszczepione przeciwko śwince, szczególnie płci męskiej.
Wirus odry (MeV, Measles virus)	Wirus RNA z rodziny <i>Paramyxoviridae</i> . W przebiegu odry może dochodzić do rozwoju zapalenia mózgu. Rzadkim, późnym powikłaniem odry jest podostre twardniejące zapalenie mózgu (SSPE, subacute sclerosing panencephalitis). Do grupy ryzyka należą osoby niezaszczepione przeciwko odrze.
Wirus różyczki (RuV, Rubella virus)	Wirus RNA z rodziny <i>Togaviridae</i> . Powikłania w przebiegu różyczki mogą przebiegać w postaci zapalenia mózgu. Grupą ryzyka są osoby niezaszczepione przeciwko różyczce.
Wirus grypy (Influenza virus A i B, IVA i B)	Wirus RNA, należący do rodziny <i>Orthomyxoviridae</i> . Obserwuje się powikłania grypy w postaci zapalenia mózgu, zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu – częściej u dzieci niż u dorosłych.
Wirus wścieklizny (Rabies virus)	Wirus RNA z rodziny <i>Rhabdoviridae</i> . Wścieklizna jest chorobą odzwierzęcą, o najwyższym współczynniku śmiertelności wśród chorób zakaźnych. Kliniką następstwem zakażenia jest ostre zapalenie mózgu.
Wirus limfocytarnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i spłotów naczyniówkowych (LCMV, Lymphocytic choriomeningitis virus)	Wirus z rodziny <i>Arenaviridae</i> , czynnikiem etiologicznym aseptycznego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych. Do zakażenia ludzi dochodzi w wyniku kontaktu z gryzoniami lub ich wydaliniami. Większość zakażeń występuje u tzw. młodych dorosłych.

Piśmiennictwo:

1. Bubba L, Broberg EK, Jasir A i wsp. Circulation of non-polio enteroviruses in 24 EU and EEA countries between 2015 and 2017: a retrospective surveillance study. *Lancet Infect Dis.* 2020;20: 350–361.
2. Gundamraj V, Hasbun R. Viral meningitis and encephalitis: An update. *Curr Opin Infect Dis.* 2023;36: 177–185.
3. De Ory F, Avellón A, Echevarría JE i wsp. Viral infections of the central nervous system in Spain: A prospective study. *J Med Virol.* 2013;85: 554–562.
4. McGill F, Griffiths MJ, Bonnett LJ i wsp. Incidence, aetiology, and sequelae of viral meningitis in UK adults: a multicentre prospective observational cohort study. *Lancet Infect Dis.* 2018;18: 992–1003.
5. Petersen PT, Bodilsen J, Jepsen MPG i wsp. Clinical features and prognostic factors in adults with viral meningitis. *Brain.* 2023;146: 3816–3825.
6. European Centre for Disease Prevention and Control. Rapid risk Assessment—Enterovirus detections associated with severe neurological symptoms in children and adults in European countries, 8 August 2016. Stockholm: ECDC; 2016.
7. Tunkel AR, Glaser CA, Bloch KC i wsp. IDSA Guidelines for Management of Encephalitis The Management of Encephalitis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America. 2008; 303–327.
8. McGill F, Griffiths MJ, Solomon T. Viral meningitis: current issues in diagnosis and treatment. *Curr Opin Infect Dis.* 2017;30: 248–256.
9. Bodilsen J, Mens H, Midgley S i wsp. Enterovirus Meningitis in Adults. *Neurology.* 2021;97: e454–e463.
10. NIZP-PZH. Meldunki epidemiologiczne. https://www.ozd.pzh.gov.pl/oldpage/epimeld/index_p.html, dostęp 17.11.2023.
11. Sánchez-Menoyo JL, Portillo JB. Acute viral encephalitis: Herpesviruses and enteroviruses. W: García-Moncó J (red.) *CNS Infections: A Clinical Approach: Second ed.* Springer International Publishing, Switzerland, 2018, 61–85.
12. Bloch KC. Herpes Simplex and Varicella Zoster Virus. W: Hasbun R (red.) *Meningitis and Encephalitis.* Springer International Publishing, Switzerland, 2018, 125–140.
13. Krett JD, Beckham JD, Tyler KL i wsp. Neurology of Acute Viral Infections. *Neurohospitalist.* 2022;12: 632–646.
14. Boucher A, Herrmann JL, Morand P i wsp. Epidemiology of infectious encephalitis causes in 2016. *Med Mal Infect.* 2017;47: 221–235.
15. Gaur P, French-Constant S, Kachramanoglou C i wsp. Is it not time for international guidelines to combat congenital cytomegalovirus infection? A review of central nervous system manifestations. *Clin Radiol.* 2020;75: 644.e7–644.e16.
16. Miura H, Kawamura Y, Hattori F i wsp. Human herpesvirus-6B infection in pediatric allogeneic hematopoietic stem cell transplant patients: Risk factors and encephalitis. *Transpl Infect Dis.* 2020; 22:e13203.
17. Keohane C (Katy), Gray F. Varicella-Zoster Virus and Epstein-Barr Virus Infections of the CNS. W: Chrétien F, Thong Wong K, Sharer LR, Keohane C (Katy), Gray F (red.) *Infections of the Central Nervous System.* Wiley; 2020, 55–64.
18. Cohen JL. Introduction to Herpesviridae W: Bennet JE, Dolin R, Blaser M (red). Bennett, John. Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Eighth ed. Philadelphia PA: Elsevier Saunders; 2015, 1708.
19. Tkachev SE, Babkin IV., Chicherina GS i wsp. Genetic diversity and geographical distribution of the Siberian subtype of the tick-borne encephalitis virus. *Ticks Tick Borne Dis.* 2020;11: 101327.
20. Pancewicz SA, Garlicki AM, Moniuszko-Malinowska A i wsp. Diagnostyka i Leczenie Chorób Przenoszonych Przez Kleszcze Rekomendacje Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych. *Przegl Epidemiol.* 2015; 69: 421–428.
21. Ruzek D, Avšič Županc T, Borde J i wsp. Tick-borne encephalitis in Europe and Russia: Review of pathogenesis, clinical features, therapy, and vaccines. *Antiviral Res.* 2019;164: 23–51.
22. Sudhinda P. Tick-Borne Infections of the Central Nervous System. W: Kon K, Ral M (red.). *The Microbiology of Central Nervous System Infections.* Academic Press; 2018. 173–195.
23. Martello E, Gillingham EL, Phalkey R i wsp. Systematic review on the non-vectorial transmission of Tick-borne encephalitis virus (TBEv). *Ticks Tick Borne Dis.* 2022; 13:102028.
24. European Centre for Disease Prevention and Control. Tick-borne encephalitis. In: ECDC. Annual epidemiological report for 2020. Stockholm: ECDC; 2022.
25. Renaud C, Harrison CJ. Human Parechovirus 3: The Most Common Viral Cause of Meningoencephalitis in Young Infants. *Infect Dis Clin North Am.* 2015;29: 415–428.

26. Barah F, Whiteside S, Batista S i wsp. Neurological aspects of human parvovirus B19 infection: A systematic review. *Rev Med Virol.* 2014;24: 154–168.
27. Schwartz KL, Richardson SE, MacGregor D i wsp. Adenovirus-Associated Central Nervous System Disease in Children. *J Pediatr.* 2019;205: 130–137.
28. Goenka A, Michael BD, Ledger E i wsp. Neurological Manifestations of Influenza Infection in Children and Adults: Results of a National British Surveillance Study. *Clin Infect Dis.* 2014;58: 775–784.

2.5. Grzybicze czynniki zakażeń OUN i ropni mózgu

Grzyby nie są częstymi czynnikami etiologicznymi zakażeń ośrodkowego układu nerwowego. Patogeny: *Cryptococcus* spp., *Candida* spp., *Trichosporon* spp., *Aspergillus* spp., *Fusarium* spp., grzyby dimorficzne (*Blastomyces dermatitidis*, *Coccidioides* spp., *Histoplasma capsulatum*), *Mucoromycetes* (*Mucor* spp., *Rhizopus* spp.), *Cladophialophora bantiana*, *Exophiala dermatitidis* mogą stanowić czynniki infekcyjne zakażenia OUN. Infekcje te mogą przebiegać pod postacią zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i ropni mózgu z naciekiem naczyń krwionośnych lub bez ich zajęcia. Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (ZOMR) zazwyczaj występuje, jako wtórne powikłanie u pacjentów operowanych neurochirurgicznie – np. po założeniu zastawki komorowo-otrzewnowej [1-3].

Tabela 4. Grzybicze czynniki etiologiczne neuroinfekcji [2]

Obraz kliniczny	Czynniki etiologiczne
Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (Meningitis)	<i>Cryptococcus</i> <i>Coccidioides</i> <i>Exserohilum</i> <i>Candida</i> <i>Histoplasma</i>
Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu (Meningoencephalitis)	<i>Cryptococcus</i> <i>Coccidioides</i> <i>Candida</i>
Ropień mózgu (Abscessus cerebri)	<i>Aspergillus</i> <i>Candida</i> <i>Mucoromycetes</i> <i>Blastomyces</i> <i>Coccidioides</i> <i>Histoplasma</i>
Zakażenie nosowo-oczodołowo-mózgowe (Rhi-cerebritis)	<i>Mucor</i> <i>Rhizopus</i> <i>Absidia</i> <i>Rhizomucor</i> <i>Syncephalastrum</i>

Ropnie mózgu (RM) przebiegają z objawami zapalenia ośrodkowego układu nerwowego z największym współczynnikiem śmiertelności. Występują częściej u mężczyzn niż u kobiet a wskaźnik zachorowalności jest najwyższy w czwartej dekadzie życia [2,3]. Powstawanie ropnia mózgowego następuje przez ciągłość, drogą krwiopochodną lub przerzutową. Infekcje grzybicze blokują naczynia o dużej i średniej wielkości, powodując zakrzepicę tętnic mózgowych i zawał. Zawałowi septycznemu towarzyszy powstanie ropni a śmiertelność waha się od 75 do 100%, pomimo intensywnego leczenia amfoterycyną B [4]. RM jest jedyną infekcją OUN, w której nakłucie lędźwiowe (LP) nigdy nie jest zalecane, a nawet może być przeciwwskazane. Pacjenci z ciężkimi schorzeniami neurologicznymi (choroba Alzheimera, choroba Parkinsona

lub zakażeni HIV/AIDS) biorcy przeszczepów narządów litych i hematologicznych komórek macierzystych są narażeni na wysokie ryzyko wystąpienia oportunistycznego RM. Stosowanie kortykosteroidów i innych leków immunosupresyjnych zwiększa częstość występowania oportunistycznych patogenów powodujących ropnie mózgu. Czynniki etiologicznymi RM są: *Aspergillus*, *Cryptococcus*, *Coccidioides* i inne patogeny grzybicze są czynnikami etiologicznymi RM [5].

2.5.1. *Candida*

Rodzaj *Candida* bytuje na błonach śluzowych stanowiąc naturalny mikrobiom. Translokacja przez błonę śluzową jelita w wyniku urazu jest najczęstszym mechanizmem kandydemii, który może prowadzić do neuroinfekcji. *Candida albicans* jest najczęstszym czynnikiem etiologicznym zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i ropni mózgu. Inne gatunki *Candida*: *Candida tropicalis*, *Candida glabrata*, *Candida krusei*, *Candida lusitanae*, *Candida parapsilosis* rzadziej są czynnikami infekcji OUN. Rozpoznanie zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych u pacjentów nowotworowych może być przypadkowe podczas nakłucia lędźwiowego w celu podania chemioterapii dooponowej, albo może być wynikiem klinicznego podejrzenia rozsianej kandydozy [1]. Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych częściej występuje u niemowląt i najczęściej dotyczy wcześniaków. Nielezione zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii *Candida* u noworodków wiąże się ze złym rokowaniem zarówno pod względem zachorowalności, jak i śmiertelności. Przedłużająca się neutropenia, często obserwowana podczas intensywnej chemioterapii w leczeniu białaczki może być przyczyną kandydemii i/ lub neuroinfekcji. Zwiększona śmiertelność jest prawdopodobnie spowodowana brakiem neutrofilii zdolnych do zwalczania zakażenia [6].

Źródło zakażenia. Najczęściej endogenne grzyby bytujące na błonach śluzowych przechodzą drogą krwiopochodną do OUN, rzadziej dochodzi do zakażeń egzogennych.

Transmisja. Głównie drogą krwiopochodną do OUN.

Oporność na leki przeciwgrzybicze. Mechanizmy oporności grzybów z rodzaju *Candida* na polieny są wynikiem mutacji w strukturze glukanu ściany komórkowej, co powoduje zaburzenie przepuszczalności amfoterycyny B, drugim czynnikiem jest obniżona zawartość ergosterolu. Mechanizmy oporności na azole są związane z aktywnym usuwaniem leku z komórki (pompy ABC i MFS), zmniejszeniem powinowactwa leków do demetylazy- α -lanosterolu w wyniku mutacji genów strukturalnych lub regulatorowych. Profilaktyka przeciwgrzybicza spowodowała wzrost liczby szczepów o naturalnej oporności na flukonazol – *Candida krusei* i naturalnie obniżonej wrażliwości na azole – *Candida glabrata*, *Candida inconspicua*, *Candida norvegensis*. Oporność grzybów z rodzaju *Candida* na echinokandyny jest wynikiem zmniejszenia powinowactwa leków do syntazy 1,3 β -D glukanu. Echinokandyny nie powinny być stosowane w neuroinfekcji ze względu na ich brak penetracji do płynu mózgowo-rdzeniowego [7].

2.5.2. *Cryptococcus*

Cryptococcus neoformans jest najczęstszym czynnikiem etiologicznym powodującym zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu u pacjentów z obniżoną odpornością. Jest drugą najczęstszą przyczyną zgonów związanych z HIV na świecie, przy czym większość zgonów ma miejsce w Afryce Subsaharyjskiej. Patogen ten jest wszechobecny w środowisku i jest powszechnie izolowany z ptasich odchodów, gleby i drzew. Wdychanie zarodników stanowi źródło kryptokokozy płucnej i ogólnoustrojowej. Najczęstszym objawem klinicznym jest kryptokokowe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych [8]. W kompleksie gatunków patogennych *C. neoformans* na ogół powoduje kryptokokozę ogólnoustrojową a *Cryptococcus gattii* może być przyczyną infekcji u osób immunokompetentnych. *C. gattii* jest częściej izolowany w regionów tropikalnych i subtropikalnych i jest odpowiedzialny za trwającą epidemię kryptokokozy u zdrowych osób w Ameryce Północnej i Kanadzie [9].

Źródło zakażenia. Najczęściej egzogenne: kryptokokozą płucną lub ogólnoustrojową.

Transmisja. Głównie drogą krwiopochodną do OUN.

Oporność na leki przeciwgrzybicze. Oporność na polieny: mutacje w strukturze glukanu ściany komórkowej, co powoduje zaburzenie przepuszczalności amfoterycyny B, drugim czynnikiem jest obniżona zawartość ergosterolu, oporność na echinokandyny: zmniejszona zawartość 1,3 β -D glukanu w ścianie komórkowej [7].

2.5.3. *Aspergillus*

Grzyby z rodzaju *Aspergillus* są saprofitycznymi grzybami pleśniowymi występującymi w środowisku zewnętrznym: glebie, powietrzu i materiale roślinnym. W obrębie rodzaju *Aspergillus* wyróżnia się ponad 600 gatunków jednak *Aspergillus fumigatus* jest najczęstszym czynnikiem etiologicznym infekcji. *Aspergillus flavus* i *Aspergillus niger* rzadziej wywołują aspergilozę ogólnoustrojową. W obrębie rodzaju *Aspergillus* wyróżnia się 6 podrodzajów, 27 kompleksów spokrewnionych ze sobą gatunków oraz 87 serii. Klasyfikacja ta nie jest jeszcze powszechnie przyjęta w mykologii medycznej [10-12]. Obecnie pod uwagę należy wziąć nowe grupy ryzyka inwazyjnej aspergilozy (IA), w tym: osoby bez neutropenii, pacjentów hospitalizowanych na oddziałach intensywnej terapii z ciężkim przebiegiem COVID-19, z przewlekłymi chorobami płuc, otrzymujących leki immunomodulujące (np. inhibitory TNF- α) [10,13]. *Aspergillus fumigatus* u 10-20% pacjentów powoduje zajęcie OUN. Inwazyjna choroba płuc może rozprzestrzeniać się na narządy pozapłucne w tym mózg powodując aspergilozę mózgu CA [2].

Źródło zakażenia. Najczęściej egzogenna poprzez wdychanie zarodników – drogi oddechowe, zatoki przynosowe – droga krwipochodna do OUN.

Transmisja. Głównie droga krwipochodna do OUN.

Oporność na leki przeciwgrzybiczne. Pierwotna oporność *in vitro* na amfoterycynę B *Aspergillus terreus*, obniżona wrażliwość na amfoterycynę B – *Aspergillus lentulus* oraz *Aspergillus nidulans*, *Aspergillus sekcji Usti* (np. *A. calidoustus*) – naturalna oporność na triazole, oporność na azole: mutacje w genie *cyp51A* [7,10]

2.5.4. Mukormykoza

Mucormycosis są to rzadkie infekcje charakteryzujące się wysoką zachorowalnością i śmiertelnością. Zakażenia te najczęściej dotyczą osób z zaburzeniami odporności, biorców przeszczepów narządów litych i hematologicznych komórek macierzystych, pacjentów z niewyrównaną cukrzycą typu 1 i 2. Cukrzyca jest czynnikiem predysponującym do mukormykozy w 36–88% przypadków. Najbardziej podatni są pacjenci z niekontrolowaną hiperglikemią, zwłaszcza z kwasicą ketonową. Przewlekła terapia kortykosteroidami jest kolejnym głównym czynnikiem ryzyka zwiększającym podatność pacjentów na mukormykozę. Jest to wynikiem defektów makrofagów i neutrofilii i/lub cukrzycy steroidowej. Większość infekcji następuje w wyniku wdychania zarodników lub drogą transmisji poprzez uszkodzoną skórę lub błony śluzowe [14,15]. Najczęstszymi czynnikami etiologicznymi wywołującymi mukormykozę są grzyby z rodzajów *Rhizopus*, *Mucor*, *Lichtheimia* (wcześniej klasyfikowane, jako *Absidia*), *Cunninghamella*, *Rhizomucor*, *Apophysomyces* i *Saksenaea*. Grzyby z rzędu *Entomophthorales* są rzadkimi patogenami, których infekcje zwykle ograniczają się do obszarów tropikalnych i powodują przewlekłe infekcje skórne i podskórne. Na ogół zakażenia te występują u osób immunokompetentnych i postępują lokalnie poprzez bezpośrednie rozszerzenie na sąsiednie tkanki, ale rzadko mają charakter angioinwazyjny lub rozsiany i nie są czynnikami neuroinfekcji [15]. Najczęstszym zakażeniem mukormykozowym jest postać zatokowo-mózgowa. Pacjenci z mukormykozą nosowo-mózgową mogą się zgłaszać do lekarza z objawami typowymi dla zapalenia zatok przynosowych, które jednak dość szybko ulegają pogorszeniu. Mukormykoza nosowo-mózgowa (RCM ang. Rhinocerebral mucormycosis) może powodować ciężkie wewnątrzczaszkowe zmiany niedokrwienne i krwotoczne [16-20].

Źródło zakażenia. Najczęściej egzogenna poprzez wdychanie zarodników – drogi oddechowe, zatoki przynosowe – droga krwipochodna do OUN.

Transmisja. Głównie droga krwipochodna do OUN.

Oporność na leki przeciwgrzybiczne. Pierwotna oporność *in vitro* na echinokandyny; zmniejszona ilość 1,3 β - D glukanu w ścianie komórkowej [7].

Piśmiennictwo:

1. McCullers JA, Vargas SL, Flynn PM i wsp. Candidal meningitis in children with cancer. Clin Infect Dis. 2000;31: 451-7.
2. Góralska K, Blaszkowska J, Dzikowiec M. Neuroinfections caused by fungi. Infection. 2018;46: 443-459.

3. Moscote-Salazar L, Alvis-Miranda H, Castellar-Leones S, Elzain M. Brain abscess: Current management. *Journal of Neurosciences in Rural Practice*. 2013;4: 67.
4. E. Erdogan, M. Beyzadeoglu, F. Arpaci i wsp. Aspergiloza mózdzku: opis przypadku i przegląd piśmiennictwa. *Neurochirurgia*, 2002, 50: 874-877.
5. Buzdyganek SE. Infekcje ośrodkowego układu nerwowego, jako przyczyna zmienionego stanu psychicznego? Jaki patogen rozwija się w twoim ośrodkowym układzie nerwowym? *Emerg Med Clin North Am*. 2010; 28: 535–70.
6. Moylett EH. Neonatal Candida meningitis. *Semin Pediatr Infect Dis*. 2003;142: 115-22.
7. Sulik-Tyszka B., Wróblewska M. Leczenie inwazyjnych zakażeń grzybiczych. W: Dwilewicz- Trojaczek J (red.) *Postępy w leczeniu nowotworów limfoproliferacyjnych i mieloproliferacyjnych*. Warszawa, PZWL 2022; 115-142.
8. Jarvis JN, Lawrence DS, Meya DB i wsp. Single-Dose Liposomal Amphotericin B Treatment for Cryptococcal Meningitis. *N Engl J Med* 2022; 386:12: 1109-1120.
9. Zhao Y, Lin X. Cryptococcus neoformans: Sex, morphogenesis, and virulence. *Infect Genet Evol*. 2021;89: 104731.
10. Sulik-Tyszka B., Wróblewska M. Aspergiloza- diagnostyka laboratoryjna i leczenie. *Forum Zakażeń* 2021;123-131.
11. Arastehfar A, Carvalho A, Houbraken J i wsp. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis: from basics to clinics. *Stud Mycol* 2021;100:100115.
12. Latgé JP, Chamilos G. *Aspergillus fumigatus* and aspergillosis in 2019. *Clin Microbiol Rev* 2019;33:e 00140-18.
13. Koehler P, Bassetti M, Chakrabarti A i wsp. Defining and managing COVID-19-associated pulmonary aspergillosis: the 2020 ECMM/ISHAM consensus criteria for research and clinical guidance. *Lancet Infect Dis* 2021;2: e149–e162.
14. Cornely O, Alastruey-Izquierdo A, Arenz D, Global guideline for the diagnosis and management of mucormycosis: an initiative of the European Confederation of Medical Mycology in cooperation with the Mycoses Study Group Education and Research Consortium. *Lancet Infect Dis* 2019;19: 405-421.
15. Petrikos G., Skiada A., Lortholary O. i wsp. Epidemiology and clinical manifestations of mucormycosis. *Clin Infect Dis*. 2012; 54: S23-34.
16. Wilson JW, Estes LL. Zakażenia grzybicze. W: Dzierżanowska-Fangrat K (red.) *Leczenie chorób infekcyjnych*. Warszawa, PZWL 2021, 394-422.
17. Skiada A, Lass-Floerl C, Klimko N i wsp. Challenges in the diagnosis and treatment of mucormycosis. *Med Mycol*. 2018;1;56: 93-101.
18. Kacprzyk P, Sulik-Tyszka B, Basak GW. Profilaktyka i leczenie inwazyjnych zakażeń grzybiczych u chorych na nowotwory. Omówienie aktualnych wytycznych według NCCN. *Forum Zakażeń* 2016;74: 265-274.
19. Tissot F, Agrawal S, Pagano L i wsp. ECIL-6 guidelines for the treatment of invasive candidiasis, aspergillosis and mucormycosis in leukemia and hematopoietic stem cell transplant patients. *Haematologica*. 2017;102: 433-444.
20. Mazzai L, Anglani M, Giraudo C i wsp. Imaging features of rhinocerebral mucormycosis: from onset to vascular complications. *Acta Radiol*. 2022;63: 232-244.

2.6. Pasożytnicze czynniki zakażeń OUN

Ośrodkowy układ nerwowy (OUN) jest trudno dostępny dla większości pasożytów, jednak nawet do 20 gatunków pasożytów może powodować zmiany w OUN – należą do nich pierwotniaki, tasiemce i obleńce. Objawy neurologiczne – miejscowe lub uogólnione – zależą przede wszystkim od lokalizacji zmian w OUN i rozległości uszkodzeń, a w mniejszym stopniu od samego czynnika etiologicznego. Diagnostyka pasożytoz OUN sprowadza się do rozpoznania anatomicznego – badań obrazowych (RM, TK) – oraz etiologicznego na podstawie wywiadu, badania płynu mózgowo-rdzeniowego, oceny bioptatu mózgu i badań krwi (skład morfologiczny krwi obwodowej, badania mikroskopowe rozmazów krwi – cienki rozmaz i gruba kropla oraz badania serologiczne).

W przebiegu inwazji pasożytniczych OUN można obserwować: zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, wodogłowię, nacieki o charakterze guza, ropnie, torbiele, zwapnienia. Może też dojść do powstania zmian wtórnych, takich jak udar niedokrwienny lub krwotoczny, krwawienie podpajęczynówkowe, obrzęk mózgu czy zapalenie naczyń mózgu.

W obrazie klinicznym dominują objawy podmiotowe (ból głowy, zawroty głowy, zaburzenia świadomości, ruchy mimowolne, niedowłady, drgawki) oraz objawy kliniczne przedmiotowe będące wyrazem ogniskowego lub uogólnionego uszkodzenia OUN. W zależności od lokalizacji uszkodzenia obserwuje się objawy piramidowe, pozapiramidowe, mózdkowe,

zespoły uszkodzeń rdzenia kręgowego, zespoły korzeniowe, zespół oponowy, zaburzenia czucia, zaburzenia świadomości, napady padaczkowe.

Z chorobami pasożytniczymi często kojarzona jest eozynofilia we krwi obwodowej. W chorobach OUN jej odpowiednikiem jest pojawienie się eozynofili w płynie mózgowo-rdzeniowym, należy jednak pamiętać, że rutynowo nie różnicuje się tych komórek w preparatach z płynu mózgowo-rdzeniowego [1,2].

2.6.1. *Acanthamoeba castellani*

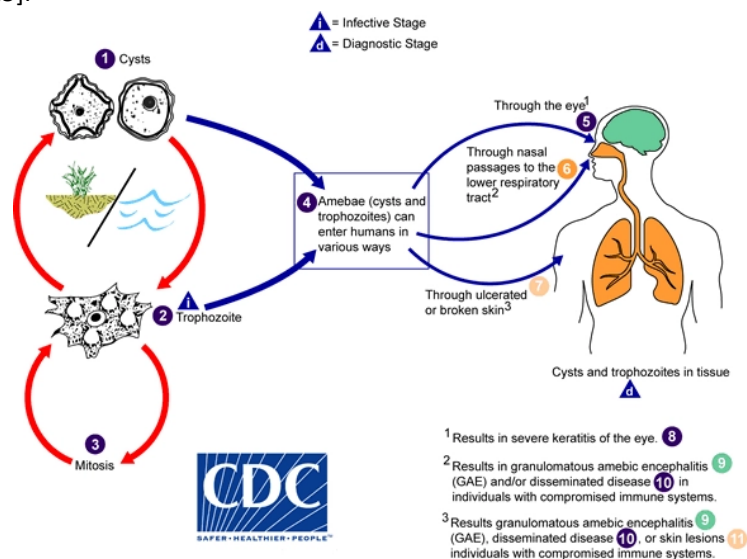
Pierwotniaki amfizoiczne to pierwotniaki wolno żyjące (egzozoiczne) i pierwotniaki pasożytujące (endozoiczne). Zaliczamy do nich: *Acanthamoeba*, *Naegleria*, *Balamuthia mandrillaris* oraz *Hartmannella vermiformis*.

Acanthamoeba spp. są powszechnie spotykane w jeziorach, basenach oraz wodzie wodociągowej. Występują genotypy T1-T20. Kilka gatunków *Acanthamoeba*, w tym *A. culbertsoni*, *A. polyphaga*, *A. castellanii* (genotyp T4), *A. astronyxis*, *A. hatchetti*, *A. rhyodes*, *A. divionensis*, *A. lugdunensis* i *A. lenticulata* są zaangażowane w choroby ludzi.

Acanthamoeba spp. znaleziono w glebie, wodzie słodkiej, słonawej i morskiej, ściekach, unitach stomatologicznych, urządzeniach do dializy, systemach ogrzewania, wentylacji, hodowlach komórkowych ssaków, warzywach, ludzkich nozdrzach i gardłach oraz w ludzkim i zwierzęcym mózgu, skórze i tkankach płucnych. Trofozoity i cysty występują w butelkowanej wodzie mineralnej, na grzybach i warzywach, w basenach kąpielowych, urządzeniach klimatyzacyjnych, wieżach chłodniczych elektrowni węglowych i atomowych, w osadach oceanów, ściekach, w basenach do zabiegów fizykoterapeutycznych, w piasku pustyni i kurzu.

Wykryto trofozoity i cysty na śluzówkach jamy nosowej, gardzieli, w ropnej wydzielinie z ucha, w luźnych stolcach, w popłuczynach żołądka i jelit oraz w nosogardzieli zdrowych osób. We krwi obwodowej u ponad 80% populacji ludzkiej występują naturalne przeciwciała IgG anty-*Acanthamoeba* spp [2].

W przeciwieństwie do *N. fowleri*, *Acanthamoeba* ma tylko dwa etapy w swoim cyklu życiowym – cysty i trofozoity. Trofozoity replikują się przez mitozę (błona jądrowa nie pozostaje nienaruszona). Trofozoity są formami zakaźnymi, chociaż zarówno cysty, jak i trofozoity uzyskują dostęp do organizmu na różne sposoby. Wejście może nastąpić przez oko, kanały nosowe do dolnych dróg oddechowych, owrzodzenie lub uszkodzenie skóry. Kiedy *Acanthamoeba* spp. dostanie się do oka, może powodować ciężkie zapalenie rogówki u zdrowych osób, szczególnie u użytkowników soczewek kontaktowych. Kiedy dostanie się do układu oddechowego lub przez skórę, może zaatakować ośrodkowy układ nerwowy drogą krwiopochodną, powodując ziarniniakowe amebiczne zapalenie mózgu (GAE), zmiany skórne lub rozsianą chorobę u osób z upośledzonym układem odpornościowym. Wrota inwazji to jama nosowa, błona śluzowa jamy ustnej, uszkodzona skóra, gałka oczna, śluzówka jelita (Ryc.1) [3,4,5].



Ryc. 1. Cykl życiowy *Acanthamoeba castellanii* [42]

Formy inwazyjne to trofozoit i cysta, do zarażenia dochodzi poprzez inhalację powietrza lub aspirację wody zanieczyszczonej pierwotniakami. Trofozoity poruszają się za pomocą pseudopodiów (akantopodii lub lobopodii). Trofozoity po okresie intensywnego wzrostu lub w przypadku zubożenia podłoża w substancje pokarmowe mogą przekształcać się w cysty, które potrafią przetrwać w ekstremalnych warunkach środowiskowych dzięki celulozowej budowie ściany. Cysty zachowują żywotność w wodzie destylowanej w temp. 4°C przez 25 lat.

Pierwszy przypadek śmiertelnego zapalenia opon mózgowych i mózgu wywołany przez pełzaki z grupy „limax” opisali Fowler i Carter w 1965 r., natomiast ziarniniakowe zapalenie mózgu GAE opisano po raz pierwszy w 1972 r. [6].

Pierwotne amebowe zapalenie mózgu i opon mózgowo-rdzeniowych o ostrym przebiegu (*primary amoebic meningoencephalitis* – PAM) wywołuje *Naegleria fowleri*, natomiast ziarniniakowe zapalenie mózgu (*granulomatous amoebic encephalitis* – GAE) wywołuje *Acanthamoeba* i *Balamuthia mandrillaris*. Liczba przypadków ziarniniakowego zapalenia mózgu (GAE) jest mniejsza niż PAM. Okres inkubacji GAE jest dłuższy i przekracza 10 dni. Penetracja OUN następuje drogą krwionośną z pierwotnych zmian w skórze, w układzie oddechowym, pokarmowym lub moczowym. Inwazja ma charakter przewlekły, choroba rozpoczyna się silnym bólem głowy, podwyższeniem temperatury ciała, objawami podrażnienia opon mózgowych, zaburzeniami psychicznymi, dezorientacją i halucynacjami, zaburzeniami smaku, węchu i wzroku. Pojawiają się drgawki, niedowład połowiczny, porażenia nerwów czaszkowych, sztywność karku, nudności, wymioty, niezdolność ruchowa, omamy, światłowstręt. W opisanych ponad 200 przypadkach GAE inwazja rozwinęła się u osób z zaburzeniami odpowiedzi odpornościowej. W końcowym etapie choroby osoby zarażone zapadają w śpiączkę, śmiertelność (między 7 a 120 dniem choroby, średnio w 39 dniu) w tej postaci jest bliska 100% [5,6,7].

Do zarażenia predysponują – alkoholizm, anoreksja, choroba nowotworowa, chemioterapia i radioterapia. W większości przypadków GAE rozwija się u osób z wrodzoną lub nabytą obniżoną odpornością, u zakażonych wirusem HIV, po transplantacji tkanek lub narządów, po chemioterapii i/lub radioterapii, u kobiet w ciąży, noworodków, w przypadku nadużywania alkoholu i zażywania narkotyków, u anorektyków i przewlekle chorych, u pacjentów chorych na fenylketonurię, u pacjentów z zespołem Downa.

Pełzaki dostające się do organizmu drogą wziewną mogą wywoływać zapalenie płuc o różnym przebiegu klinicznym, przewlekły nieżyt nosa i gardła, zapalenie zatok przynosowych, inwazja może dotyczyć skóry, tkanki podskórnej, szpiku kostnego, węzłów chłonnych, nerek, nadnerczy, wątroby, trzustki, prostaty, tchawicy i rogówki oka [8,9].

2.6.2. *Naegleria fowleri*

Naegleria fowleri występuje w trzech stadiach rozwojowych: cysty, trofozoitu formy pełzakowatej i formy wiciowatej (Ryc.2). Trofozoit przekształca się z jednej formy w drugą w zależności od warunków środowiskowych. Trofozoity replikują się na drodze promitozy (błona jądrowa pozostaje nienaruszona). Trofozoity mogą przekształcić się w tymczasowe, nieżerujące formy wiciowe, które zwykle powracają do stadium trofozoitu. Trofozoity zarażają ludzi lub zwierzęta przenikając przez błonę śluzową nosa, zwykle podczas pływania lub płukania zatok i migrując do mózgu poprzez nerwy węchowe, powodując PAM (Ryc.2).

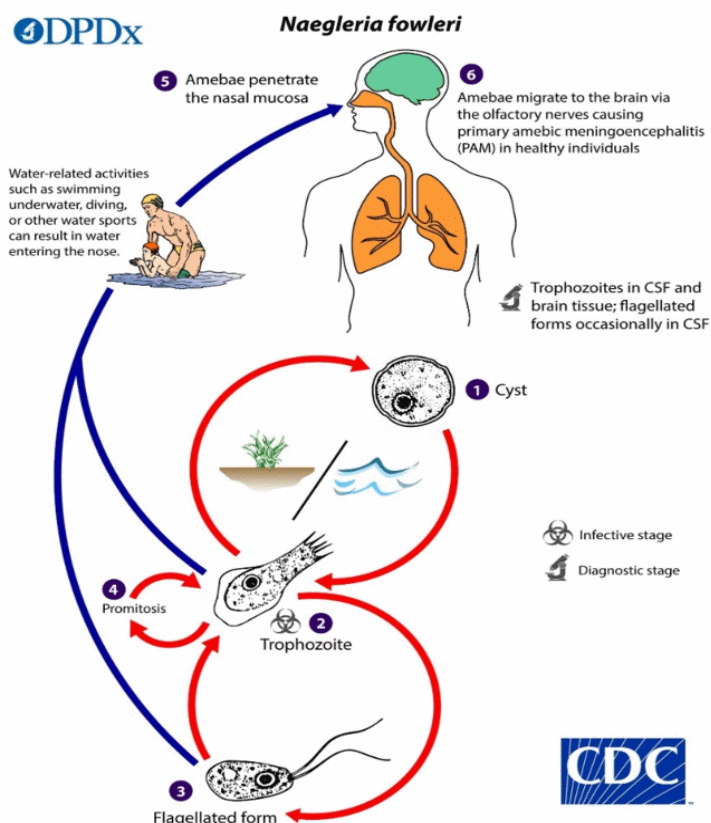
Trofozoity *N. fowleri* występują w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) i tkankach, natomiast w płynie mózgowo-rdzeniowym spotyka się czasami formy wiciowe. Cysty nie są widoczne w tkance mózgowej.

N. fowleri występuje naturalnie w ciepłych środowiskach słodkowodnych, takich jak jeziora i rzeki, naturalnie gorąca woda (geotermalna z gorących źródeł), gorąca woda odprowadzana z zakładów przemysłowych lub elektrowni, woda ze studni geotermalnych, źle utrzymane oraz za mało chlorowane baseny, podgrzewacze wody, gleba, w której żyje żywiąc się bakteriami i innymi drobnoustrojami w środowisku. Pobieranie próbek z jezior i różnych zbiorników wodnych na południu USA wskazuje, że *N. fowleri* jest powszechnie obecna w tej wodzie, szczególnie dotyczy to okresu ciepłej pory letniej. Chociaż ostatnimi czasy potwierdzono przypadki zarażenia *N. fowleri* w stanach położonych na północy USA [10,11].

Naegleria nigdy nie występuje w oceanach. Trofozoity i cysty mogą przetrwać od minut do godzin w temperaturze 50–65°C, przy czym cysty są w tej temperaturze bardziej odporne. Pomimo że, trofozoity giną szybko w wyniku chłodzenia, cysty mogą przetrwać tygodnie lub miesiące w temperaturach powyżej zera, chociaż wydają się być wrażliwe na zamarzanie. W rezultacie niższe temperatury prawdopodobnie spowodują otarbiecie *N. fowleri* w osadach jezior i rzek, gdzie cysta ma lepszą ochronę przed zamarzaniem. *N. fowleri* to ciepłolubna (termofilna) ameba występująca na całym świecie [10].

N. fowleri to wolno żyjąca ameba powodująca pierwotne pełzakowe zapalenie opon i mózgu (PAM), chorobę ośrodkowego układu nerwowego. PAM to rzadka choroba, która prawie zawsze kończy się śmiercią.

Z całego świata zgłaszane są przypadki PAM. Zarażenia występowały głównie w południowych stanach Stanów Zjednoczonych, ale od tego czasu udokumentowano je w Minnesocie w latach 2010 i 2012 oraz w innych stanach północnych. Prawie połowa wszystkich zgłoszonych przypadków miała miejsce na Florydzie i w Teksasie. W Stanach Zjednoczonych i na całym świecie PAM rozprzestrzenia się głównie poprzez kąpiel w ciepłych słodkowodnych jeziorach i rzekach (około 70% inwazji w USA w latach 1962–2022). Inne rodzaje wód rekreacyjnych, takie jak gorące źródła i kanały, również zostały powiązane z infekcjami PAM. Siedem inwazji w Stanach Zjednoczonych powiązano z wodą z systemów wody pitnej. Przypadki PAM wystąpiły także w latach 70. i 80. XX wieku w Australii, 10 z nich było związanych z braniem prysznica, pływaniem lub innym narażeniem nosa na skażoną wodę pitną. Inwazje wiązały się z rurociągami wody pitnej drogą lądową, ciągnącymi się czasami przez setki kilometrów, co podwyższało temperaturę wody, obniżało stężenie środków dezynfekcyjnych i umożliwiało wzrost i rozwój *Naegleria fowleri*. Zgłaszano także zarażenia spowodowane skażoną wodą wykorzystywaną do praktyk religijnych [4,5,7,12].



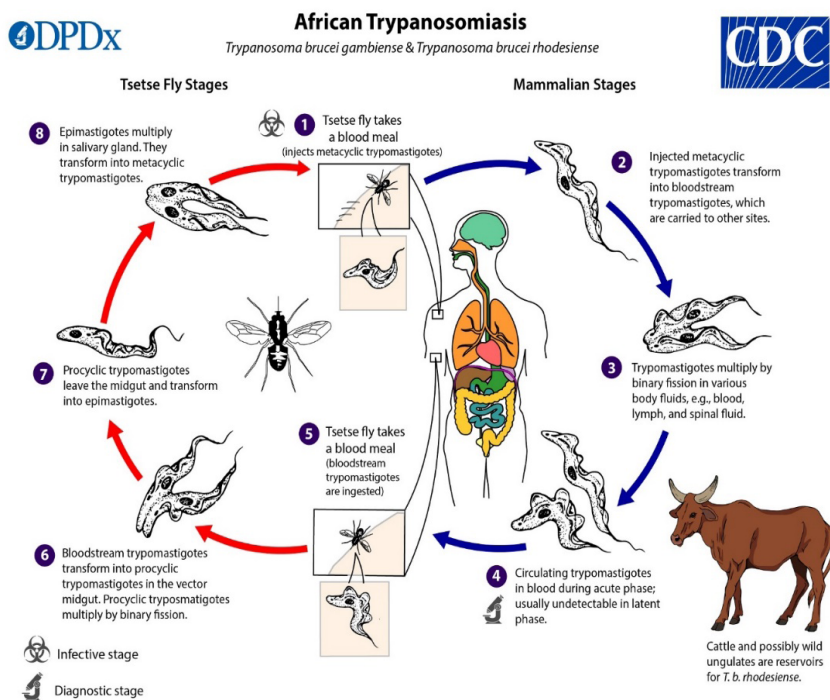
Ryc. 2. Cykl życiowy *Naegleria fowleri* [42]

Ameba migruje wzdłuż nerwu węchowego, przez płytkę kostną w czaszce zwaną blaszką sitową, gdzie dociera do mózgu i zaczyna niszczyć tkankę mózgową. Nie ma dowodów na to, że *N. fowleri* rozprzestrzenia się poprzez parę wodną lub kropelki aerozolu (takie jak mgła pod prysznicem lub para wytwarzana przez nawilżacz). Nie ma również dowodów na to, że ameba przenosi się z jednej osoby na drugą. Odnotowano przeszczepy narządów od dawców zarażonych *N. fowleri*, ale żaden z biorców narządów nie został zarażony. Zaobserwowano jednak występowanie *Naegleria fowleri* poza mózgiem. Udokumentowano występowanie *N. fowleri* w skrawkach tkanek płuc, nerek, serca, śledziony i tarczycy u dwóch zmarłych osób z powodu PAM. Dlatego prawdopodobne jest przeniesienie *N. fowleri* przez narządy dawcy, chociaż ryzyko jest nadal nieznane. Ryzyko przeszczepienia narządu, w którym może znajdować się *N. fowleri*, należy dokładnie rozważyć w przypadku każdego biorcy narządu z potencjalnie większym ryzykiem opóźnienia przeszczepu w oczekiwaniu na inny odpowiedni narząd. Uzasadnia to dalsze badania korzyści i ryzyka związanego z przeszczepianiem narządów lub tkanek od osób zarażonych *N. fowleri* [8,13,14].

2.6.3. *Trypanosoma brucei gambiense* i *Trypanosoma brucei rhodesiense*

Świdrowiec gambijski występuje w Afryce Zachodniej i Środkowej, a świdrowiec rodezyjski – w Afryce Wschodniej i Środkowej. Zakażenie przebiega w dwóch etapach, które czasami mogą być poprzedzone rozwojem wrzodu trypanosomalnego w miejscu wkłucia w ciągu kilku dni od ukąszenia przez zarażoną muchę (najczęściej występuje w przypadku *T. b. rhodesiense*) (Ryc. 3). Choroba pierwszego stopnia (hemolimfatyczna) obejmuje niespecyficzne objawy przedmiotowe i podmiotowe, takie jak okresowa gorączka, świąd i powiększenie węzłów chłonnych. Limfadenopatia szyjna tylnego trójkąta, czyli „objaw Winterbottoma”, jest powszechnie obserwowana w przypadku *T. b. gambiense*, ale powiększenie węzłów chłonnych można zaobserwować także w okolicy pachowej, pachwinowej i nadbłoczkowej. U *T. b. rhodesiense* zwykle powiększone są węzły chłonne podżuchwowe, pachowe i pachwinowe [15].

W drugim stadium choroby (zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych) inwazja ośrodkowego układu nerwowego powoduje różnorodne objawy neuropsychiatryczne, w tym zaburzenia snu, stąd potoczna nazwa „śpiączka afrykańska”. Obserwuje się także rozległe zmiany w sercu z nieprawidłowościami w elektrokardiogramie odpowiadającymi zapaleniu mięśnia sercowego. Zmiany te są na ogół łagodne w zakażeniu *T. b. gambiense*, ale są one cięższe i pojawiają się wcześniej u *T. b. rhodesiense*. W przypadku *T. b. rhodesiense* przebieg zakażenia jest znacznie ostrzejszy i szybszy niż *T. b. gambiense*, ale obie inwazje, jeśli nie są leczone, prawie zawsze kończą się śmiercią.



Ryc. 3. Cykl życiowy *Trypanosoma brucei gambiense/brucei rhodesiense* [42]

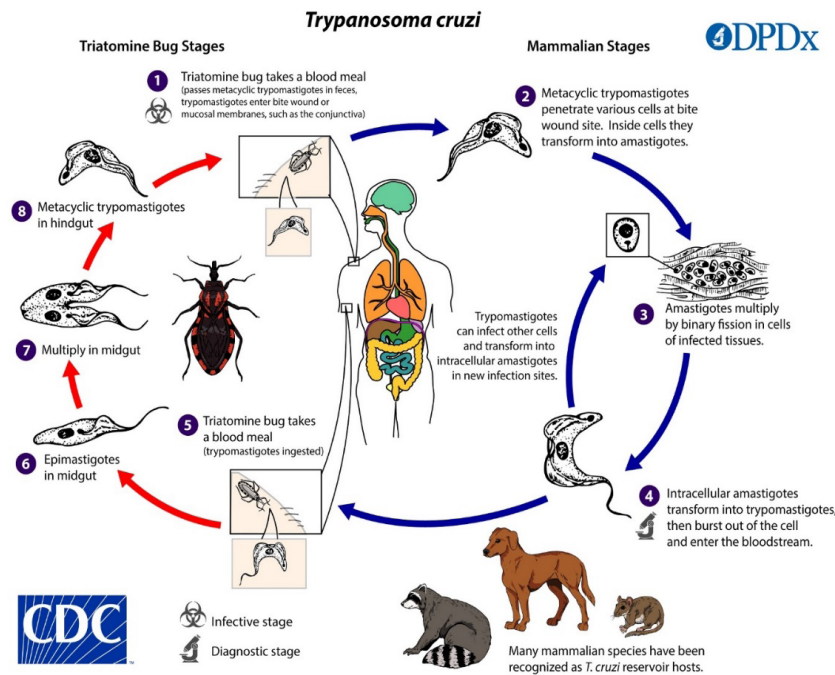
2.6.4. *Trypanosoma cruzi*

Trypanosoma cruzi występuje endemicznie w Ameryce Południowej i Ameryce Środkowej, w południowych stanach USA, wzdłuż wybrzeży Oceanu Spokojnego i Oceanu Atlantyckiego. Wektorem jest pluskwiak z rodzaju *Rhodnius* lub *Triatoma*, zakażenie następuje przez uszkodzoną skórę, spojówkę lub błonę śluzową jamy ustnej metacykliczną postacią trypomastigota. Możliwa jest inwazja przez spożycie pokarmu zanieczyszczonego odchodami pluskwiaków, przez transfuzję krwi lub przeszczepienie narządów od osoby zarażonej. Rezerwuarem pasożyta są oposy i pancerniki, rzadziej gryzonie i małpy (Ryc. 4).

Następuje zakażenie postaciami inwazyjnymi wydalnymi z kałem przez pluskwiaki, postacie trypomastigota po przemianach (trypomastigota – w tkankach przekształca się w amastigota – potem znowu powstaje postać trypomastigota,

która występuje we krwi i chłonce) z krwią wnika do śródbłonek, węzłów chłonnych, wątroby, śledziony, mięśnia sercowego, mózgu i gruczołów wydzielania wewnętrznego przekształcając się w postać amastigota.

T. cruzi wywołuje trypanosomozę amerykańską (chorobę Chagasa). Postacie trypomastigota pasożytują w osoczu krwi i chłonce, a postaci amastigota głównie w komórkach mięśnia sercowego, przetyku, jelita, śródbłonka naczyniowego oraz OUN. W miejscu wniknięcia pasożyta powstaje wrzodziejący naciek zapalny (*chagoma*) utrzymujący się kilka tygodni. Parazytoza może mieć przebieg ostry (remisja po kilku latach) lub przewlekły z rozwojem postaci sercowej, oponowo-rdzeniowej i endokrynnej [16,17].



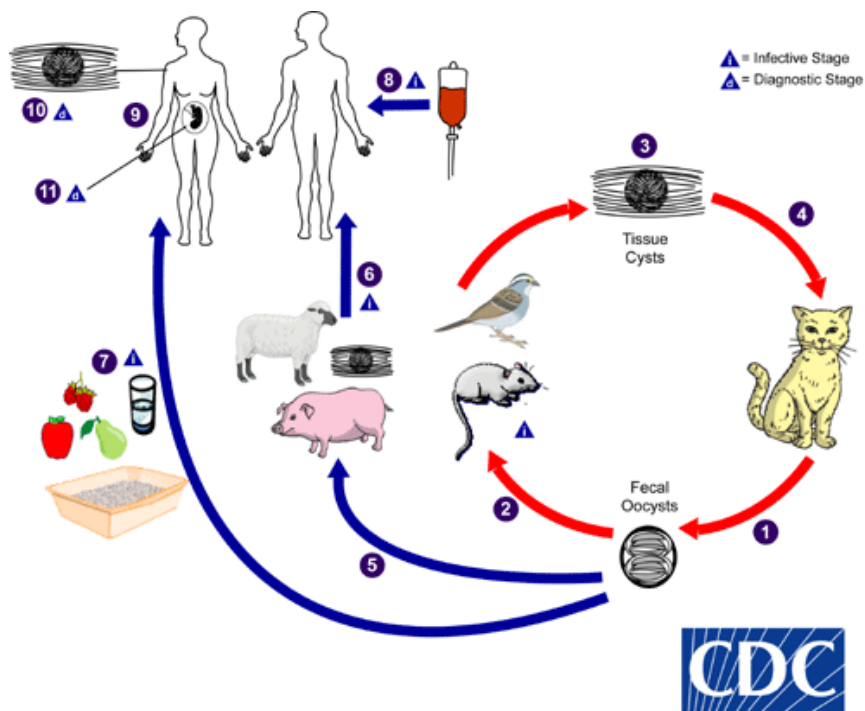
Ryc. 4. Cykl życiowy *Trypanosoma cruzi* [42]

2.6.5. *Toxoplasma gondii*

Toksoplazmoza jest jedną z najczęściej występujących na świecie zoonoz. Prevalencja na poziomie 30-50% występuje w krajach Europy Środkowej i Południowej, a w Ameryce Łacińskiej i Afryce nawet 50-90%. Żywicielem ostatecznym są kotowate. Wszystkie postacie rozwojowe *T. gondii* (oocysta po sporulacji, tachyzoit, bradyzoit) są inwazyjne dla człowieka (Ryc. 5).

Zarażenie następuje drogą pokarmową po spożyciu mięsa wieprzowego, wołowego lub drobiowego zawierającego cysty tkankowe pasożyta lub po spożyciu owoców i warzyw zanieczyszczonych oocystami (kontakt z ziemią zanieczyszczoną odchodami kotów). Możliwe jest zarażenie prenatalne potomstwa. Ryzyko transmisji *T. gondii* (tachyzoitów) wzrasta wraz

z wiekiem ciążowym i wynosi 6-8% w 10 tygodniu ciąży, zaś w 38 tygodniu ciąży wynosi nawet 80%. *T. gondii* może się dostać do organizmu również podczas transfuzji krwi lub przeszczepu narządów. U człowieka *T. gondii* tworzy cysty tkankowe w mięśniach szkieletowych, mięśniu sercowym, mózgu i w oku. U osób zakażonych wirusem HIV lub przyjmujących leki immunosupresyjne występuje w postaci uogólnionej, często ze zmianami w ośrodkowym układzie nerwowym.

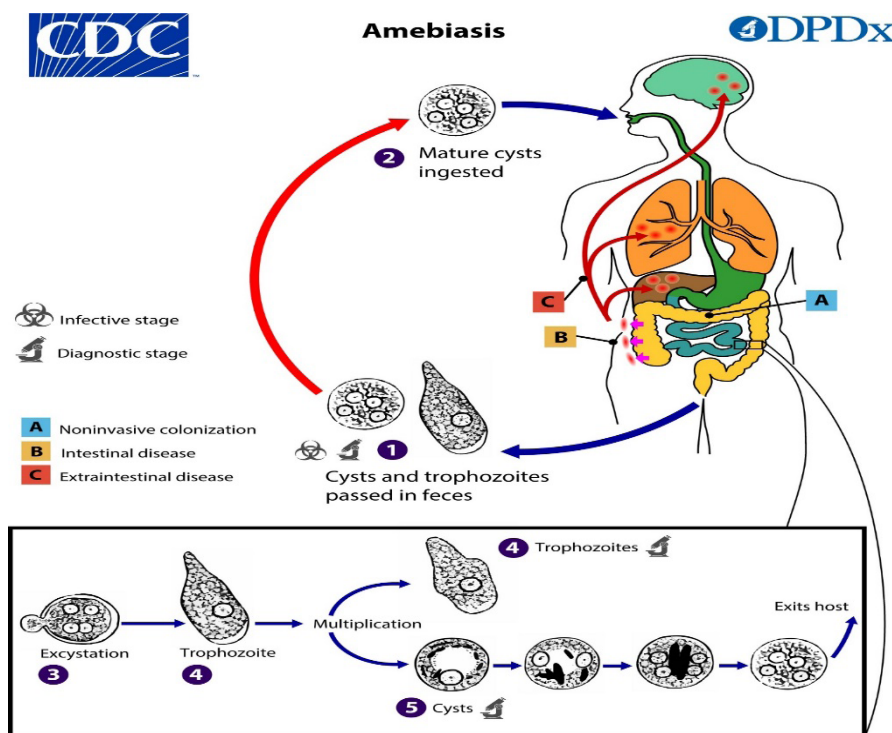


Ryc. 5. Cykl życiowy *Toxoplasma gondii* [42]

Neurotoksoplazmoza jest jedną z głównych chorób wskaźnikowych w AIDS. Parazytoza ta jest szczególnie niebezpieczna dla potomstwa seronegatywnych kobiet, które zaraziły się *T. gondii* podczas ciąży. Ryzyko fetopatii jest największe gdy do inwazji u ciężarnej dochodzi przed 24 tygodniem ciąży. Często odległe następstwa zarażenia ujawniają się po latach i dotyczą uszkodzeń OUN oraz narządu wzroku [18,19].

2.6.6. *Entamoeba histolytica*

Gatunek kosmopolityczny występujący w krajach strefy tropikalnej i subtropikalnej, rozpowszechniony na Półwyspie Indyjskim, w Indonezji, w Środkowej i Południowej Ameryce, w Afryce. *E. histolytica* występuje w postaci trofozoitu i cysty (Ryc. 6). Rezerwuarem pasożyta jest człowiek z inwazją *E. histolytica*. Zarażenie najczęściej następuje drogą pokarmową poprzez spożycie wody lub żywności zanieczyszczonej cystami. Szamba w okolicach ujęć wody pitnej oraz nawożenie upraw rolnych ludzkimi odchodami zwiększają ryzyko kontaminacji środowiska formami dyspersyjnymi pełzaka.



Ryc. 6. Cykl życiowy *Entamoeba histolytica* [42]

Do zanieczyszczenia żywności cystami może dochodzić na skutek kontaktu produktów spożywczych z muchą domową, która jest wektorem mechanicznym cyst różnych pasożytów jelitowych. Brak nawyków higienicznych sprzyja transmisji *E. histolytica*, a możliwa jest również inwazja postacią cysty lub trofozoitu podczas kontaktów seksualnych (*anilingus*).

Oprócz lokalizacji pasożyta w jelicie grubym (kolonizacja w świetle jelita lub pełzakowica jelitowa) trofozoity drogą krwi docierają do innych narządów (wątroby, płuc, mózgu) tworząc ropnie [1,20].

2.6.7. Neurocysticerkoza (wągryca mózgu) wywołwana przez *Taenia solium*

Wągryca występuje na całym świecie, a największą zapadalność notuje się w Ameryce Łacińskiej, Południowo-Wschodniej Azji, Afryce oraz na Bliskim i Środkowym Wschodzie. Wągryca to choroba pasożytnicza człowieka spowodowana przez postacie larwalne tasiemca uzbrojonego (*T. solium*). Człowiek zaraża się spożywając surowe lub niedogotowane mięso wieprzowe zanieczyszczone jajami. Larwy tasiemca – wągry – występują typowo u świń, a człowiek jest jedynie przypadkowym żywicielem pośrednim. Postaci larwalne tasiemca mogą rozwijać się w różnych narządach: mózgu, oku (tkance podsiatkówkowej, w ciele szklistym, w odcinku przednim gałki ocznej), w rdzeniu kręgowym, mięśniach szkieletowych, mięśniu sercowym i tkance podskórnej (Ryc. 7) [21].

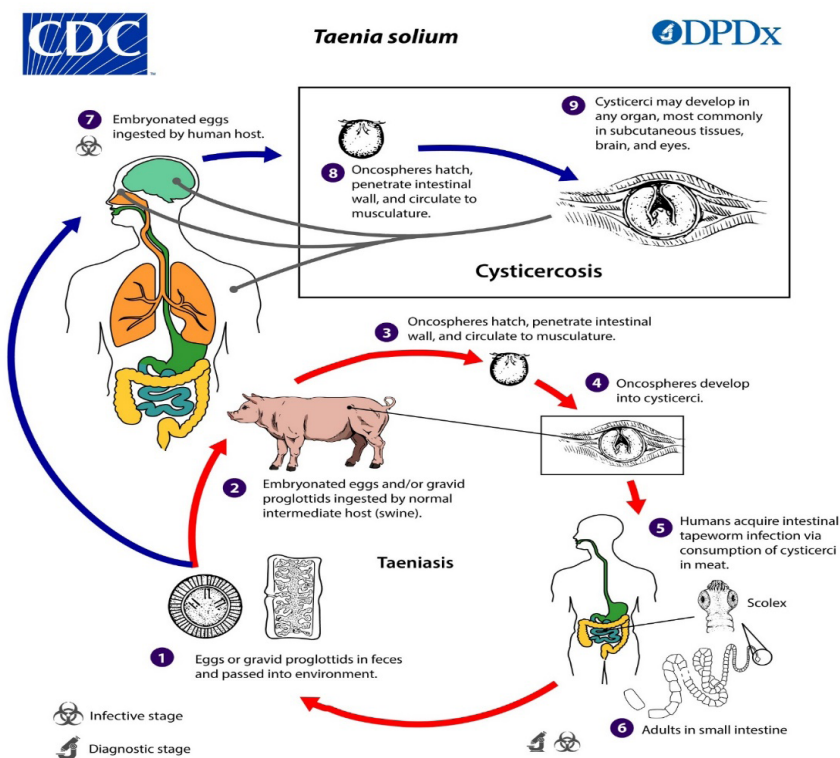
Około ½ przypadków neurocysticerkozy przebiega bezobjawowo. Okres wylegania cysticerkozy objawowej wynosi kilka lat. Najczęściej przebieg jest podstępny i mało charakterystyczny; choroba przebiega z okresami zaostrzeń i remisji (być

może spowodowanych obumieraniem pojedynczych węgrów). Objawy mają zmienne natężenie, są to drgawki, objawy wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego (wymioty, silne bóle głowy, zaburzenia widzenia) i zaburzenia psychiczne (halucynacje, spowolnienie, zaburzenia emocjonalne, apatia, amnezja, demencja) [22,23,24].

Lokalizacja larw tasiemca uzbrojonego w OUN jest najczęstszą przyczyną występowania nabytej padaczki na świecie. Ostateczne rozpoznanie można postawić na podstawie badania parazytologicznego wykazującego obecność skoleksów, haczyków lub fragmentów ściany węgry. Badanie kliniczne, wyniki badań obrazowych (RTG, TK, MRI), badania serologiczne i badanie płynu mózgowo-rdzeniowego pozwalają podejrzewać węgrycę [25,26].

Neurocysticerkoza, czyli węgryca ośrodkowego układu nerwowego, przejawia się licznymi objawami klinicznymi, zależnymi od lokalizacji zmian, liczebności i żywotności węgrów. Węgry mogą znajdować się w: tkance nerwowej mózgu lub w oponach, w przestrzeniach płynowych, w splotach naczyniowych. Zazwyczaj najczęściej występującą konsekwencją neurocysticerkozy jest wzmożenie ciśnienia wewnątrzczaszkowego, któremu towarzyszy powstanie wodogłowia wewnętrznego. Stan ten rozwija się powoli, wywołując niecharakterystyczne objawy, takie jak: bóle głowy, nudności, zawroty głowy [23,27].

Długo trwające nadciśnienie wewnątrzczaszkowe prowadzi do zaników kory mózgowej, a co za tym idzie – do otępienia. Zdarzają się też nagłe, szybko narastające objawy wodogłowia, niekiedy zagrażające życiu. Często objawem węgrycy mózgu są także drgawki. W krajach, w których węgryca występuje endemicznie, zarażenie to jest najczęstszą przyczyną drgawek rozpoczynających się w wieku dorosłym. W rzadkich przypadkach, przy lokalizacji zmian w oponach, stwierdza się przewlekłe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Obserwuje się także objawy ogniskowe. Chociaż opisano niemal wszystkie możliwe kombinacje wymienionych objawów w przebiegu neurocysticerkozy, na pierwszy plan wysuwają się objawy piramidowe.



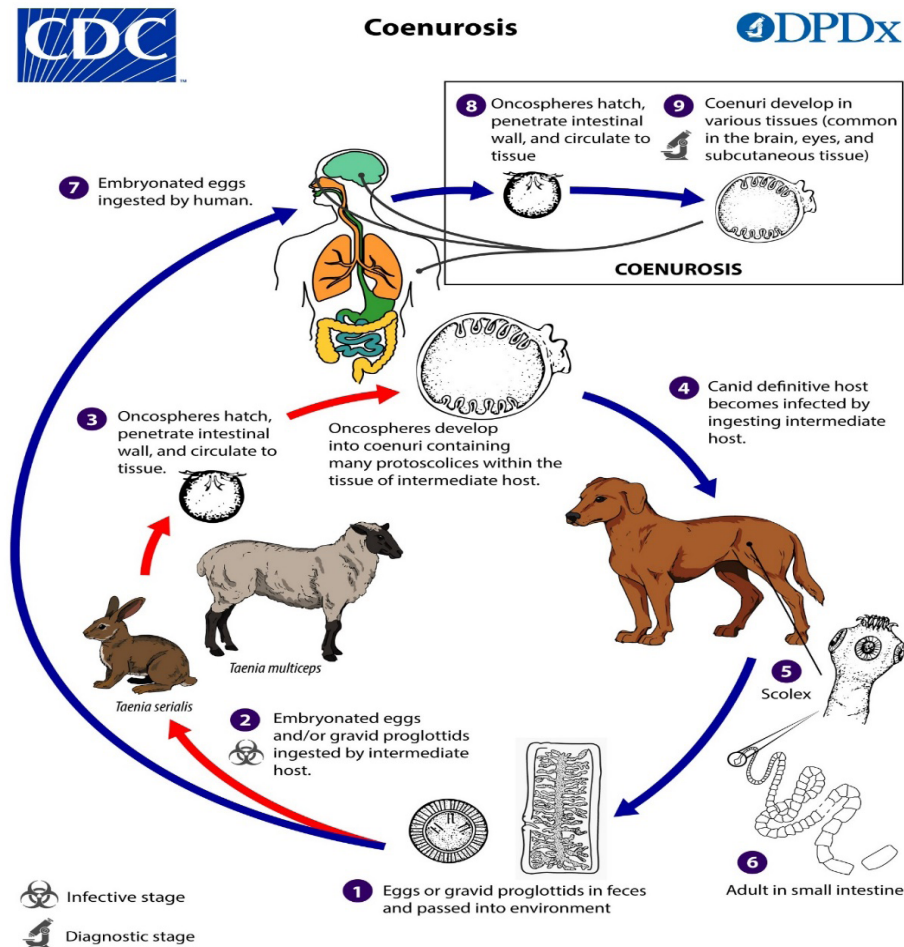
Ryc. 7. Cykl życiowy *Taenia solium* [42]

Węgry zlokalizowane w oponie pajęczej na podstawie mózgu mogą spowodować porażenie nerwów czaszkowych. Lokalizacja zmian w rdzeniu kręgowym nie zdarza się często, ale może przebiegać z ciężkimi objawami związanymi z uciskiem rdzenia [23,24,27].

2.6.8. *Taenia multiceps*

Tasiemiec kręcowy pasożytuje w postaci dojrzałej w jelicie psowatych w Eurazji, obu Amerykach i Afryce. Człowiek może być żywicielem pośrednim (postać larwalna – cercoid typu cenur) lub przypadkowym (Ryc. 8). Cenuroza u ludzi jest wykrywana w południowej Afryce, USA, Brazylii, W. Brytanii i Francji.

Cenuroza (*coenurosis*) przebiega, jako zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych lub daje objawy guza mózgu z zaburzeniami równowagi oraz porażeniami niejednokrotnie kończącymi się śmiercią [28].



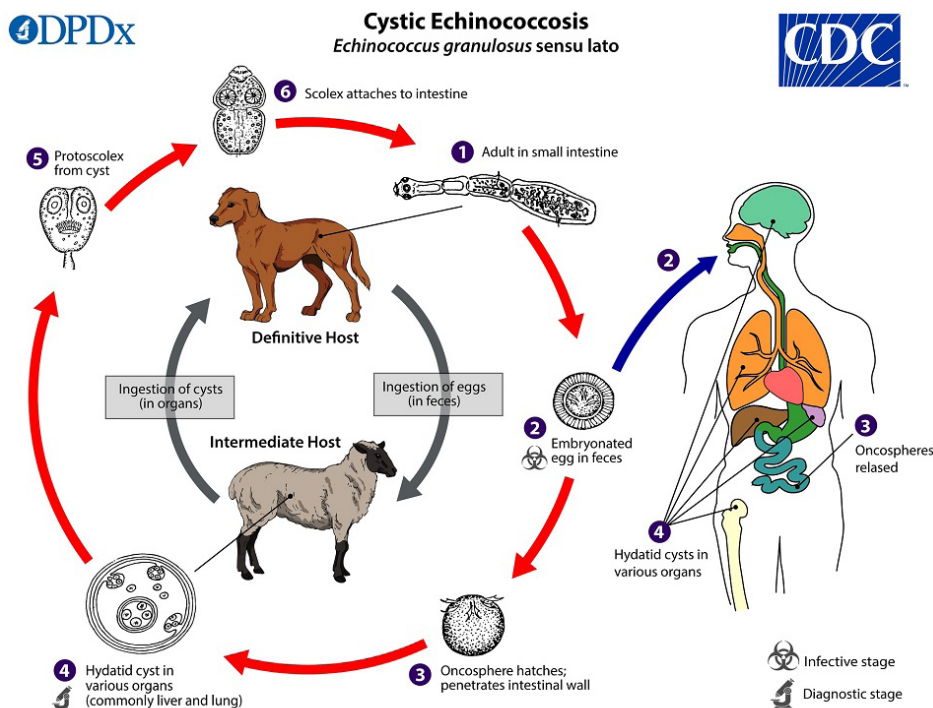
Ryc. 8. Cykl życiowy *Taenia multiceps* [42]

2.6.9. Bąblowica OUN wywołwana przez *Echinococcus granulosus*

Największą zapadalność na bąblowicę obserwuje się w Ameryce Południowej (Chile, Argentyna, Paragwaj), w rejonie basenu Morza Śródziemnego, na Bałkanach, w Azji Środkowej i Środkowo-Wschodniej oraz północno-wschodniej Afryce. Rezerwuarem pasożyta są zarażone tasiemcem zwierzęta domowe (pies) i wolno żyjące (lis, wilk) wydalające z kałem do środowiska człony maciczne lub inwazyjne jaja pasożyta. Żywicielami pośrednimi są owce, bydło, świnie, zające, jeleniowate. Człowiek, jako przypadkowy żywiciel pośredni zaraża się poprzez spożycie wody lub produktów spożywczych zanieczyszczonych jajami (Ryc. 9).

Obecnie w obrębie gatunku *E. granulosus* wyróżnia się 10 różnych genotypów (G1-G10). W Europie najczęściej występują genotypy G1 (szczenek owczy) oraz G7 (szczenek świński), których żywicielami ostatecznymi są przede wszystkim psy. Objawy

kliniczne występują dopiero po kilku latach od zarażenia i zależą od miejsca lokalizacji torbieni pasożytniczych (wątroba, płuca, mózg, kości). Bąblowica OUN wywołuje objawy neurologiczne [29,30].



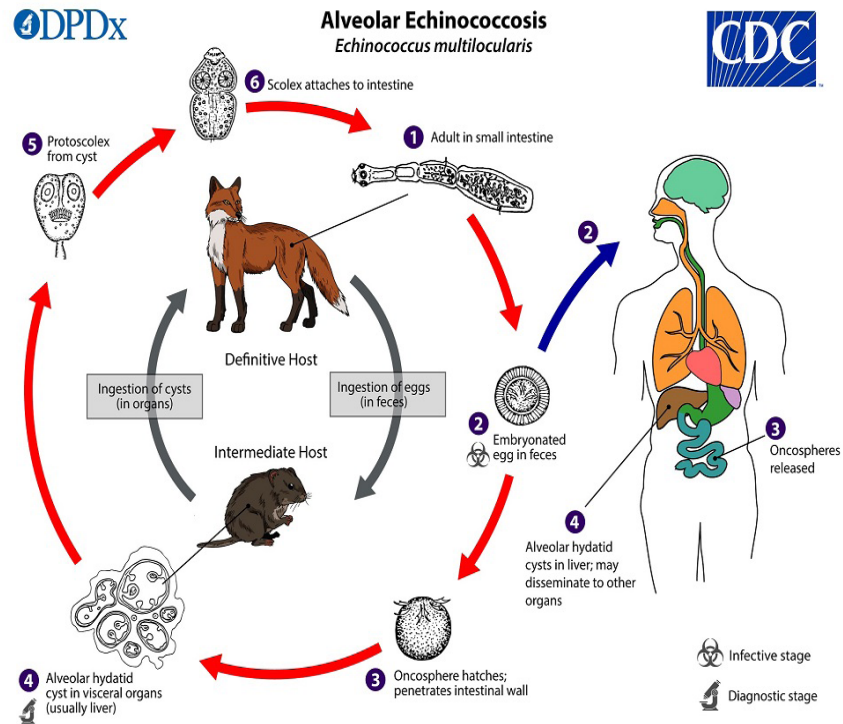
Ryc. 9. Cykl życiowy *Echinococcus granulosus* [42]

2.6.10. Bąblowica OUN wywoływana przez *Echinococcus multilocularis*

Tasiemiec ten występuje na półkuli północnej (Alaska, Kanada, Chiny, Japonia) i w krajach europejskich. W Europie żywicielem ostatecznym w cyklu leśnym (sylwatyicznym) jest rudy lis i jenot, zaś w cyklu przydomowym (synantropijnym) – pies. Człowiek jest przypadkowym żywicielem pośrednim, zaraża się jajami, które mogą kontaminować środowisko naturalne (gleba, woda, owoce runa leśnego) (Ryc. 10).

E. multilocularis jest czynnikiem etiologicznym alweokokozy (bąblowicy wielojamowej). Rozwój choroby trwa kilkanaście lat. Złożona, wielotorbielowata struktura rozwijającej się larwy charakteryzuje się naciekającym wzrostem, przypominającym rozrost nowotworowy. Objawy kliniczne zależą od lokalizacji pasożyta w różnych tkankach i narządach.

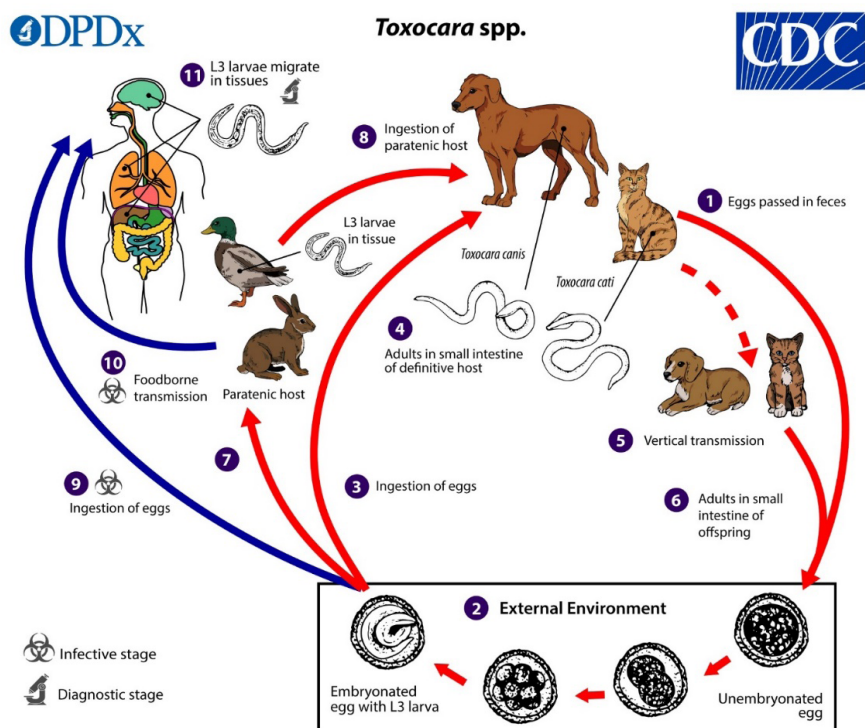
Naciekający charakter rozwijających się torbieli sprzyja tworzeniu się ognisk „przerzutowych” do płuc i mózgu. W przypadku zmian ogniskowych w OUN często występuje padaczka [31].



Ryc. 10. Cykl życiowy *Echinococcus multilocularis* [42]

2.6.11. *Toxocara canis/cati*

Zarażenie następuje po spożyciu jaj inwazyjnych znajdujących się w glebie, wodzie, na warzywach i owocach zanieczyszczonych kałem zarażonych psów. Człowiek jest żywicielem przypadkowym, który może zarazić się spożywając jaja lub otorbione larwy znajdujące się w żywicielu paratenicznym (zając). W obu przypadkach larwy penetrują ścianę jelita i migrują do różnych narządów i tkanek (wątroba, płuca, mózg, gałka oczna, mięśnie) (Ryc. 11). Migrujące larwy wywołują w tkankach postać trzewną czyli zespół larwy wędrującej trzewnej (*visceral larva migrans, VLM*) lub neurotoksokarozę, której towarzyszą bóle i zawroty głowy, napady drgawek, rzadziej opóźnienie rozwoju psychicznego [32]. Podobnie przebiega zarażenie *Toxocara cati*.



Ryc. 11. Cykl życiowy *Toxocara canis/cati* [42]

Piśmiennictwo:

- Pawłowski ZS, Stefaniak J. (red.) Parazytologia kliniczna w ujęciu wielodyscyplinarnym. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Wyd. I. Warszawa 2004.
- Błaszowska J, Ferenc T, Kurnatowski P. Zarys parazytologii medycznej. EDRA Urban & Partner, Wrocław, 2017. 1-141.
- Aichelburg AC, Walochnik J, Assadian O. i wsp. Successful treatment of disseminated *Acanthamoeba* infection with miltefosine. *Emerg Infect Dis.* 2008;14: 1743-6.
- Cope JR, Conrad DA, Cohen N. i wsp., Use of the new therapeutic agent miltefosine in the treatment of primary amoebic meningitis: report of 1 fatal case and 1 survival. *Clin Infect Dis*, 2016;62: 774-6.
- Kamiński R. Miltefosine Zentaris. *Curr Opin Investig Drugs.* 2002;3: 550-4.
- Stothard DR, Schroeder-Diedrich JM, Awwad MH. i wsp. The evolutionary history of the genus *Acanthamoeba* and the identification of eight new 18S rRNA gene sequence types. *J Euk Microb*, 1998, 45: 45-54.
- Schuster FL, Guglielmo BJ, Visvesvara GS. In vitro activity of miltefosine and voriconazole on clinical isolates of free-living amoebae: *Balamuthia mandrillaris*, *Acanthamoeba* and *Naegleria fowleri* *J Eukaryot Microbiol.* 2006;53: 121-6.
- Walochnik J, Obwaller A, Gruber F. i wsp. Anti-*Acanthamoeba* efficacy and miltefosine toxicity in an organotypic skin counterpart. *Chemother.* 2009;64: 539-45.
- Booton GC, Visvesvara GS, Byers TJ i wsp. Identification and distribution of *Acanthamoeba* species genotypes associated with nonkeratitis infectious. *J Clin Microb*, 2005, 43: 1689-93.
- Martínez DY, Seas C, Bravo F. i wsp. Successful treatment of *Balamuthia mandrillaris* amoebic infection with extensive neurological and cutaneous involvement. *Clin Infect Dis.* 2010; 51: E7-11.
- Kim JH, Jung SY, Lee YJ i wsp. Effects of therapeutic chemicals in vitro and on experimental meningitis caused by *Naegleria fowleri*. *Chemother.* 2008;52: 4010-16.
- Vargas-Zepeda J, Gomez-Alcala AV, Vasquez-Morales JA. i wsp. Successful treatment of *Naegleria* PAM with intravenous amphotericin B, fluconazole and rifampicin. *Arch Med Res.* 2005;36: 83-6.

13. Goswick SM, Brenner GM. Effects of therapeutic agents against *Naegleria fowleri* in vitro and a mouse model of primary amebic meningoencephalitis. *J Parazytol.* 2003;89: 837-42.
14. Goswick SM, Brenner GM. Activity of azithromycin and amphotericin B against *Naegleria fowleri* in vitro and mouse model of primary amebic meningitis. *Chemother.* 2003;47: 524-8.
15. Sołtów SM, Brenner GM. Synergistic effects of azithromycin and amphotericin B against *Naegleria fowleri* in vitro and in a mouse model of primary amebic meningitis. *Chemother.* 2007; 51: 23-7.
16. Yoder JS, Eddy BA, Visvesvara GS. I wsp. Epidemiology of primary amebic meningitis in the United States, 1962-2008. *Epidemiol Infect.* 2010;138: 968-75.
17. Seidel J, Harmatz P, Visvesvara GS. i wsp. Successful treatment of primary amoebic meningitis. *New Engl J Med* 1982;306: 346-8.
18. Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba*, *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri* and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunol Med Microbiol.* 2007;50: 1-26.
19. Linam WM, Ahmed M, Cope JR. I wsp. Successful treatment of an adolescent with *Naegleria fowleri* primary amoebic meningitis. *Pediatrics.* 2015; 135: E744-8.
20. Büscher, P., Cecchi, G., Jamonneau, V. i wsp., 2017. Human African trypanosomiasis. *The Lancet* 390: 2397-2409.
21. Bern, C., Kjos, S., Yabsley, M.J. i wsp. *Trypanosoma cruzi* and Chagas' disease in the United States. *Clinical Microbiology Reviews*, 2011, 24: 655-681.
22. McAuley JM, Jones JL, Singh AM. *Toxoplasma*. In: Jorgensen JH, Pfaller MA, Carroll KC, Funke G, Landry ML, Richter SS, Warnock DW, editors. *Manual of Clinical Microbiology*. 11th ed. Washington, D.C.: American Society for Microbiology; 2015. 2373-2386.
23. Pérez-Molina, J.A., Molina, I. Chagas disease. *The Lancet*, 2018, 391: 82-94. Treatment Information
24. Remington JS, McLeod R, Wilson CB. i wsp. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO (red.). *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. 7th ed. Philadelphia, PA: The WB Saunders Co.; 2011. 918-1041.
25. Ali, I.K.M., 2015. Intestinal amebae. *Clinics in Laboratory Medicine*, 35 (2), 393-422.
26. van de Beek D, de Gans J, McIntyre P. i wsp. Corticosteroids in acute bacterial meningitis. *Cochrane Database Syst Rev.* 2007: CD004405
27. White Jr. A.C., Coyle C.M., Rajshekhar V. i wsp. Diagnosis and treatment of neurocysticercosis: 2017 clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society of Tropical Medicine and Hygiene 2018, (ASTMH). *Am J Trop Med Hyg*, 98: 45-66.
28. Coyle C.M., Mahanty S., Zunt J.R., i wsp. Neurocysticercosis: neglected but not forgotten. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 2012, 6: e1500.
29. Winkler A.S. and Richter H., Landscape analysis: management of neurocysticercosis with an emphasis on low- and middle-income countries. Geneva: World Health Organization; 2015, WHO/HTM/NTD/NZD/2015.05
30. World Health Organization, Fact Sheet on taeniasis/cysticercosis (updated February 2018). *Weekly Epidemiological Record*, 2018, 93: 630-2.
31. Cantey, P.T., Coyle, C.M., Sorvillo, F.J. i wsp., Neglected parasitic infections in the United States: cysticercosis. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 2014, 9: 805-9.
32. Garcia H.H., Nash T.E., Del Brutto O.H., Clinical symptoms, diagnosis, and treatment of neurocysticercosis. *Lancet Neurology*, 2014, 13: 1202-15.
33. Gripper L.B and Welburn S.C., Neurocysticercosis infection and disease—A review. *Acta Tropica*, 2017, 166: 218-224.
34. Ing, M.B., Schantz, P.M. and Turner, J.A., Human coenurosis in North America: case reports and review. *Clinical infectious diseases*, 1998, 27: 519 - 523.
35. Kern, P., da Silva, A.M., Akhan, O. i wsp., The echinococcoses: diagnosis, clinical management and burden of disease. In *Advances in parasitology* 2017, (96, 259-369). Academic Press.
36. Siles-Lucas, M., Casulli, A., Conraths, F.J. i wsp. Laboratory diagnosis of *Echinococcus* spp. in human patients and infected animals. In *Advances in Parasitology*, 2017, (Vol. 96, 159-257). Academic Press.
37. Brunetti, E., Kern, P., Vuitton, D.A., and the Writing Panel for the WHO-IWGE, 2010. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Tropica*, 114: 1-16.

38. Rojas, C.A.A., Romig, T. and Lightowers, M.W., *Echinococcus granulosus* sensu lato genotypes infecting humans—review of current knowledge. *International Journal for Parasitology*, 2014, 44: 9–18.
 39. Vuitton, D.A., Demonmerot, F., Knapp, J. i wsp. Clinical epidemiology of human AE in Europe. *Veterinary parasitology*, 2015, 213: 110–120.
 40. Fillaux, J. and Magnaval, J.F., Laboratory diagnosis of human toxocariasis. *Veterinary Parasitology*, 2013, 193: 327-336.
 41. Moreira, G.M.S.G., de Lima Telmo, P., Mendonça, M. i wsp. Human toxocariasis: current advances in diagnostics, treatment, and interventions. *Trends in Parasitology*, 2014, 30: 456-464.
 42. CDC's Division of Parasitic Diseases and Malaria (DPDM). Laboratory Identification of Parasites of Public Health Concern. www.cdc.gov/dpdx/az.html, dostęp 21.12.2023.
-

3. ZAKAŻENIA OPORUNISTYCZNE U PACJENTÓW Z AIDS

3.1. Toksoplazmoza OUN

Do zarażenia *Toxoplasma gondii* dochodzi poprzez: spożywanie surowego/niedogotowanego mięsa (bradyzoity), spożywanie surowych, zanieczyszczonych glebą warzyw i owoców (oocysty), kontakt z glebą zanieczyszczoną oocystami, transfuzje preparatów krwiopochodnych, transplantacje, drogą wertykalną [1].

Choroba rozwija się u osób z głębokim niedoborem odporności – liczba limfocytów T CD4 < 100 kom/μl. Jest wynikiem reaktywacji latentnej inwazji.

Najczęściej przebiega pod postacią zapalenia mózgu. Objawy: bóle głowy, zaburzenia świadomości, objawy ubytkowe, gorączka, zaburzenia widzenia.

Charakterystyczny obraz w rezonansie magnetycznym (MR) OUN – jedna lub kilka zmian ogniskowych ulegających obrączkowatemu wzmocnieniu po podaniu kontrastu ze strefą obrzęku wokół zmian oraz dodatnie przeciwi ciała w klasie IgG *Toxoplasma gondii* i PCR z PMR.

UWAGA!!! Podobny obraz radiologiczny daje chłoniak pierwotny OUN. Ostateczne rozpoznanie toksoplazmozy opiera się na poprawie klinicznej/radiologicznej w czasie 14 dni od rozpoczęcia leczenia [2].

3.2. Kryptokokoza OUN

Do zakażenia *Cryptococcus neoformans* dochodzi drogą oddechową z następczym rozsiewem krwiopochodnym. Choroba rozwija się u osób z głębokim niedoborem odporności – liczba limfocytów T CD4 < 100 kom/μl. Jest wynikiem pierwotnego zakażenia lub reaktywacji zakażenia latentnego [3].

Najczęściej przebiega pod postacią podostrego ZOMR. Objawy: bóle głowy, gorączka narastające w czasie kilku tygodni. Objawy oponowe u 25-30% chorych. W obrazie klinicznym mogą dominować zaburzenia świadomości, zachowania, objawy ogniskowe, patologiczna senność. Ostre przebiegi występują po rozpoczęciu leczenia antyretrowirusowego i jest manifestacją zespołu rekonstrukcji immunologicznej. Charakteryzuje się gwałtownym przebiegiem i dużym wzrostem ciśnienia śródczaszkowego.

Badanie PMR – pleocytoza z przewagą komórek jednojądrzastych, wzrost stężenia białka, obniżenie stężenia glukozy i chlorków. U większości chorych PMR wypływa pod wzmożonym ciśnieniem.

Przy podejrzeniu kryptokokozy należy wykonać badanie na obecność antygenu *C. neoformans* we krwi. Obecność antygenu w mianie > 1:8 potwierdza rozpoznanie rozsianej kryptokokozy. Wykazanie obecności patogenu w PMR (dodatnie preparaty bezpośrednie i posiew PMR) potwierdza rozpoznanie kryptokokozy OUN [2].

3.3. Gruźlica OUN

Do pierwotnego zakażenia lub reaktywacji zakażenia latentnego dochodzi niezależnie od liczby limfocytów T CD4. Jednak przy liczbie limfocytów T CD4 < 200 kom/μl częściej dochodzi do krwiopochodnego rozsiewu i pozapłucnych manifestacji choroby [4].

Typowe objawy kliniczne: stan podgorączkowy/gorączka, nocne poty, postępujące wyniszczenie, objawy oponowe.

Badanie PMR – pleocytoza z przewagą komórek jednojądrzastych, wysokie stężenia białka, bardzo niskie stężenia glukozy i obniżenie stężenia chlorków.

Złoty standard rozpoznania gruźlicy to wykonanie badań bakterioskopowych, molekularnych, posiewów na pożywkach stałych i płynnych wzbogaconych, identyfikacji i testów lekooporności. Należy dążyć do szybkiej diagnostyki, dlatego zaleca się stosowanie testów molekularnych np. Xpert MTB/RIF – zalety: łatwość wykonania, krótki czas do otrzymania

wyniku, informacja dotycząca obecności genu warunkującego oporność na RMP, możliwość zastosowania w preparatach skąpoprątkowych.

Test Xpert MTB/XDR (określający wrażliwość na izoniazyd, fluorochinolony, amikacynę, kanamycynę, kapreomycynę i etionamid) jest zalecany u osób z opornością na rifampicynę, wznową gruźlicę, przyjeżdżających z regionów o wyższej prevalencji gruźlicy wielolekoopornej, osób po kontakcie z chorym na gruźlicę oporną [2].

3.4. Zakażenie wirusem opryszczki typu 1 i 2 (HSV)

Może przebiegać pod postacią ZOMR lub zapalenia mózgu. Do rozpoznania wymagane jest wykazanie obecności HSV DNA w PMR.

3.5. Zakażenie wirusem ospy wietrznej i półpaśca (VZV)

Może przebiegać pod postacią aseptycznego ZOMR, wieloogniskowego zapalenia mózgu, okołokomorowego zapalenia mózgu, zapalenia naczyń i zawału mózgu, zapalenia pnia mózgu, zapalenia rdzenia kręgowego i/lub korzeni nerwowych, zapalenia nerwu wzrokowego i porażenia innych nerwów czaszkowych.

Zajęciu OUN nie muszą towarzyszyć zmiany skórne [5].

U osób z głęboką immunosupresją rzadką postacią jest przewlekłe zapalenie mózgu związane z zakażeniem VZV. Choroba ma przebieg podostry, główne objawy to bóle głowy, gorączka, zmiany zachowania, zaburzenia psychiczne, objawy ogniskowe m.in. afazja, porażenie połowicze, zaburzenia widzenia, napady drgawkowe [6].

Do rozpoznania narządowych postaci zakażenia VZV wymagane jest potwierdzenie tkankowej obecności wirusa w badaniach immunohistochemicznych lub wykazanie obecności VZV DNA w PMR. W MR OUN obserwuje się zmiany demielinizacyjne w istocie białej, w przypadku przewlekłego zapalenia mózgu zmianom demielinizacyjnym towarzyszą obszary niedokrwienia i wylewy [7].

3.6. Zakażenie wirusem cytomegalii (CMV)

Objawowe zakażenie występuje typowo u osób z liczbą limfocytów T CD4 < 50 kom/μl. Objawy chorobowe mogą wystąpić na skutek pierwotnej infekcji lub reaktywacji zakażenia latentnego. Nawroty objawowej choroby cytomegalowirusowej mogą zdarzyć się nawet u osób skutecznie leczonych antyretrowirusowo.

Zajęcie OUN przez CMV może powodować podostre (drobnoguzkowe) zapalenie mózgu objawiające się bólami głowy, zmianami zachowania, problemami z koncentracją, postępującym otępieniem, sennieścią i zaburzeniami świadomości lub okołokomorowe zapalenie mózgu o bardziej gwałtownym przebiegu, często z objawami ogniskowymi i porażeniem nerwów czaszkowych.

Zajęcie rdzenia kręgowego powoduje wstępującą poliradikulopatię objawiającą się postępującym osłabieniem siły mięśni kończyn dolnych z następowym porażeniem wiotkim lub spastycznym, zaburzeniami czucia w tym obszarze, zatrzymaniem moczu i stolca [2].

W badaniu PMR obserwuje się pleocytozę z przewagą granulocytów oraz obniżenie stężenia glukozy.

W MR OUN – rozlane zmiany hiperintensywne w obrazach T2-zależnych (postać drobnoguzkowa) lub wzmocnienie okołokomorowe (postać okołokomorowa).

Do potwierdzenia rozpoznania i rozpoczęcia leczenia wymagane jest wykazanie obecności CMV DNA metodą PCR w PMR lub komórek olbrzymich typu „sowiego oka” lub antygenów CMV w biopsji mózgu.

Dodatni wynik hodowli, obecność CMV DNA lub antygenów CMV w surowicy lub komórkach krwi obwodowej nie mają znaczenia diagnostycznego u pacjentów zakażonych HIV [2].

3.7. Wielogniskowa leukoencefalopatia (PML)

Pierwotne zakażenie wirusem JC jest bezobjawowe. Wirus latentnie zakaża limfocyty B, a jego rezerwuarem jest śledziona, szpik kostny i nerki. Do 40% zdrowych nosicieli okresowo wydala wirusa z moczem.

Do reaktywacji zakażenia dochodzi w stanach głębokiego niedoboru odporności przy liczbie limfocytów T CD4 < 100 kom/μl. Wirus namnaża się i za pośrednictwem limfocytów B dociera do OUN, gdzie zakaża oligodendrocyty prowadząc do ich lizy [8].

Prawdopodobne rozpoznanie opiera się na obrazie klinicznym i radiologicznym.

Obraz kliniczny jest zróżnicowany w zależności od umiejscowienia mnogich ognisk demielinizacji. Przebieg choroby jest podostry, postępujący i zazwyczaj w ciągu kilku-kilkunastu tygodni dochodzi do zgonu. Choroba może manifestować się niedowładami połowicznymi, połowicznymi zaburzeniami czucia, zaburzeniami widzenia, zespołem mózdkowym, zmianami w zachowaniu, zespołem otępiennym.

W MR OUN obserwuje się rozsiane, asymetryczne, dość dobrze odgraniczone, hiperintensywne (jasne) obszary w obrazach FLAIR i T2 zależnych, a hypointensywne (ciemne) w obrazach T1 zależnych. Zmiany są zlokalizowane w istocie białej, nie stwierdza się cech obrzęku ani przemieszczenia sąsiadujących struktur. W spektroskopii MR można uwidocznnić obszary demielinizacji – zmniejszenie stężenia N-acetyloasparginianu i zwiększonego stężenia choliny.

Do ostatecznego rozpoznania wymagane jest wykazanie obecności JCV DNA w PMR. Swoistość tej metody wynosi 100%, a czułość zmniejsza się wraz z długością leczenia antyretrowirusowego – największa jest u osób dotychczas nieleczonych. Aktualnie biopsję mózgu, ocenę histopatologiczną i barwienia immunohistochemiczne zaleca się jedynie w przypadkach wątpliwych, przy ujemnych wynikach JCV DNA w PMR [2].

Piśmiennictwo:

1. Montoya JG, Liesenfeld O. Toxoplasmosis. *Lancet*. 2004, 363:1965-1976.
2. Zasady opieki nad osobami zakażonymi HIV. Zalecenia PTN AIDS 2023. https://www.ptnaids.pl/images/pliki/aids_2023-zakladki.pdf, dostęp 16.09.2023.
3. Biconic T, Wood R, Meintjes G i wsp. High-dose amphotericin B with flucytosine4 for the treatment of cryptococcal meningitis in HIV-infected patients: a randomized trial. *Clinical Infectious Diseases* 2008;47:123-30.
4. Lado Lado FL, Barrio Gomez E, Carballo Arceo E i wsp. Clinical presentation of tuberculosis and the degree of immunodeficiency in patients with HIV infection. *Scand J Infect Dis* 1999; 31: 387-91.
5. Brown M, Scarborough M, Brink N i wsp. Varicella zoster virus-associated neurological disease in HIV-infected patients. *Int J STD AIDS* 2001; 12: 79-83.
6. Gnann JW. Varicella-Zoster Virus: Atypical Presentations and Unusual Complications. *J Infect Diseases* 2002;186: 91-8.
7. Dworkin RH, Johnson RW, Breuer J i wsp. Recommendations for the management of herpes zoster. *Clin Infect Dis*. 2007;44: 1-26.
8. Monaco MC, Jensen PN, Hou J i wsp. Detection of JC virus DNA in human tonsil tissue: evidence for site of initial viral infection. *J Virol*. 1998;72: 9918-23.

4. ROZPOZNANIE KLINICZNE BAKTERYJNEGO ZAPALENIA OPON MÓZGOWO-RDZENIOWYCH (BZOMR) U DZIECI I U DOROSŁYCH

Głównym zadaniem lekarza pierwszego kontaktu jest nie tyle wstępne rozpoznanie BZOMR, co wyselekcjonowanie chorych z podejrzeniem inwazyjnego zakażenia bakteryjnego.

W rozpoznawaniu inwazyjnego zakażenia bakteryjnego istotne znaczenie mają ocena stanu ogólnego i parametrów życiowych (oddychania, tętna, powrotu kapilarnego, ciśnienia tętniczego, zaburzenia świadomości). Pośród zakażeń inwazyjnych najpoważniejsze są sepsa (posocznica) i ZOMR. Rozpoznanie objawów wskazujących na ZOMR nie tylko ułatwia rozpoznanie zakażenia inwazyjnego, ale na dodatek jest zwykle czynnikiem lepszego rokowania. Jest to np. charakterystyczne dla IChM.

Do ZOMR dochodzi najczęściej drogą krwiopochodną, często w przebiegu bakteriemii lub sepsy. Ta ostatnia, której krótki opis zamieszczono w dalszej części opracowania, znacznie pogarsza rokowanie.

Bakteryjne ZOMR można podzielić na dwie grupy:

- Pierwsza z nich obejmuje zapalenia ropne, które najczęściej są wywoływane przez bakterie wytwarzające polisacharydową otoczkę i namnażające się pozakomórkowo. Odczyn zapalny w tych przypadkach ma charakter granulocytarny.
- Drugą grupę stanowią bakteryjne nieropne zapalenia, za które odpowiadają bakterie namnażające się wewnątrzkomórkowo, a odczyn zapalny jest najczęściej limfocytarny. Do nieropnych BZOMR należą: gruźlicze ZOMR, neuroborelioza oraz zapalenia, do których dochodzi w przebiegu leptospirozy, kiły, tularemii, brucelozy, anaplazmozy i ehrlichiozy.

Odmienne przebiegi procesu zapalnego wykazuje zakażenie *L. monocytogenes*, bezotoczkową pałeczką Gram-dodatnią, namnażającą się wewnątrzkomórkowo. Najczęściej wywołuje ona ropne BZOMR, rzadko zapalenie mózgu i/lub pnia mózgu, któremu często towarzyszy zajęcie móżdżku (*rhombencephalitis*) oraz ropnie mózgu. W tych przypadkach zmiany zapalne w PMR, poza wysokim ciśnieniem mogą być nieobecne lub jedynie odczynowe.

Etiologia BZOMR

Zależy od wieku, odporności organizmu, chorób współistniejących oraz występowania czynników ryzyka [1,2,3].

- U noworodków BZOMR wywołują najczęściej: *Escherichia coli*, *Streptococcus agalactiae*, *Listeria monocytogenes*, *Klebsiella* sp. i inne Gram ujemne pałeczki jelitowe.
- Noworodki mogą nabyć BZOMR także w przebiegu zakażenia szpitalnego – wtedy dominują gronkowce, Gram-ujemne pałeczki jelitowe i *Pseudomonas aeruginosa*.
- U niemowląt w wieku 1-3 miesięcy najczęstszymi patogenami BZOMR są: *Neisseria meningitidis*, *Haemophilus influenzae* i *Streptococcus pneumoniae* oraz niekiedy patogeny z grupy noworodkowej.
- U starszych niemowląt, dzieci i dorosłych BZOMR są najczęściej wywołane przez: *Neisseria meningitidis* (w Polsce najczęściej z grupy B i C), *Streptococcus pneumoniae*, szczepy *H. influenzae* NTHI, a także *Listeria monocytogenes*.
- U osób >60 lat do wymienionych u dorosłych czynników etiologicznych BZOMR dołączają patogeny typowe dla noworodków i niemowląt <1 m.ż. [4,5].

Tabela 5. Zależności pomiędzy czynnikami ryzyka a etiologią BZOMR [6-8].

Czynnik ryzyka	Czynnik etiologiczny	Uwagi
uraz czaszki ze złamaniem podstawy czaszki, płynotokiem nosowym	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i>	w tych przypadkach częściej występują zapalenia nawrotowe
uraz czaszki penetrujący do mózgu	<i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Staphylococcus epidermidis</i> , tlenowe pałeczki Gram-ujemne	
ostre zapalenie ucha środkowego, ostre zapalenie zatok przynosowych, zapalenie płuc	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i>	
zaburzenia odporności komórkowej: leczenie immunosupresyjne, zwłaszcza terapia kortykosteroidami, choroby nowotworowe, marskość wątroby, cukrzyca	<i>L. monocytogenes</i>	w tych przypadkach częściej występują zapalenia nawrotowe; zaburzenia odporności komórkowej
neutropenia i agranulocytoza u chorych z ostrą białaczką, poddanych chemioterapii	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> , inne pałeczki Gram-ujemne	
zaburzenia odporności humoralnej wtórne do nowotworów układu chłonnego, chemio- i radioterapii	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , rzadziej <i>N. meningitidis</i>	
niedobory końcowych składników alternatywnej drogi dopełniacza: C5, C6, C7, C8 i C9, infekcje uogólnione	<i>N. meningitidis</i> * <i>Acinetobacter</i> spp., <i>Moraxella catarrhalis</i>	*występują rodzinnie, często mają charakter nawrotowy
usunięcie śledziony lub jej uszkodzenie	<i>S. pneumoniae</i> , <i>H. influenzae</i> , <i>N. meningitidis</i>	
zabieg neurochirurgiczny	<i>P. aeruginosa</i> , <i>Acinetobacter baumannii</i> , pałeczki Gram-ujemne z rodziny <i>Enterobacterales</i> , <i>S. aureus</i> oraz <i>S. epidermidis</i> *	najczęściej są to zakażenia mikrobiotą szpitalną *często szczepy metycylinyoporne (MRSA i MRSE)
zakażenie układu drenażowego PMR: zakażona zastawka komorowo-otrzewnowa, drenaż PMR komorowo lub lędźwiowo-zewnętrzny	MRSE, MRSA, rzadziej <i>P. aeruginosa</i> i inne tlenowe pałeczki Gram-ujemne, <i>Cutibacterium acnes</i> (dawniej <i>Propionibacterium acnes</i>)	
siniczne wady serca	<i>Streptococcus</i> spp., <i>Staphylococcus</i> spp.	
alkoholizm	<i>S. pneumoniae</i> , <i>L. monocytogenes</i>	

Patogeneza BZOMR [1,2,9]

Antygeny ściany komórkowej i otoczki polisacharydowej bakterii, które przedostały się do OUN stymulują cytokiny prozapalne, które oddziałują na neutrofile. Wzbudzone granulocyty obojętnochłonne przy udziale adhezyn wykazują chemotaktyczny ruch w kierunku śródbłonna m.in. splotów naczyniowych komór mózgu, który stanowi barierę krew-PMR. Kolejne etapy reakcji zapalnej to adhezja, przyleganie granulocytów do endotelium, następnie diapedeza – przedostawanie się neutrofilii pomiędzy komórkami śródbłonna do PMR. W wyniku uszkodzenia bariery krew-PMR, do przestrzeni podpajęczynówkowej przedostają się granulocyty, bakterie oraz mediatory odpowiedzi zapalnej m.in. TNF- α , interleukina-1 i inne interleukiny prozapalne (IL-6, IL-8, IL-12, IL-16), prostaglandyny, leukotrieny, białka ostrej fazy, intensyfikując proces infekcyjny i zapalny. Z czasem granulocyty obojętnochłonne ulegają degranulacji z wytwarzaniem wolnych rodników tlenowych i uwalnianiem enzymów proteolitycznych.

Uszkodzenie bariery krew-PMR oraz krew-mózg, utworzonej przez śródbłonek kapilar mózgu powoduje zwiększoną przepuszczalność naczyń mózgowych, zmniejsza możliwości autoregulacji i jest odpowiedzialne za komponentę naczyniową obrzęku mózgu.

Cytotoksyczne oddziaływanie rodników tlenowych, enzymów proteolitycznych i innych czynników reakcji zapalnej na mózg odpowiada za cytotoksyczną komponentę obrzęku z nadmiernym gromadzeniem sodu i wody. Zaburzona cyrkulacja oraz utrudnione przez proces zapalny wchłanianie zwrotne PMR przez ziarnistości pajęczynówki doprowadza do obrzęku śródmiąższowego.

Obrzęk mózgu nasila glikolizę beztlenową. Powstający kwas pirogronowy jest metabolizowany w warunkach beztlenowych do kwasu mlekowego, a ten gromadząc się w mózgu zwiększa obrzęk i nasila kwasicę mózgu, która może doprowadzić do nieodwracalnego uszkodzenia OUN.

W sepsie może dochodzić do uszkodzenia śródbłonna kapilar mózgu. Proces zapalny przebiega wówczas bezpośrednio w mózgu z wytwarzaniem zakrzepów w naczyniach i mikroropni okołonaczyniowych. W obrazie klinicznym obserwuje się objawy ogniskowe, początkowo bez objawów oponowych, a zmiany w PMR mogą być niewielkie, jedynie odczynowe.

U osób po urazach przedniego dołu czaszki, sitowia, bakterie kolonizujące błony śluzowe jamy nosowo-gardłowej, mogą przez ciągłość przedostać się do przestrzeni podpajęczynówkowej i wywołać ZOMR, często o charakterze nawrotowym.

Objawy ZOMR [1,2,7,9]

Typowe objawy ZOMR to gorączka, ból głowy, sztywność karku. Przebieg BZOMR jest z reguły cięższy. W jednym z badań wykazano, że krótszy przebieg infekcji, wymioty, objawy podrażnienia opon, sinica, wybroczyny i zaburzenia świadomości są bardziej charakterystyczne dla BZOMR. Objawy kliniczne mogą tylko sugerować etiologię, jednak do ustalenia ostatecznego rozpoznania, określenia celowanego leczenia zgodnego z antybiogramem, a także, w pewnym zakresie, dalszego rokowania konieczne jest wykonanie punkcji lędźwiowej. ZOMR mogą, lecz nie muszą, towarzyszyć objawy sepsy opisane poniżej.

Na podstawie objawów klinicznych można podejrzewać BZOMR, ale ostateczne rozpoznanie choroby można postawić jedynie na podstawie badania płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR). Szybkie rozpoznanie jest niezbędne do rozpoczęcia adekwatnego leczenia, przede wszystkim antybiotykoterapii i ewentualnego leczenia glikokortykosteroidami. Sytuacje, w których zmuszeni jesteśmy prowadzić leczenie tylko w oparciu o kryteria kliniczne zdarzają się wyjątkowo. Obejmują one stany z przeciwwskazaniami do wykonania punkcji lędźwiowej (LP), sytuacje, gdy czas, który ma upłynąć do wykonania LP może okazać się zbyt długi, podejrzenie piorunującego zakażenia meningokokowego, a także przypadki, w których pobrany PMR jest „niediagnostyczny”, ze względu na silne, „traumatyczne”, skrwawienie. W takich sytuacjach stosujemy antybiotyki empirycznie kierując się wiekiem pacjenta, najbardziej prawdopodobną etiologią i wrażliwością na antybiotyki. Same objawy kliniczne nie upoważniają do rozpoczęcia leczenia deksametazonem. Należy pamiętać, że zawsze niezbędne jest pobranie krwi na posiew, które w połączeniu z objawami klinicznymi może być podstawą do leczenia celowanego.

Objawy kliniczne BZOMR są wypadkową wielu czynników, w największym jednak stopniu wieku pacjenta i wywołującego je drobnoustroju. Uwypuklenie i tętnienie ciemniaczka przedniego jest objawem występującym wyłącznie u niemowląt, a obecność objawów oponowych jest charakterystyczna dla dzieci starszych i dorosłych. Rozpoznanie neuroinfekcji,

zwłaszcza u najmłodszych dzieci, ze względu na niespecyficzne objawy może być trudne. Okres prodromalny jest zwykle nieswoisty, stosunkowo często występuje jednak przeczulica. Gorączka u chorych z BZOMR jest zwykle obecna, ale jej brak u chorego z objawami podrażnienia opon jest możliwy. Hipotermia jest natomiast objawem źle rokującym.

U dzieci starszych i u dorosłych objawy BZOMR są bardziej jednoznaczne niż w pierwszym roku życia.

Głównymi objawami są:

- cechy wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego: silne bóle głowy o charakterze pulsującym lub rozpierającym, nie reagujące na leki przeciwbólowe i przeciwzapalne, nudności i wymioty,
- wysoka ciepłota ciała $>39^{\circ}\text{C}$,
- objawy oponowe opisane szerzej poniżej,
- światłowstręt,
- przeczulica.

Inne objawy psycho-neurologiczne to:

- pobudzenie psychoruchowe – pojawia się wcześniej i jest związane ze wzrostem ciśnienia śródczaszkowego,
- zaburzenia świadomości, utrata przytomności – występują w ostrym okresie choroby i są związane z narastaniem ciśnienia śródczaszkowego i obrzęku mózgu,
- objawy zajęcia dróg piramidowych, niedowład, porażenia spastyczne – we wczesnym okresie choroby są objawem obrzęku mózgu i narastającej kwasicy,
- drgawki uogólnione, stan padaczkowy dotyczą 20-30% chorych z BZOMR – drgawki nasilając kwasicę mózgu, zwiększają ryzyko uszkodzenia mózgu,
- uszkodzenia nerwów czaszkowych – VI, III, IV, VII,
- różnego typu objawy ogniskowe ma 10-20% dzieci i dorosłych z BZOMR,
- bradykardia – występuje w ostro narastającym wodogłowiu, ropniach i ropniakach mózgu, obrzęku mózgu,
- zaburzenia mowy – afazja najczęściej typu motorycznego lub mieszana.

Pozostałe objawy występujące w ostrym BZOMR

- niewydolność oddechowa, najczęściej typu obturacyjnego, rzadko ośrodkowa,
- opryszczka warg, twarzy, często występuje w ostrym ropnym zapaleniu i świadczy o obniżonej odporności,
- wybroczyny, wylewy podskórne (DIC),
- objawy uogólnionej reakcji zapalnej (SIRS), sepsy, wstrząsu septycznego.

Objawy oponowe

Czułość i swoistość objawów oponowych jest niska! [10]. Są one wywoływane odruchową reakcją zgięciową na ból spowodowany naciąganiem, podrażnionej procesem zapalnym opony twardej. Częściej objawy oponowe obserwowane były w gruźliczym ZOMR (choroba o podostrym przebiegu), najrzadziej w przebiegu neuroinfekcji o etiologii wirusowej.

- **Szttywność karku** – utrudnione lub niemożliwe bierne lub czynne przygięcie głowy do klatki piersiowej – jest objawem obecnym u 30% dorosłych i 60-80% starszych dzieci z BZOMR. Tylko 1,5% dzieci nie ma sztywności karku przez cały czas trwania choroby, pomimo zmian w PMR.
- **Objaw Brudzińskiego** występuje u 5% dorosłych z ZOMR. Wyróżnia się trzy warianty: najczęściej obserwowanym jest objaw karkowy – przy biernym przygięciu głowy do klatki piersiowej następuje zgięcie kończyn dolnych w stawach kolanowych i biodrowych i objaw łonowy – zdecydowany ucisk na spojenie łonowe powoduje zgięcie kończyn dolnych w stawach kolanowych i biodrowych, natomiast objaw policzkowy – ucisk na policzek poniżej kości jarzmowej, powoduje uniesienie i zgięcie przedramion.

- **Objaw Kerniga** bada się w pozycji leżącej (na plecach). Występuje, gdy pacjent odczuwa opór podczas próby wyprostowania kolana $>135^\circ$, przy zgiętym pod kątem prostym stawie biodrowym i kolanowym. Objaw jest obustronny i nie powoduje bólu w przeciwieństwie do objawu Lasègue'a w rwie kulszowej.
- **Objaw Hermana** (objaw karkowo-paluchowy) występuje, gdy podczas biernego przyginania brody pacjenta do klatki piersiowej dochodzi do zgięcia grzbietowego palucha.
- **Objaw Flatau** (karkowo-mydriatyczny) – przy biernym pochyleniu głowy do przodu następuje rozszerzenie źrenic. Częściej obserwowany jest w gruźliczym ZOMR.
- **Objaw Amossa** (objaw trójnoga) – przy próbie siadania chory podpira się o wyprostowane kończyny górne, rozstawione na boki i ku tyłowi.
- **Opistotonus** – skurcz mięśni karku i grzbietu powodujący nasilone wygięcie tułowia i głowy do tyłu.

Objawom oponowym zwykle towarzyszy przeczulica oraz światłowstręt.

Meningismus, czyli występowanie dodatnich objawów oponowych bez ZOMR wywołanego przez drobnoustroje stwierdza się w przebiegu: zapalenia węzłów chłonnych szyi, ropnia pozagardłowego, ropni okołozębowych, osteomyelitis kręgów szyjnych, zapalenia płuc, mononukleozy zakaźnej i grypy. Objawy mogą być także skutkiem polekowego zapalenia opon oraz udaru słonecznego i ciepłego.

Wzmoczone ciśnienie śródczaszkowe jest następstwem zakażenia i zapalenia, a objawia się u niemowląt i dzieci mających jeszcze wyczuwalne ciemię w postaci uwypuklonego, niekiedy tętniącego, ciemienia, a u dzieci starszych i dorosłych w postaci bólu głowy (często niepoddającego się leczeniu przeciwbólowemu). Obrzęk tarcz nerwu wzrokowego w ostrym ZOMR jest rzadki, ale jego obecność może wskazywać na inne przyczyny lub wczesne poważne powikłania: zakrzepicę zatok żylnych, ropniak podtwardówkowy lub ropień mózgu. W wielu przypadkach ZOMR towarzyszy nieadekwatne nadmierne wydzielanie ADH (SIADH – syndrome of inappropriate antidiuretic hormone secretion), prowadzące do zatrzymania wody i hiponatremii, co w konsekwencji nasila obrzęk mózgu.

Neurologiczne objawy ogniskowe

Przejęciowe niedowłady albo trwałe porażenie nerwów najczęściej dotyczą nerwów ślimakowego i przedsionkowego. Rzadziej występują zaburzenia funkcji nerwów okoruchowych i twarzowego. Nerw wzrokowy jest zajęty bardzo rzadko. Drgawki występują u 20-30% dzieci, jako uogólnione lub częściowe. Gorsze rokowanie jest związane z występowaniem drgawek w czwartym i następnym dniach choroby (pomimo leczenia). Z reguły wszystkie dzieci, które miały drgawki z powodu BZOMR równocześnie mają inne objawy (zaburzenia świadomości, sztywność karku czy wysypkę krwotoczną). Występowanie ogniskowych objawów neurologicznych w chwili rozpoznania choroby niekorzystnie koreluje z występowaniem neurologicznych objawów ubytkowych po zakończeniu leczenia oraz z opóźnieniem rozwoju psychomotorycznego; są one najczęściej następstwem martwicy kory, zapalenia naczyń tętniczych lub zakrzepicy naczyń żylnych. Wodniaki podtwardówkowe są częstym powikłaniem ZOMR (u 30-40% dzieci), rokowanie jest jednak dobre i ich występowanie nie ma żadnego znaczenia prognostycznego [2,11].

Inne objawy towarzyszące BZOMR

Wielu pacjentów z BZOMR skarży się na **bóle stawów i mięśni**. Zapalenie stawów częściej obserwuje się w zakażeniach meningokokowych w przebiegu bakteriemii w późniejszym okresie choroby. W zakażeniach wywołanych przez meningokoki i Hib zapalenie stawów wystąpić może także, jako wynik tworzenia się kompleksów immunologicznych.

Wysypki występują najczęściej w przebiegu BZOMR o etiologii meningokokowej (u $>50\%$ pacjentów), rzadziej w zakażeniach Hib, a najrzadziej w zapaleniach o etiologii pneumokokowej (wyjątek stanowią chorzy na IChP z asplenią). Tylko dokładne zbadanie całej skóry rozebranego pacjenta, umożliwia stwierdzenie obecności wysypki. Uwagę należy zwrócić na spojówki, śluzówkę jamy ustnej, powierzchnie dłoniowe rąk i podeszwy stóp. Szczególne znaczenie ma wykrycie zmian wybroczynowych w dorzeczu żyły głównej dolnej lub większych zmian zatorowo-krwotocznych, które nie ustępują pod wpływem ucisku. Zmiany krwotoczne pojawiają się zwykle po 12-18 godz. od pierwszych oznak choroby, ale u 20% pacjentów z IChM w ogóle nie występują. Poza wysypkami krwotocznymi obserwuje się występowanie różyczkopodobnych i plamkowo-grudkowych wysypek, które nierzadko samoistnie zanikają.

W ZOMR wywołanych zwłaszcza przez Hib i w mniejszym stopniu przez pneumokoki mogą wystąpić **objawy zapalenia tkanki podskórnej twarzy** (*cellulitis facialis*) najczęściej policzka [12], zapalenie okolicy okołoooczodołowej oraz zapalenie płuc. Zapalenie nagłośni jest prawie patognomoniczne dla zakażenia Hib.

W meningokokowym ZOMR częściej niż w zapaleniu o etiologii pneumokokowej występują objawy sepsy i wstrząsu septycznego, które są czynnikami złego rokowania. W ZOMR wywoływanym przez pneumokoki i Hib częściej niż w ZOMR o etiologii meningokokowej występują objawy neurologiczne i zaburzenia świadomości.

Wczesne rozpoznanie BZOMR jest trudne i wymaga od lekarza znacznej czujności. We wczesnym stadium choroby objawy są niezauważalne albo mylące. Jeśli pacjent ma gorączkę, ból głowy, światłowstręt, przeczulicę, wymioty, zaburzenia świadomości, sztywność karku oraz zmiany na skórze, rozpoznania raczej nie można przeoczyć [2].

Różnicowanie

W różnicowaniu należy brać pod uwagę: zapalenie mózgu, choroby neurologiczne, pierwotne i wtórne nowotwory OUN, zatrucia (strychniną) oraz urazy [1,2,7,9].

Rokowanie

Rokowanie w BZOMR zależy od przebiegu choroby i obserwowanych powikłań. Do trwałych powikłań choroby zaliczamy: upośledzenie słuchu (u 30% chorych z pneumokokowym ZOMR, 10% z meningokokowym i u 5 – 20% z wywołanym przez *H. influenzae* typu b), ubytkowe objawy neurologiczne, padaczkę, wodogłowie, problemy psychiatryczne i poznawcze u dzieci, uszkodzenia kości i stawów, bliznowacenie skóry w obrębie zmian nekrotycznych, amputacje poniekrotyczne dotyczące palców, kończyn, martwicę moszny itp. oraz niewydolność nerek. Ropnie mózgu są bardzo rzadkim powikłaniem BZOMR wywołanego przez klasyczne patogeny. Najlepiej rokuje rozpoznanie ZOMR o etiologii meningokokowej bez objawów wstrząsu septycznego. W epidemiach obserwowanych w USA w latach 1929 – 1931 umierały przede wszystkim niemowlęta (84%) oraz osoby powyżej 40 lat (72%). Obecnie śmiertelność w sporadycznych przypadkach IChM w krajach rozwiniętych wynosi 7-10%, a w przypadkach ze wstrząsem septycznym do 20-30%. Bez wczesnego rozpoznania, szybko podjętej antybiotykoterapii oraz intensywnej opieki medycznej śmiertelność sięga 70%. Najwyższą śmiertelność (20-30%) oraz najczęstsze trwałe powikłania neurologiczne (u >50%) obserwuje się w pneumokokowych ZOMR [1,2,9].

Następstwa BZOMR zależą od:

- Postępowania lekarskiego – dzięki kampaniom informacyjnym i przygotowaniu lekarzy do szybkiego rozpoznawania i leczenia IChM, ICHP i innych zakażeń inwazyjnych można zmniejszyć śmiertelność nawet do 5%.
- Zjadliwości drobnoustrojów – badania nad występowaniem zjadliwych klonów meningokoków i pneumokoków prowadzi KOROUN.
- Oporności drobnoustrojów na antybiotyki – w największym stopniu dotyczy to pneumokoków, pałeczek *Klebsiella spp.* i *P. aeruginosa*, w mniejszym szczepów *H. influenzae* typu b, a w najmniejszym meningokoków (wciąż wiele szczepów wrażliwych jest na penicylinę).
- Stanu odporności gospodarza – np. niedobory składowych dopełniacza (C5 do C8) sprzyjają zakażeniom meningokokowym, a defekty układu properdyny sprzyjają letalnym infekcjom meningokokowym; asplenia i hiposplenia (np. w przebiegu nieleczzonej celiakii) predysponują do zakażeń bakteriami otoczkowymi; nabyte lub wrodzone defekty dotyczące limfocytów T sprzyjają zakażeniom *L. monocytogenes*.

Piśmiennictwo:

1. Hasbun R, van de Beek D, Brouwer MC, Tunkel AR. Acute meningitis [w:] Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, pod red. Bennett J, Dolin R, Blaser MJ. Ninth Edition, Elsevier, 2020, 1183-1209.
2. Janowski AB, Hunstad DA. Central Nervous System Infections. [w:] Nelson Textbook of Pediatrics 21-th edition, Elsevier 2020, 3223-3234.
3. Biondi EA, Lee B, Ralston SL i wsp. Prevalence of Bacteremia and Bacterial Meningitis in Febrile Neonates and Infants in the Second Month of Life: A Systematic Review and Meta-analysis. JAMA Netw Open. 2019;2: e190874.

4. Choi C. Bacterial meningitis in aging adults. *Clin Infect Dis* 2001; 33: 1380-1385.
 5. Fuentes-Antrás J, Ramírez-Torres M, Osorio-Martínez E i wsp. Acute Community-Acquired Bacterial Meningitis: Update on Clinical Presentation and Prognostic factors. *New Microbiol.* 2019;41: 81-87.
 6. Lundboea LF, Thomas Benfielda T. Risk factors for community-acquired bacterial meningitis. *Infectious Diseases* 2017;49: 433–444.
 7. Bundy LM, Rajnik M, Noor A. Neonatal Meningitis. 2023, In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
 8. Brouwer C, van de Beek D, Heckenberg SG i wsp. Community-acquired *Listeria monocytogenes* meningitis in adults. *Clin Infect Dis* 2006; 43: 1233-1238.
 9. Hasbun R. Pathogenesis and pathophysiology of bacterial meningitis. UpToDate, 2023. <https://www.uptodate.com/contents/pathogenesis-and-pathophysiology-of-bacterial-meningitis/print>, dostęp 11.12.2023.
 10. Thomas KE, Hasbun R, Jekel J i wsp. The diagnostic accuracy of Kernig’s sign, Brudzinski’s sign, and nuchal rigidity in adults with suspected meningitis. *Clin Infect Dis* 2002; 35: 46-52.
 11. Snedeker JD, Kaplan SL, Dodge PR i wsp. Subdural effusion and its relationship with neurologic sequelae of bacterial meningitis in infancy: A prospective study. *Pediatrics* 1990; 86: 163-170.
 12. Snedeker JD, Kaplan SL, Dodge PR i wsp. Subdural effusion and its relationship with neurologic sequelae of bacterial meningitis in infancy: A prospective study. *Pediatrics* 1990; 86: 163-170.
-

5. ROZPOZNANIE KLINICZNE WIRUSOWEGO ZAPALENIA OPON MÓZGOWO-RDZENIOWYCH

ZOMR o etiologii wirusowej ograniczają się w większości do zajęcia tylko samych opon mózgowo-rdzeniowych.

Występowanie. Zapadalność w Polsce wynosi 3-5/100 000 [1]. Uważa się, że liczba zakażeń wirusowych jest niedoszacowana m.in. z uwagi na ograniczony dostęp i specyfikę diagnostyki wirusologicznej [2]. Dominującymi patogenami są wirusy z rodziny enterowirusów, flawowirusów i herpeswirusów (Tab. 6). Niektóre z patogenów cechuje sezonowość występowania (KZM, enterowirusy). Wiele wirusów neurotropowych jest zoonozami krążącymi w świecie zwierzęcym, wektorowanymi na człowieka poprzez ukąszenie komarów, kleszczy i związane z regionalnym występowaniem rezerwuaru zwierzęcego.

Tabela 6. Czynniki etiologiczne wirusowego ZOMR w Polsce.

CZĘSTE	RZADSZE
Wirus KZM, Enterowirusy (Coxsackie, ECHO), Ludzkie enterowirusy 68-71	VZV
Wirus HSV2	EBV
HIV	LCMV

Objawy kliniczne. Objawy kliniczne są niespecyficzne i typowe dla innych ZOMR: ból głowy, gorączka, podrażnienie opon mózgowo-rdzeniowych (objawy oponowe), nudności, wymioty, może im towarzyszyć światłowstręt, nadwrażliwość na dźwięki. W PMR widoczna jest pleocytoza jednojądrzasta. Ta postać neuroinfekcji przebiega stosunkowo łagodnie. Dynamika przebiegu i nasilenie objawów zależy od czynnika etiologicznego. Rokowanie jest dobre, a śmiertelność niska (<1%).

Potwierdzenie etiologiczne. W toku diagnostycznym bardzo istotny jest wywiad, obecność materiału genetycznego patogenu w PMR, obecność przeciwciał w surowicy i PMR, ocena ich syntezy wewnątrzoponowej (np.: dla VZV) lub ocena dynamiki zmian.

Diagnostyka różnicowa. Wirusowe ZOMR należy różnicować z podrażnieniem opon w przebiegu innego zakażenia bakteryjnego takiego jak zapalenie płuc, zapalenie zatok, zapalenie w bliskości opon mózgowo-rdzeniowych. Również z objawem podrażnienia opon spowodowanym nadmiernym nasłonecznieniem, odwodnieniem, zaburzeniami elektrolitowymi w przebiegu choroby nowotworowej, układowym zapaleniem naczyń lub krwawieniem podpajęczynówkowym.

Enterowirusowe zapalenie opon. Zachorowania występują najczęściej w porze letniej i rozprzestrzeniają się drogą fekalno-oralną. Najczęściej towarzyszy im gorączka i ból głowy, natomiast mogą wystąpić również wymioty, niechęć do jedzenia, wysypka, biegunka, kaszel oraz objawy zajęcia górnych dróg oddechowych. Ból głowy często zlokalizowany jest w okolicy czołowej, pozagałkowo z nadwrażliwością na światło, chory odczuwa również ból przy ruchach gałek ocznych. Sztywność karku jest miernie zaznaczona. Rzadko może towarzyszyć zapalenie mięśnia sercowego oraz krwotoczne zapalenie spojówek. W badaniach laboratoryjnych widoczna pleocytoza nie przekracza 100 kom/mm³ przy prawidłowym stężeniu glukozy i prawidłowym lub nieznacznie podwyższonym stężeniu białka. U noworodków z hipo- lub agammaglobulinemią mogą występować zakażenia przewlekłe lub ciężkie. Przebieg kliniczny jest zazwyczaj łagodny i ustępuje w ciągu kilku tygodni nie pozostawiając powikłań [3].

Zapalenie opon wywołane przez HSV-2 (wirus opryszczki, typ 2). Występuje w czasie pierwotnego epizodu opryszczki narządów płciowych. U 20% chorych występują kolejne nawracające incydenty ZOMR. To nawrotowe zapalenie o etiologii HSV-2 nazwano zapaleniem opon Mollareta. Przebieg kliniczny zazwyczaj jest łagodny i samograniczający się [3].

Zapalenie opon wywołane przez VZV (wirus ospy wietrznej i półpaśca). Należy podejrzewać w przypadku współistnienia ospy wietrznej lub półpaśca. Może występować bez wysypki. Zapalenie opon jest łagodne i samo ustępujące. Niektórzy pacjenci mogą jednak rozwinąć różne postaci zapalenia ośrodkowego układu nerwowego jak zapalenie opon mózgowo-

rdzeniowych, zapalenie mózgu, zapalenie rdzenia i mózgową waskulopatię. Częściej występuje u osób starszych lub immunoniekompetentnych [3].

Zapalenie opon wywołane przez EBV (Wirus Epsteina-Barr). Może towarzyszyć mononukleozie lub występować bez objawów mononukleozy.

Zapalenie opon wywołane przez HIV (ludzki wirus nabytego niedoboru odporności). Należy podejrzewać u każdego pacjenta, u którego występują czynniki ryzyka HIV lub podejrzewa się obecność zakażenia HIV. ZOMR może występować po zakażeniu pierwotnym HIV u 5-10% przypadków (w czasie serokonwersji), rzadziej w późniejszych okresach choroby. Meningitis często poprzedza zespół mononukleozopodobny, obejmujący niską gorączkę, bolesną limfadenopatię i łagodną hepatosplenomegalię. Ból głowy jest częsty w ostrym zakażeniu HIV, nawet jeśli nie mamy limfadenopatii. W badaniach PMR obecna jest niska pleocytoza, nieco podwyższone stężenie białka i prawidłowa glukoza. W ZOMR wywołanym przez HIV częściej niż w innych zakażeniach wirusowych występują porażenia nerwów czaszkowych, najczęściej V, VII lub VIII [3].

Wirus świnki. Wirus świnki często powoduje zajęcie ośrodkowego układu nerwowego. Świnkowe ZOMR należy uwzględnić w rozpoznaniu różnicowym, gdy ZOMR pojawia się późną zimą lub wczesną wiosną. Może towarzyszyć objawom świnki przebiegającej pod postacią zapalenia przyusznic, jąder, jajowodów, trzustki, z podwyższoną aktywnością lipazy i amylazy. Nieobecność tych objawów nie wyklucza jednak rozpoznania zakażenia tym wirusem. U prawie 30% pacjentów rozwija się ZOMR z typowymi objawami klinicznymi a u 50% z nich obecna jest pleocytoza. U 25% pleocytoza może być wyższa niż 1000 komórek, u 25 % może towarzyszyć jej neutrofilia. Obniżenie stężenia glukozy może wystąpić u 10-30% pacjentów. Odnotowano rzadkie przypadki poszczipienne 10-100/100 000, zwykle w 2-4 tygodnie po szczepieniu [3].

Zapalenie opon wywołane przez wirus LCMV (wirus limfocytarnego zapalenia spłotu naczyńńwkowego i opon mózgowo-rdzeniowych, lymphochoriomeningitis). Jest samoograniczającą się chorobą z niską chorobowością i śmiertelnością, jednakże u pacjentów po transplantacji może się rozwinąć ciężkie i śmiertelne meningoencephalitis. Zakażenie wirusem LCMV należy brać pod uwagę, gdy aseptyczne ZOMR pojawia się późną jesienią albo zimą, u osób z dodatnim wywiadem w kierunku kontaktu z myszami, gryzoniami hodowanymi jako zwierzęta domowe lub laboratoryjne, bądź ich wydaliniami. U niektórych chorych występują: wysypka, nacieki w płucach, wypadanie włosów, zapalenie przyusznic, jąder lub mięśnia sercowego i osierdzia. Do odchyień w badaniach laboratoryjnych należy leukopenia, małopłytkowość, podwyższone enzymy wątrobowe. Pleocytoza może przekraczać 1000 komórek; obniżenie glukozy może wystąpić w 30% [3].

Zapalenie opon wywołane przez wirus KZM (wirus kleszczowego zapalenia mózgu). Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych jest najczęstszą prezentacją kliniczną tej neuroinfekcji. Do zakażenia dochodzi po pokłuciu przez zakażonego kleszcza lub po spożyciu mlecznych produktów niepasteryzowanych. Okres wylegania to 7-28 dni, a przebieg kliniczny jest zazwyczaj dwufazowy. Początkowo występuje okres wiremii, której towarzyszą objawy grypopodobne (pierwsza faza), następnie po 1-2 dniowej przerwie pojawiają się (faza druga) objawy neurologiczne w postaci objawów oponowych. Rozpoznanie opiera się na stwierdzeniu obecności przeciwciał w klasie IgM i IgG w surowicy i PMR, u osób nieszczepionych [4].

Piśmiennictwo:

1. Przyjałkowski W, Paul M. Wirusowe zapalenie ośrodkowego układu nerwowego. W: Szczeklik A, Gajewski P (red.) Interna Szczeklika. Wydawnictwo Medycyna Praktyczna, Kraków, 2022, 2511-2515.
2. Stefanoff P, Rogalska J, Zajkowska J i wsp.. Surveillance of aseptic central nervous system infections in Poland: is it meeting its objectives? Eurosurveillance, 2021;16: 19924.
3. Viral Infections. w: Kasper DL, Fauci AS, Harrison's Infectious Diseases, McGraw Hill Professional, 2017, 706-985.
4. Kuchar E, Zajkowska J, Flisiak R i wsp. Epidemiologia, diagnostyka i profilaktyka kleszczowego zapalenia mózgu w Polsce i wybranych krajach europejskich – stanowisko polskiej grupy ekspertów Med Pr. 2021; 72: 193-210.

6. BAKTERYJNE ZAPALENIE OPON MÓZGOWO–RDZENIOWYCH U NOWORODKÓW

Zakażenia ośrodkowego układu nerwowego pozostają ważną przyczyną zachorowalności i śmiertelności u noworodków, stanowią bezpośrednie zagrożenie życia i wymagają pilnej diagnostyki i leczenia.

Uwagi ogólne:

- Zakażenia inwazyjne u noworodków, w tym zapalenie opon mózgowo–rdzeniowych (ZOMR), dzieli się na: zakażenia o wczesnym początku (występujące do 72 godziny życia, w przypadku paciorkowców grupy B, GBS do 7 doby życia) i o późnym początku (powyżej 72 godziny życia, dla GBS od 7– 89 doby życia).
- **Zapadalność** na bakteryjne zapalenie opon mózgowo–rdzeniowych (BZOMR) u noworodków jest najwyższa we wszystkich grupach wiekowych. W krajach rozwiniętych jest oceniana na 0,3/1 000 żywych urodzeń, w niektórych rejonach geograficznych sięga nawet 1/1000 żywych urodzeń. W ciągu ostatnich 20 lat prowadzona w oparciu o przesiewowe badanie w kierunku nosicielstwa GBS u kobiet w ciąży śródporodowa profilaktyka antybiotykowa spowodowała spadek zachorowalności na BZOMR o wczesnym początku.
- **Umieralność** wynosi 5-20 %. Powikłania neurologiczne występują w 20-50% przypadków nawet w krajach wysoko rozwiniętych. Najczęstszymi powikłaniami neurologicznymi są: zaburzenia rozwoju psychomotorycznego, wodogłowie, upośledzenie słuchu, zaburzenia napadowe i mózgowo porażenie dziecięce.
- **Częstość występowania** zakażeń zarówno o wczesnym jak i późnym początku jest powiązana z wiekiem ciążowym w dniu urodzenia oraz bardzo małą urodzeniową masą ciała (< 1500 g); jest istotnie wyższa u wcześniaków i tym wyższa im niższy jest wiek płodowy w dniu porodu.

Pozostałe czynniki ryzyka ZOMR:

- **o wczesnym początku:** kolonizacja dróg rodnych matki przez GBS, przedwczesne oraz przedłużone odpląwanie płynu owodniowego (>18 godzin), rozpoznanie zakażenia wewnątrzrodniowego u matki (na podstawie obecności gorączki w czasie porodu – jednorazowy pomiar $\geq 39^{\circ}\text{C}$ lub temperatura $38,0\text{--}38,9^{\circ}\text{C}$ trwająca powyżej 30 minut – lub położniczej diagnozy *chorionamnionitis*),
- **o późnym początku:** sepsa o późnym początku (LOS), leczenie wodogłowie pokrwotocznego: powtarzanymi nakłuciami odbarczającymi komór lub punkcjami łądźwiowymi, drenażem zewnętrznym, obecność zbiornika podskórnego (np. typu Rickhama), układu zastawkowego komorow–otrzewnowego, obecność kaniuli centralnej [1-3].

Patofizjologia. Najczęstszą przyczyną ZOMR u noworodków jest bakteremia w przebiegu sepsy, jednak w około 15% zakażeń bakteryjnych OUN posiew krwi jest ujemny. W wadach ośrodkowego układu nerwowego i kręgosłupa, w których obecne jest połączenie skóry z przestrzenią podpajęczynówkową (np. przepuklina oponowo-rdzeniowa) ZOMR może być następstwem bezpośredniego zakażenia ze skóry lub otoczenia.

W następstwie inwazji bakterii dochodzi do rozwoju reakcji zapalnej, zapalenia naczyń, zapalenia pajęczynówki, opony twardej i miękkiej. Zapalenie układu komorowego (*ventriculitis*) występuje w około 70-90% przypadków, częściej w czasie zakażeń wywołanych przez bakterie Gram-ujemne. Uszkodzenie śródbłonna może być przyczyną zakrzepicy naczyń żylnych, powstawania ognisk zawałów i uszkodzenia tkanki mózgowej, co może prowadzić do powstawania zmian zanikowych. Uszkodzenie spłotu naczyniówkowego może powodować zaburzenie wytwarzania płynu mózgowo-rdzeniowego a tworzący się wysięk utrudniać jego krążenie i powodować poszerzenie układu komorowego [1-4].

Etiologia. Jest powiązana z wiekiem płodowym przy urodzeniu oraz z czasem wystąpienia zakażenia. Głównymi czynnikami etiologicznymi są *Streptococcus agalactiae* i *Escherichia coli*, u noworodków urodzonych przedwcześnie również *Klebsiella pneumoniae* i *Enterobacter* spp. (Tab. 7).

Tabela 7. Etiologia ZOMR u noworodków z podziałem na zakażenie o wczesnym i późnym początku [1-3].

Typ zakażenia	Czynnik etiologiczny		Uwaga
O wczesnym początku	najważniejsze	<i>S. agalactiae</i> (GBS), <i>E. coli</i>	U noworodków przedwcześnie urodzonych <i>E. coli</i> jest stwierdzana częściej niż GBS, wywołujący około 50% zakażeń u dzieci donoszonych
	inne	<i>Listeria monocytogenes</i> , Gram-ujemne pałeczki jelitowe; <i>Enterococcus spp.</i>	
O późnym początku, szpitalne	najważniejsze	Gronkowce koagulazo – ujemne. <i>Staphylococcus aureus</i> , <i>Escherichia coli</i> , <i>S. agalactiae</i> (GBS), <i>Candida spp.</i>	
	inne	Gram-ujemne pałeczki jelitowe, <i>Enterococcus spp.</i>	
O późnym początku, pozaszpitalne (środowiskowe)	najważniejsze	<i>Escherichia coli</i> , <i>Streptococcus agalactiae</i>	
	inne	<i>Listeria monocytogenes</i> , <i>Streptococcus pneumoniae</i> , <i>Neisseria meningitidis</i> , <i>Enterococcus spp.</i> , Gram-ujemne pałeczki jelitowe	

Rozpoznanie. W rozpoznawaniu zakażeń o wczesnym początku podkreśla się znaczenie powtarzanego badania klinicznego (np. co 4-6 godzin). Ważne znaczenie ma również monitorowanie parametrów życiowych: częstości oddechów, czynności serca, saturacji, ciśnienia tętniczego i temperatury. W razie stwierdzenia nieprawidłowości konieczne jest przeprowadzenie diagnostyki laboratoryjnej i mikrobiologicznej i zastosowanie leczenia antybiotykami [5,6].

Objawy kliniczne. Początkowe objawy kliniczne są niespecyficzne, identyczne jak w przebiegu sepsy bez zajęcia OUN: obniżenie aktywności, napięcia mięśniowego, zaburzenia oddychania, bezdechy u wcześniaków, niestabilność ciepłoty ciała – u noworodków donoszonych częściej hipertermia, u wcześniaków hipotermia, nietolerancja karmienia, zaburzenia przepływu obwodowego (czas rekapilaryzacji >2 sekund), przeczulica – nieadekwatne reakcje na próby uspokojenia poprzez głaskanie, przytulanie. Jednym z pierwszych objawów mogą być zaburzenie rytmu serca pod postacią bradykardii (<100/min) i tachykardii (>180/min), często występujące naprzemiennie. U części pacjentów szybko rozwijają się objawy wstrząsu septycznego. Objawy ze strony OUN wskazujące na ZOMR: senność lub nadmierne pobudzenie, drażliwość. Drgawki występują w 20-50% przypadków, częściej w zakażeniach wywołanych przez bakterie Gram-ujemne. Najczęściej obserwuje się automatyzmy ruchowe ustno-językowe, zmiany ułożenia. Wypuklenie ciemiączka obecne jest w 25% przypadków, a ułożenie odgięciowe w 15%; są to objawy późne [1-3,5].

Diagnostyka laboratoryjna. U wszystkich noworodków z klinicznymi objawami wczesnej sepsy zaleca się wykonanie:

- posiewu krwi,
- morfologii krwi z rozmazem ręcznym, gazometrii, oznaczenia stężenia prokalcytoniny a w zakażeniach późnych białka C-reaktywnego (CRP),
- oceny wskazań do wykonania badania płynu mózgowo-rdzeniowego,
- w zakażeniach późnych należy dodatkowo pobrać posiew moczu [5-8].

Kluczowymi badaniami dla rozpoznania ZOMR są badanie ogólne i mikrobiologiczne płynu mózgowo-rdzeniowego. Stwierdzenie obecności bakterii w preparacie bezpośrednim barwionym metodą Grama i/lub posiewie płynu mózgowo-rdzeniowego, po wykluczeniu możliwości zanieczyszczenia, stanowi potwierdzenie diagnozy BZOMR i wskazanie do rozpoczęcia antybiotykoterapii [1,2,8-10].

Stosowanie antybiotyków przed wykonaniem nakłucia lędźwiowego może spowodować jego wyjałowienie. ZOMR w takiej sytuacji można rozpoznać, jeśli pobrany przed antybiotykoterapią posiew krwi jest dodatni i badanie PMR 24-36 godzin po rozpoczęciu antybiotykoterapii jest nieprawidłowe. Jeżeli wynik posiewu PMR jest ujemny po 24 godzinach to próbkę przeznaczoną do badań molekularnych należy przesłać do laboratorium wykonującego takie badania [8].

Diagnostyka obrazowa. Złotym standardem diagnostyki obrazowej jest wykonanie rezonansu magnetycznego (MR). Badanie to jest często niedostępne w warunkach oddziału noworodków. Wtedy wskazane jest wykonywanie go w późniejszym okresie choroby w celu wykrycia ropni mózgu, obszarów zawałowych lub malacji oraz oceny stopnia zaniku istoty korowej i istoty białej. Badaniem stosowanym we wstępnej diagnostyce ZOMR, monitorowaniu leczenia i rozpoznawaniu powikłań jest USG mózgowia. Zaleca się wykonanie pierwszego badania wcześniej, przy podejrzeniu i kolejnego nie później niż w 7-10 dniu leczenia. Stwierdzenie zmian w tkance mózgowej lub poszerzenia komór zwiększa ryzyko wystąpienia powikłań [4,9].

Inne badania. W przypadku drgawek zalecane jest wykonanie badania EEG. Pomiar obwodu głowy powinien być wykonywany regularnie. Powiększanie obwodu głowy może wskazywać na obecność obrzęku mózgu, wodogłowa lub ropniaka podtwardówkowego (rzadkie powikłanie u noworodków) [1].

Punkcja lędźwiowa wskazania:

- dodatni posiew krwi,
- wysokie ryzyko sepsy związane z obecnością typowych dla ciężkiej sepsy objawów klinicznych i odchyień w badaniach laboratoryjnych,
- brak poprawy stanu ogólnego pacjenta pomimo leczenia prawidłowo dobranymi antybiotykami,
- kliniczne i laboratoryjne objawy zakażenia o późnym początku.

Wykonywanie punkcji lędźwiowej nie jest zalecane u noworodków w dobrym stanie ogólnym, u których monitorowanie parametrów życiowych i badania laboratoryjne są wykonywane jedynie ze względu na obecność czynników ryzyka.

Przeciwwskazania do nakłucia lędźwiowego u noworodka:

- ciężki, niestabilny stan ogólny, niewydolność oddechowo-kръżeniowa,
- drgawki lub napad drgawek w ciągu ostatnich 30 minut,
- małopłytkowość < 100 tys.mm³ lub wartość INR >1,4 [1,8,9,10].

Badanie ogólne płynu mózgowo-rdzeniowego. Prawidłowe wartości PMR u noworodków są odmienne od stwierdzanych u starszych dzieci i dorosłych. Liczba krwinek białych oraz stężenie glukozy mają podobne wartości u wcześniaków i noworodków urodzonych w czasie. Natomiast liczba neutrofilii i stężenie białka zależą od wieku płodowego. Prawidłowa wartość krwinek białych wynosi <12/ mm³ u dzieci urodzonych przedwcześnie <10/ mm³ u dzieci urodzonych w terminie a stężenie białka odpowiednio < 210 i <110 mg/dl. Prawidłowe wartości podano w tabeli 8.

Tabela 8. Prawidłowe wartości PMR u noworodków urodzonych przedwcześnie i o czasie [12].

	Pleocytoza (liczba krwinek białych/ mm ³)	Stężenie białka (g/l)	Stężenie glukozy (mmol/l)
Wcześnieśnik < 28 dnia życia	9 (0-30)	1 (0,5-2,5)*	3 (1,5-5,5)
Noworodek urodzony o czasie	6 (0-21)	0,6 (0,3-2,0)*	3 (1,5-5,5)

Wszystkie wartości podane są jako wartości średnie i zakres.

Stężenie białka jest wyższe w pierwszym tygodniu życia i zależy od liczby krwinek czerwonych.

Liczba krwinek białych >21 mm³ i stężenie białka > 1g/l , jeśli liczba erytrocytów wynosi poniżej 1000 wskazuje na zapalenie opon mózgowo–rdzeniowych.

W celu rozpoznania zapalenia opon mózgowo–rdzeniowych w wielu wytycznych przyjmuje się jako punkty odcięcia liczbę krwinek białych 20-22/mm³ i liczbę neutrofilów w PMR >2-8/mm³, podwyższone stężenie białka (>1,25 – 1,5 g/l u wcześniaków i >1 g/l u dzieci urodzonych o czasie) oraz obniżone stężenie glukozy (<20 mg - 1,1 mmol/l u wcześniaków i <30 mg/dl - 1,7 mmol/l u urodzonych w terminie). Interpretacja stosunku stężenia glukozy w surowicy do stężenia w PMR wymaga ostrożności u noworodków urodzonych przedwcześnie, ponieważ stężenie w surowicy na początku ostrej choroby ulega znacznym wahaniom.

Piśmiennictwo :

1. Cant AJ, Gennery AR, Betford RA i wsp. Focal infections in the newborn. Meningitis. w Rennie & Robertson's Textbook of Neonatology red Janet M Rennie Churchill Livingstone Elsevier 2021 1030-1032.
2. Lauterbach R. Bakteryjne zapalenie opon mózgowo–rdzeniowych u noworodka. w Standardy opieki medycznej nad noworodkiem w Polsce. Zalecenia Polskiego Towarzystwa Neonatologicznego. Wydanie V. 2023. Borszewska–Kornacka MK (red.), Gulczyńska E, Helwich E i wsp. Media- Press, Warszawa 2023: 387-391.
3. Bundy LM, Rajnik M, Noor A. Neonatal Meningitis. 2023, In: StatPearls [Internet]. Treasure Island (FL): StatPearls Publishing; 2023.
4. Littwin B, Pomiećko A, Stępień– Roman M, i wsp. Bacterial meningitis in neonates and infants - the sonographic picture. J Ultrason 2018; 18: 63-70.
5. Puopolo KM, Benitz WE, Zaoutis TE, Committee on Fetus and Newborn, Committee on Infectious Diseases Management of Neonates Born at ≥ 35 0/7 Weeks' Gestation With Suspected or Proven Early – Onset Bacterial Sepsis. Pediatrics 2018; 142: e20182894.10.1542/peds.2018-2894.
6. Fleiss N, Schwabenbauer K, Randis i wsp. What's new in the management of neonatal early – onset sepsis? Arch Dis Fetal Neonatal Ed. 2023;108: F10-F14.
7. Pantell RH, Roberts KB, Adams WG i wsp. Clinical practice guideline: Evaluation and management of well-appearing febrile infants 8-60 days old. Pediatrics 2021;148: e2021052228.
8. Okarska-Napierała M, Kuchar E. Zapalenie opon mózgowo -rdzeniowych u dzieci – postępowania praktyczne. Standardy Medyczne Pediatria 2017; T14: 241-250.
9. Alamarat Z, Hasburn R. Management of acute bacterial meningitis in children. Infection and drug resistance 2020;q13: 4077 4089.
10. Heath PT, Nik Yusoff NK, Baker C. Neonatal meningitis. Arch Dis Fetal Neonatal Ed. 2003;88: F173-F178.
11. Zimmermann P, Curtis N, Normal Values for Cerebrospinal Fluid in Neonates: A Systematic Review. Neonatology 2021; 118: 629–638.
12. Rennie JM. Normal cerebrospinal fluid values. w Rennie & Robertson's Textbook of Neonatology red Janet M Rennie Churchill Livingstone Elsevier 2021; 1321-1322.

7. SEPSA W WYNIKU ZAKAŻENIA POZASZPITALNEGO

W lutym 2016 r. grupa robocza powołana przez European Society of Intensive Care Medicine i Society of Critical Care Medicine opracowała nową definicję sepsy i określiła ją jako „zagrożającą życiu dysfunkcję narządową spowodowaną zaburzoną regulacją odpowiedzi ustroju na zakażenie”. Dochodzi do niej, gdy układ odpornościowy gospodarza nieadekwatnie do sytuacji rozpoznaje lub usiłuje opanować zakażenie. Sepsę charakteryzuje szerokie spektrum nasilenia od zakażenia układowego (np. bakteriemia) lub zakażenia ogniskowego (np. ZOMR, zapalenie płuc, odmiedniczkowe zapalenie nerek), poprzez wstrząs septyczny (hipotensja pomimo adekwatnej resuscytacji płynowej wymagająca stosowania amin katecholowych oraz wzrost mleczanów > 2 mmol/l), aż po zejście śmiertelne. Sepsa może być następstwem lokalnej infekcji (np. ropień, miniuraz – często w sepsie wywołanej przez *Streptococcus pyogenes*, zapalenie sitowia itp.) lub kolonizacji i następowej inwazji błon śluzowych najczęściej przez bakterie, ale także wirusy (np. RSV i wirus grypy) i grzyby (np. *Candida* spp.). Poza wiekiem, dodatkowymi czynnikami ryzyka rozwoju sepsy są urazy, przewlekłe problemy zdrowotne, nabyte (immunosupresja, glikokortykoidy) i wrodzone niedobory odporności [1,2,3].

Najważniejszymi bakteriami odpowiedzialnymi za sepsę, rozwijającą się w wyniku zakażenia pozaszpitalnego, są: pneumokoki, *S. aureus*, *E. coli*, *S. pyogenes*, nie należy zapominać o również o meningokokach czy *H. influenzae*. Najszybszym zabójcą spośród nich jest meningokok (często wystarczają zaledwie godziny), natomiast najczęstszym, choć powolniejszym zabójcą w skali świata jest pneumokok. Wysoka śmiertelność towarzyszy także inwazyjnym zakażeniom wywołanym przez *S. pyogenes*. Częstość występowania sepsy wywołanej wymienionymi patogenami jest zróżnicowana i zależy w głównej mierze od stosowanej w danym kraju polityki szczepień (to znaczy stosowania lub nie masowych szczepień przeciw meningokokom głównie z grupy B i C, pneumokokom, *H. influenzae* typu b), a częstość raportowania od jakości i częstości wykonywania badań bakteriologicznych. Współcześnie, po pandemii wywołanej przez SARS-Cov-2, choć nie wiemy czy trwale, wzrosła częstość bakteryjnych zakażeń inwazyjnych (w tym zwłaszcza *S. pyogenes*) [4].

Na podstawie samych objawów klinicznych trudno jest ustalić etiologię zakażenia, choć np. sepsa meningokokowa ma z reguły gwałtowny przebieg i zdecydowanie częściej niż w innych zakażeniach, towarzyszą jej wybroczyny i zatory bakteryjne na skórze (czyli wykwyty nieustępujące pod wpływem ucisku – objaw szklanki) [5]. Sepsa pneumokokowa ma częściej podstępny przebieg i zdecydowanie rzadziej towarzyszą jej zmiany skórne. Paciorkowiec betaheamolizujący z grupy A stosunkowo często wywołuje wysypki płoniczopodobne i groźne martwicze zapalenie powięzi mogące prowadzić do rozwoju zespołu wstrząsu toksycznego (TSS).

Podstawowymi objawami sepsy, niezależnie od etiologii, są zaburzenia termoregulacji (hiper- lub hipotermia), przyspieszone tętno i oddech. Po przejściowym podwyższeniu rzutu serca dochodzi do stopniowej jego niewydolności i postępującego spadku ciśnienia krwi. Poza tym można stwierdzić upośledzenie napływu kapilarnego, zimne kończyny, spadek wydalania moczu, aż do anurii włącznie. Niedokrwienie narządów prowadzi do wzrostu stężenia kwasu mlekowego. Zmiany skórne mogą być zróżnicowane. Obserwuje się wybroczyny i zatory bakteryjne, rozlane zaczerwienienie, wylewy podskórne oraz zmiany martwicze. Towarzyszyć temu mogą objawy ogniskowego zakażenia w postaci ZOMR, zapalenia płuc, stawów, odmiedniczkowego zapalenia nerek lub zapalenia tkanek miękkich.

Kluczowe dla rozpoznania etiologicznego sepsy są: posiewy oraz diagnostyka molekularna, coraz powszechniej dostępna w wielu laboratoriach szpitalnych i diagnostycznych. Zaletą diagnostyki molekularnej jest wysoka czułość i krótki czas do uzyskania wyniku badania (nawet do kilkadziesiąt minut) oraz coraz szersze panele diagnostyczne obejmujące również czynniki wirusowe zakażeń. Rozpoczęcie diagnostyki niehodowlanej nie zwalnia z rozpoczęcia hodowli, która w przypadku wyhodowania czynnika etiologicznego pozwala na wykonanie antybiogramu i skorygowanie leczenia empirycznego.

W przypadku towarzyszącego BZOMR należy pamiętać o istotnej roli preparatu bezpośredniego PMR barwionego metodą Grama w rozpoznaniu czynnika etiologicznego zakażenia i podjęciu decyzji o terapii empirycznej. Niekiedy pomocne mogą być testy lateksowe, ale ich wyniki muszą być zweryfikowane inną metodą.

Wszystkie wyhodowane od pacjentów z sepsą szczepy bakteryjne *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *N. meningitidis*, *S. pyogenes*, należy wysyłać do Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Diagnostyki Bakteryjnych Zakażeń OUN (KOROUN).

Najczęstsze, choć nie patognomoniczne dla sepsy, odchylenia w badaniach laboratoryjnych to: niedokrwistość, trombocytopenia, zaburzenia krzepnięcia, spadek stężenia fibrynogenu, pojawienie się produktów degradacji fibryny

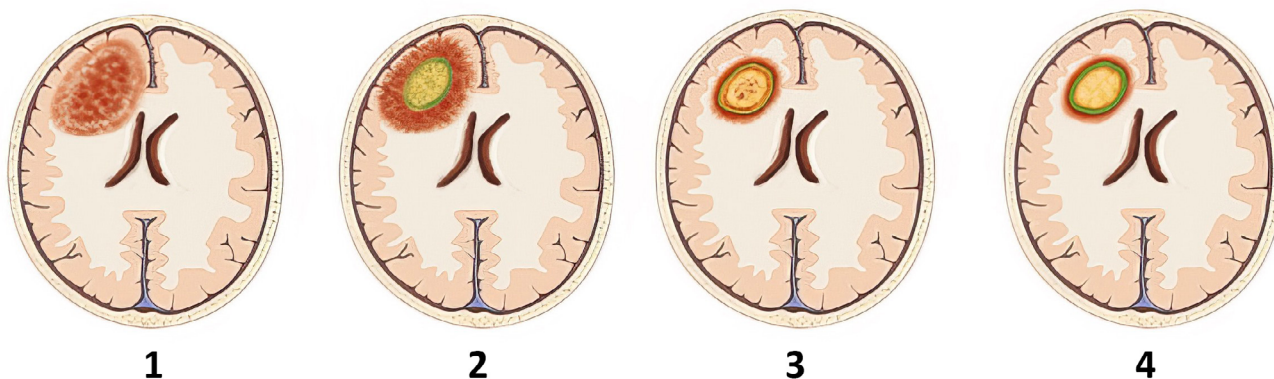
(FDP), podwyższone PCT, CRP i przyspieszone OB (w zakażeniu pneumokokowym często nawet trzycyfrowe). Granulocytoza z przesunięciem obrazu białokrwinkowego w kierunku młodych form (pałeczek, mielocytów i promielocytów), wakuolizacja granulocytów, obecność ziarnistości toksycznych to typowe i stosunkowo dobrze rokujące objawy sepsy. Leukopenia jest zwiastunem niepomyślnego przebiegu zakażenia. Innymi wskaźnikami ciężkiego zakażenia są hiper- lub hipoglikemia, hipokaliemia, hipoalbuminemia, kwasica metaboliczna (często mleczanowa), zaburzenia stężenia mocznika i kreatyniny [5].

Piśmiennictwo:

1. Van der Poll T, Wiersinga WJ. Sepsis and Septic Shock. [W:] Mandell, Douglas, and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases, pod red. Bennett J, Dolin R, Blaser MJ. Ninth Edition, Elsevier, 2020, 990-1008.
2. Turner DA, Cheifetz IM. Shock [W:] Nelson Textbook of Pediatrics 21-th edition, Elsevier 2020, 572-582.
3. Guarino M, Perna B, Cesaro AE i WSP. 2023 Update on Sepsis and Septic Shock in Adult Patients: Management in the Emergency Department. *J Clin Med.* 2023; 12: 3188. doi: 10.3390/jcm12093188.
4. Van Kempen EB, Bruijning-Verhagen PCJ, Borensztajn D i wsp. Increase in invasive group a streptococcal infections in children in the Netherlands, a survey among 7 hospitals in 2022. *Pediatr Infect Dis J* 2023;42:e122-4.
5. Brandtzaeg P, Dahle JS, Høiby EA. The occurrence and features of hemorrhagic skin lesions in 115 cases of systemic meningococcal disease. *NIPH Ann* 1983; 6: 183–190, 202–203.
6. Santhanam S. Pediatric sepsis, ostatnia aktualizacja 14 grudzień 2022. <https://emedicine.medscape.com/article/972559>, dostęp 12.12.2023.

8. ROPNIE MÓZGU

Ropień mózgu (RM) to ostro ograniczona, otorbiona zmiana zapalna w obrębie OUN. Częstość występowania ropni mózgu szacuje się na 0,3-1,3/100 000. Mogą wystąpić w każdym wieku, ale częściej odnotowywane są u mężczyzn w 3-4 dekadzie życia. Obszary predysponowane to obszar niedokrwienia, martwicy lub niedotlenienia, często granica istoty szarej i białej.



Ryc. 12. Cztery fazy powstawania RM: 1. wczesne cerebritis, 2. późne cerebritis, 3. wczesne tworzenie torebki, 4. późne tworzenie torebki

Bakterie mogą dostawać się do tkanki mózgowej bezpośrednio przez ciągłość lub drogą krwionośną z innych ognisk infekcji. Przyczyny mogą być różnorodne i tak w pierwszym przypadku może to być następstwem ZOMR, przewlekłego zapalenia ucha środkowego i zapalenia wyrostka sutkowatego, zapalenia zatok obocznych nosa, zakażenia tkanek miękkich w obrębie twarzy i czaszki, zapalenia tkanek miękkich oczodołu, zakażenia zębów, penetrujących urazów głowy, powikłań zabiegów neurochirurgicznych. W drugim przypadku może być powikłaniem zatorowości w przebiegu wad serca z przeciekiem prawo-lewym (przede wszystkim w tetralogii Fallota), przewlekłych zakażeń w dolnych drogach oddechowych, infekcji wewnątrzbrzusznych, w obrębie miednicy mniejszej, zapalenia wsierdza lub też zakażenia wywodzącego się z układu zastawkowego zakładanego w przypadku wodogłowia, a także u chorych z niedoborami odporności. Ropnie powstające w wyniku rozsiewu hematogenego są zazwyczaj mnogie [1].

Ropnie najczęściej dotyczą płatów czołowych, bocznych i skroniowych obu półkul mózgu (80%) i zdecydowanie rzadziej płata potylicznego, mózdzku i pnia mózgu (20%). Większość to ropnie pojedyncze, jednak w ok. 30% mogą być mnogie. Przyczyny nie udaje się ustalić w około 10-15% przypadków. RM związane z urazami penetrującymi powodowane są z reguły przez gronkowce złociste, podczas gdy spowodowane zatorami septycznymi, wrodzonymi wadami serca, ZOMR mogą być wywołane bardzo różnorodnymi mikroorganizmami (Tab. 9). Często z jednego ropnia hodzi się jednocześnie kilka gatunków bakterii [2]. Izolowanie z RM pałeczek *K. pneumoniae* może wskazywać na etiologię krwiopochodną z pierwotnego ropnia wątroby [1].

Objawy kliniczne tworzącego się RM mogą być początkowo niespecyficzne (niewielka gorączka, bóle głowy, senność). Często objawy te skłaniają do antybiotykoterapii doustnej prowadzącej do przejściowej poprawy. RM rozwija się jednak zwykle dalej, co prowadzi do pojawienia się bardziej specyficznych objawów jak nudności i wymioty, silne, niepoddające się terapii przeciwbólowej bóle głowy, drgawki, obrzęk tarczy nerwu wzrokowego, objawy ogniskowe (do porażenia połowicznego włącznie) i śpiączka. Ropień mózdzku prowadzi zwykle, poza bólami głowy i wymiotami, do oczopląsu, ataksji, dysmetrii. Przebiecie się RM do komory mózgu doprowadza zwykle do wstrząsu i zgonu.

Tabela 9. Czynniki ryzyka i najczęstsze czynniki etiologiczne w ropniach mózgu.

Czynnik ryzyka	Najczęstsza etiologia
Uraz penetrujący	<i>Staphylococcus aureus</i>
Zator septyczny, wrodzona wada serca, ZOMR	bakterie Gram-dodatnie m.in.: <i>Streptococcus pyogenes, Streptococcus agalactiae, Streptococcus milleri, Streptococcus pneumoniae, Enterococcus faecalis</i>
	bakterie Gram-ujemne m.in.: <i>Haemophilus influenzae, Haemophilus aphrophilus, Haemophilus parainfluenzae, Enterobacter spp., E. coli, Proteus spp.</i>
	bakterie beztlenowe (zazwyczaj gatunki typowe dla flory jelitowej i narządu rodnego): <i>Bacteroides spp., Fusobacterium spp., Prevotella spp., Actinomyces spp., Veillonella spp., Propionibacterium spp.</i>
Noworodki	najczęściej <i>Citrobacter spp.</i>
Ropień wątroby	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
Niedobór odporności	grzyby, <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Nocardia asteroides</i>
Zaburzenia funkcji limfocytów T	<i>Toxoplasma gondii</i> <i>Nocardia asteroides</i> <i>Cryptococcus neoformans</i> <i>Listeria monocytogenes</i> <i>Mycobacterium spp.</i>
Neutropenia	bakterie Gram-ujemne tlenowe <i>Aspergillus spp.</i> <i>Zygomycetes spp.</i> <i>Candida spp.</i>

Obraz kliniczny RM zależy od wielkości samego ropnia, jego lokalizacji, inwazyjności patogenów (charakter infekcji pierwotnej), stopnia ciasnoty śródczaszkowej oraz stanu ogólnego pacjenta.

Najczęstsze objawy podmiotowe i przedmiotowe w ropniach mózgu [2,3]:

- Triada objawów (u <50% chorych): ból głowy, gorączka, deficyt neurologiczny,
- Ból głowy (u 75% chorych, narastający, połowiczny, źle odpowiada na leczenie),
- Gorączka (u 50% chorych, jej brak nie wyklucza obecności RM),
- Padaczka (u 15-35% chorych),
- Ogniskowy deficyt (u > 60% chorych) z szerokim spektrum objawów: hemipareza, afazje, ubytek pola widzenia,
- *Meningismus* (rzadko).

Rozpoznawanie. Podobnie jak objawy kliniczne, wyniki badań laboratoryjnych nie są charakterystyczne. Leukocytoza może być prawidłowa lub podwyższona. Dodatni posiew krwi uzyskuje się w zaledwie 10% przypadków. W PMR znajduje się zróżnicowane zmiany – białko i krwinki białe mogą być w normie lub nieznacznie podwyższone, stężenie glukozy natomiast jest zwykle obniżone. Posiew PMR jest zazwyczaj jałowy i dopiero posiew z materiału pobranego, najlepiej za pomocą aspiracji kontrolowanej stereotaktyczną tomografią komputerową lub drogą drenażu chirurgicznego, ale z większymi powikłaniami, pozwala na ustalenie czynnika etiologicznego. Trzeba jednak zdawać sobie sprawę, że punkcja lędźwiowa (LP) u chorego z RM może być niebezpieczna (wklinowanie), a wyniki rzadko są diagnostyczne i dlatego w przypadku takiego podejrzenia z LP raczej należy zrezygnować. Najlepszą metodą diagnostyczną jest rezonans magnetyczny lub tomografia komputerowa z kontrastem. Scyntygrafia jest obecnie rzadko stosowana [1,4]. Badaniami z wyboru w diagnostyce RM są badania obrazowe: tomografia komputerowa (TK) i rezonans magnetyczny.

Piśmiennictwo:

1. Albrecht P, Hryniewicz W, Kuch A i wsp. Rekomendacje postępowania w zakażeniach bakteryjnych ośrodkowego układu nerwowego. Warszawa 2011.
2. Le Govic Y, Demey B, Cassereau J, Bahn Y-S, Papon N (2022) Pathogens infecting the central nervous system. PLoS Pathog 18: e1010234.
3. Nguyen I, Urbanczyk K, Mtui E, Li S. Intracranial CNS Infections: A Literature Review and Radiology Case Studies. Semin Ultrasound, CT MRI. 2020;41: 106–20.
4. Bodilsen J, Brouwer MC, van de Beek D, Tattevin P, Tong S, Naucler P, et al. Partial oral antibiotic treatment for bacterial brain abscess: an open-label randomized non-inferiority trial (ORAL). Trials. 2021; 22.

9. ROZPOZNANIE KLINICZNE ZAPALENIA MÓZGU

Zapalenie mózgu definiowane jest, jako zapalenie tkanek mózgu związane z dysfunkcją neurologiczną w oparciu o objawy kliniczne, laboratoryjne, elektroencefalograficzne i neuroobrazowe. Szacowana zapadalność na zapalenie mózgu wynosi ok. 1,6/100 000. Większość zapaleń mózgu ma etiologię wirusową. Liczne wirusy mogą wywoływać zapalenie mózgu, często łącznie z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych. Może to być zapalenie wywołane przez wirusy:

- wywołujące zakażenie pierwotne (drogą krwionośną lub neuronalną jak wirus wścieklizny),
- latentne, w wyniku reaktywacji wirusów, które pozostają po zakażeniu pierwotnym,
- przedostające się drogą krwionośną w czasie wiremii w trakcie zakażenia ogólnego z wtórną fazą neurologiczną (KZM),
- wtórne do zakażenia, tzw. poinfekcyjne, jako reakcja immunologiczna na zakażenie wirusowe (ADEM).

W Polsce za większość potwierdzonych przypadków zapaleń mózgu odpowiadają wirus KZM (80%) oraz wirus opryszczki pospolitej (ok. 3-4%). Znacznie rzadziej jest to reaktywacja wirusów CMV, HHV6, JC w przebiegu innych chorób. Bakterie mogące wywołać zapalenie mózgu to *Listeria monocytogenes*, *Treponema pallidum*, *Mycobacterium tuberculosis*. Etiologia pasożytnicza to toksoplazmoza towarzysząca HIV lub rzadko rozpoznawana bąblowica i cysticerkoza (Tab. 10). Zapalenie mózgu może też mieć etiologię autoimmunologiczną, jako powikłanie w przebiegu innych chorób (np. choroba nowotworowa) [1].

Tabela 10. Najczęstsze czynniki etiologiczne zapalenia mózgu w regionie europejskim.

Zapalenia mózgu o etiologii wirusowej	Zapalenia mózgu o etiologii bakteryjnej
KZM	<i>Listeria monocytogenes</i>
EBV, HSV-1 i -2, VZV	<i>Mycobacterium tuberculosis</i>
HHV6	<i>Treponema pallidum</i>
B19	<i>Borrelia burgdorferi</i>
CMV	
HIV	
Wirus wścieklizny	
Odra	
Różyczka	
Świnka	
Wektorowane przez komary i kleszcze	

Jako kryterium rozpoznania zapalenia mózgu uwzględnia się odpowiedź zapalną w płynie mózgowo-rdzeniowym (PMR) lub obecność nieprawidłowości w neuroobrazowaniu. Zapalenie mózgu może jednak przebiegać bez istotnej pleocytozy w PMR. Zmiany zapalne mogą obejmować także tkankę nerwową rdzenia kręgowego, wzdłuż rdzenia, lub na jednym poziomie. Objawy zależą od poziomu i długości zajętego rdzenia. Objawami mogą być zaburzenia połykania, oddychania, porażenia wiotkie, zaburzenia czucia, zaburzenia zwieraczy. Badaniem rozstrzygającym jest badanie obrazowe. Stan zapalny obejmujący pień mózgu i mózdzek (rhombencephalitis) może być efektem działania szeregu czynników etiologicznych m.in: infekcyjnych, autoimmunologicznych, zespołów pareneoplastycznych, chorób naczyniowych, nowotworowych [2].

Kryteria rozpoznania zapalenia mózgu [3,4]:

- zmiana stanu psychicznego (od wzmożonej senności do śpiączki, zmiana zachowania),
- udokumentowana gorączka $\geq 38^{\circ}\text{C}$ w ciągu ostatnich 72 godzin (3 doby),

- uogólnione lub częściowe napady padaczkowe,
- nowe ogniskowe zmiany neurologiczne,
- liczba krwinek białych w płynie mózgowo-rdzeniowym $\geq 5/\text{mm}^3$,
- zmiany w badaniu neuroobrazowym sugerujące zapalenie mózgu,
- nieprawidłowy zapis EEG, który odpowiada zapaleniu mózgu i nie można go przypisać innej przyczynie.

Diagnostyka różnicowa. Obejmuje ostre niedokrwienie mózgu, ropień, ropniak, naciekający nowotwór, udar niedokrwienno, udar krwotoczny, krwiniak wewnątrzczaszkowy, stan padaczkowy, poinfekcyjny proces autoimmunizacyjny, onkoneuronalny, zmiany toksyczne metaboliczne, choroba układowa lub zakaźna z encefalopatią.

Charakterystyka wybranych zapaleń mózgu najczęściej występujących w Polsce

Listeriozowe zapalenie mózgu (rhombencephalitis). Ryzyko infekcji inwazyjnej (w tym zapalenia pnia mózgu i mózdzku) *Listeria monocytogenes* wzrasta wraz z wiekiem i immuno-niekompetycją lub ciążą. Do zakażenia dochodzi drogą pokarmową poprzez spożycie skażonej bakteriami żywności (m.in. niepasteryzowane mleko, przetwory mleczne, wędzone ryby, pasztety, lody). Zapalenie pnia i mózdzku występuje znacznie rzadziej i wynika nie z krwiopochodnej a aksonalnej drogi zakażenia z przewodu pokarmowego poprzez zakończenia nerwów komunikujących mózg z przewodem pokarmowym. Drogą aksonalną bakteria dostaje się wprost do mózgu [2].

Przebieg infekcji często ma charakter dwufazowy. Początkowo występują niecharakterystyczne objawy prodromalne (gorączka, ból głowy, nudności, wymioty, rzadziej objawy oponowe), następnie pojawiają się objawy neurologiczne (porażenie nerwów czaszkowych, ataksja, drżenie, uporczywa czkawka, zaburzenia świadomości, napady drgawkowe, niedowład połowiczny). Niewydolność oddechowa może występować nawet u połowy pacjentów. O rozpoznaniu decyduje badanie obrazowe – MR, a przy zmianach zapalnych, potwierdzenie obecności patogenu w limfocytarnym PMR (PCR-em) lub krwi (hodowlą) [2].

Zapalenie mózgu wywołane przez *Mycoplasma pneumoniae*. Zapalenie mózgu o tej etiologii jest głównie opisywane u dzieci i jest poprzedzone infekcją *Mycoplasma pneumoniae*. W surowicy obserwuje się immunokonwersję z przeciwciał IgM do IgG, lub obecność przeciwciał w PMR. Wynik badania PCR z dróg oddechowych jest pozytywny dla *Mycoplasma pneumoniae*. W zapaleniu mózgu, wywołanym przez mykoplazmy zmiany w PMR występują u 40–60% pacjentów. Obserwuje się w nim zwykle od 10 do 200 komórek, z dominacją limfocytów w 90% przypadków oraz podwyższone stężenie białka u 35-50% przypadków. Stężenie glukozy jest prawidłowe. Ograniczenia diagnostyki wynikają z długiego utrzymywania się, po infekcji pierwotnej, przeciwciał w klasie IgM w surowicy, jak również dodatniego wyniku w teście PCR [4].

Odkleszczowe zapalenie mózgu Zapadalność w Polsce to 1,53/100 000, jednak jest ona zależna od regionu i może osiągać 11/100 000. Około dwóch trzecich zakażeń KZM przebiega bezobjawowo. Okres inkubacji zakażenia wynosi średnio 7–14 dni po ukąszeniu przez kleszcza (przedział 2–28 dni), a w przypadku zakażenia drogą pokarmową jest krótszy. Dla choroby wywołanej przez europejski podtyp KZM charakterystyczny jest przebieg dwufazowy: po początkowej fazie wirerii trwającej około 7 dni, gorączka powraca i towarzyszą jej objawy zapalenia ośrodkowego układu nerwowego (faza pierwsza). Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych obserwowane jest u około 40% dorosłych. Ryzyko zapalenia mózgu wzrasta wraz z wiekiem. Postać z zapaleniem rdzenia jest rzadka (4–15%), zwykle związana z zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych i objawia się porażeniem wiotkim, gdy zajęte są neurony ruchowe, korzenie lub nerwy obwodowe. Postacie z zapaleniem rdzenia lub wielokorzeniowe, najczęściej dotyczą kończyn górnych i szyi, tzw. „objaw wiotkiej szyi”, natomiast rzadziej przebiegają z niedowładami spastycznymi. Sporadycznie u pacjentów z KZM opisywano zaburzenia autonomiczne. Na terenach endemicznych współistniejące KZM i neuroborelioza mogą mieć cięższy przebieg kliniczny. Ryzyko ciężkiego przebiegu wzrasta wraz z wiekiem. W początkowej fazie KZM występuje często leukopenia i/lub trombocytopenia. W fazie zapalenia mózgu (druga faza choroby) liczba płytek krwi jest w normie, podczas gdy liczba leukocytów jest prawidłowa lub nieznacznie podwyższona.

W diagnostyce KZM metodą z wyboru jest wykrywanie w surowicy metodą ELISA przeciwciał przeciw KZM w klasach IgM i IgG. W obszarach z możliwym narażeniem na inne chorobotwórcze flawiwirusy (żółta febra, denga, wirus Zachodniego Nilu) w diagnostyce należy zastosować test neutralizacji wirusa u osób szczepionych i test ELISA wykrywający przeciwciała przeciw białku NS-1. PCR swoisty dla wirusa KZM we krwi jest diagnostyczny tylko w pierwszej fazie wirerii i nie może być

stosowany w drugiej fazie przy objawach neurologicznych zapalenia mózgu. Pleocytoza jednojądrzasta w badaniu PMR jest markerem diagnostycznym KZM, w obecności w surowicy swoistych przeciwciał IgM i IgG oraz odpowiadającego im obrazu klinicznego. Leczenie jest tylko objawowe i obejmuje: leki przeciwgorączkowe i przeciwbólowe, przeciwwymiotne, terapie napadów padaczkowych i obrzęku mózgu, wspomaganie oddychania i krążenia, kontrolę gospodarki elektrolitowej i płynowej oraz leczenia powikłań neurologicznych i ogólnoustrojowych w celu uniknięcia wtórnych uszkodzeń neuronów. U 26–46% pacjentów z KZM, spowodowanym europejskim podtypem KZM, odnotowywane jest niepełne wyleczenie. Często zgłaszane są po przechorowaniu następstwa neuropsychologiczne, takie jak zaburzenia pamięci i koncentracji oraz zmniejszona tolerancja na stres. Najczęstszymi typami następstw neurologicznych są zanik mięśni barku, niedowład nerwu czaszkowego, niedowład połowiczny lub niedowład połowiczny z zaburzeniami równowagi i koordynacji. Kleszczowe zapalenie mózgu należy odróżnić przede wszystkim od aseptycznego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych lub zapalenia mózgu wywołanego przez inne wirusy. Przeciwciała w klasie IgM mogą być wykrywalne przez kilka miesięcy po zakażeniu, podczas gdy przeciwciała IgG u ozdowieńców utrzymują się przez całe życie i zapobiegają kolejnemu epizodowi KZM [5,6].

Opryszczkowe zapalenie mózgu (*encephalitis herpetica*)

Zapadalność w Polsce to 0,05-0,09/100 000. Zakażenie wywołuje wirus opryszczki pospolitej (HSV – Herpes simplex virus 1 i 2). Do zakażenia HSV-1 najczęściej dochodzi poprzez śluzówkę jamy ustnej i gardła, a wirus pozostaje w formie latentnej w zwoju trójdzielnym. Do zakażenia HSV-2 najczęściej dochodzi poprzez śluzówkę narządów płciowych, a w formie latentnej wirus pozostaje w zwojach krzyżowych. Do reaktywacji zakażenia dochodzi w sprzyjających immunologicznie warunkach. Zapalenie mózgu zwykle jest powodowane przez wirusa latentnego ze zwoju nerwu V, na co wskazuje charakterystyczna lokalizacja zmian widoczna w badaniach obrazowych. Początek opryszczkowego zapalenia mózgu (HSE – Herpes simplex encephalitis) może przypominać infekcję grypową, a okres zwiastunów trwa 2-5 dni. W miejscu rozwijającej się reakcji zapalnej tworzy się martwica krwotoczna, prowadząca do nieodwracalnego zniszczenia tkanek mózgu, zastępowanych w procesie zdrowienia blizną glistową i przestrzeniami płynowymi. **Po okresie zwiastunów** charakteryzujących się złym samopoczuciem, uczuciem rozbicia, osłabieniem, brakiem apetytu, gorączką, dreszczami, nudnościami, wymiotami, bólami mięśni i stawów, możliwe są halucynacje węchowe, zaburzenia pamięci świeżej, pojawia się **okres objawów neurologicznych**. Stopniowo rozwijające się objawy zapalenia mózgu charakteryzują się zaburzeniami świadomości, pojawieniem się łagodnej lub głębokiej śpiączki, niedowładów połowicznych i zajęciem nerwów czaszkowych. Zaburzenia psychiczne, wynikające z zajęcia układu limbicznego, mogą być wyrażone, jako zmiany usposobienia, ospałość, zmienność nastroju, splątanie, halucynacje, postępujące otępienie. Różnorodność objawów sprawia wiele trudności diagnostycznych. Rozpoznanie może być ustalone na podstawie obrazu klinicznego z różnym stopniem pewności (podejrzanie). Wymaga potwierdzenia za pomocą badań wirusologicznych (PCR) i obrazowych [7, 8].

PML (progressive multifocal leucoencephalopathy). Rzadko ujawniające się oportunistyczne zakażenie wywołane przez wirus JC (wirus Johna Cunninghama). Wirus początkowo zakaża oligodendrocyty prowadząc do ich lizy i demielinizacji. Najczęściej ujawnia się w trakcie zakażenia HIV, chorobach hematologicznych nowotworowych i w trakcie leczenia immunosupresyjnego. Uszkodzenia widoczne w MR widoczne są w okolicy podkorowej i okołokomorowej obustronnie niesymetrycznie, wielogniskowe bez efektu masy [9].

Zapalenie mózgu może być spowodowane niekoniecznie przez bezpośrednią inwazję ośrodkowego układu nerwowego, a poprzez zakażenie układowe.

Dlatego ważne jest rozróżnienie między infekcyjnym zapaleniem mózgu, poinfekcyjnym lub zapaleniem mózgu po immunizacji.

Mimo, że nie ma swoistego leczenia w większości przypadków zapalenia mózgu, identyfikacja swoistego czynnika może być ważna dla rokowania i potencjalnej profilaktyki dotyczącej pacjentów, członków rodziny, jak również interwencji w obszarze zdrowia publicznego.

Diagnostyczne badanie pacjenta z zapaleniem mózgu powinno być zindywidualizowane i kierowane przez wskazówki epidemiologiczne i kliniczne, jak i dane laboratoryjne.

Tabela 11. Wybrane wirusy mogące wywoływać zakażenia ośrodkowego układu nerwowego [3,4,10,11].

Wirus	Występowanie	Pora roku	Częstość zakażeń OUN	Grupy ryzyka	Klinika	Diagnostyka
Adenoviridae Adenowirusy	Globalne	Cały rok	Sporadyczna	Dzieci; osoby po przeszczepie szpiku	Poprzedzające lub współistniejące zapalenie płuc; zapalenie mózgu częstsze niż ZOMR	Hodowla lub PCR w PMR; hodowla lub PCR w ślinie
Arenaviridae Wirus LCM* (LCMV)	Ameryka Północna, Ameryka Południowa, Europa, Australia, Japonia, zoonoza u myszy,	Zima	Sporadyczna	Osoby po transplantacji predysponowane do zapalenia mózgu; kontakt z myszami, chomikami	Aseptyczne ZOMR, pacjenci po transplantacji mogą rozwinąć ciężkie zapalenie mózgu; śmiertelność < 1%	PCR w PMR; narastające miano przeciwciał w surowicy; w PMR mierna hipoglikemia i zaznaczona pleocytoza oraz niernie podwyższone białko
Flaviviridae						
Wirus japońskiego zapalenia mózgu (JE)	Wsch. i pd.-wsch. Azja, Indie, Nepal, pñ. Australia	W zależności od regionu cały rok lub lato-jesień	Wysoka	Dzieci; podróżnicy	Wirus neurotropowy, często drgawki, cechy pozapiramidowe, może wywoływać <i>rombenencephalitis</i> lub zespół podobny do polio; śmiertelność 20-30%	IgM w PMR; IgM w surowicy; narastające miano przeciwciał w surowicy; PCR w PMR; w MR sekwencja T2 z hiperintensywnym sygnałem w okolicy wzgórza jąder podstawy i pnia mózgu
Wirus gorączki Zachodniego Nilu (WNV)	Ameryka Północna i Środkowa, Bliski Wschód, Afryka, Europa, Azja, Australia	Lato-wczesna Jesień, endemicznie i epidemicznie	Wysoka	Starsi i immunoniekompetentni są narażeni na ciężki przebieg	Wirus neuroinwazyjny; powoduje ZOMR i zapalenie mózgu z predyspozycją do jąder podstawy i rogów przednich, zespoły pozapiramidowe rdzenia, drżenia; powszechne mioklonie	Przeciwciała w surowicy i PMR; w MR sekwencja T2 z hiperintensywnym sygnałem w jądrach podstawy pnia mózgu, szczególnie w istocie czarnej wzgórza

Herpesviridae							
Wirus cytomegalii (CMV)	Globalne	Cały rok	Sporadyczna	Często reaktywacja w OUN u osób immunoniekompetyentnych (szczególnie z HIV)	Zapalenie komór mózgu; często powstające, w tym zapalenie siatkówki i zapalenie rdzenia i korzeni w okolicy krzyżowo-lędźwiowej	PCR w PMR, pleocytoza; w MR T2 hiperintensywny sygnał w istocie białej i wzmocnienie subependymalne	
Wirus Epsteina-Barr (EBV)	Globalne	Cały rok	Sporadyczna	Starsze dzieci i młodzi dorośli, rzadziej osoby immunoniekompetyentne po transplantacji	Zwykle poprzedzone mononukleozą; wirus wywołuje niespecyficzne zapalenie mózgu lub zapalenie mózdziku, może również spowodować poprzeczne zapalenie rdzenia	Badanie serologiczne potwierdza ostrą infekcję; PCR w PMR (może się wykazywać również w przebiegu innych chorób bez cech patologii); w MR T2 hiperintensywny sygnał o niespecyficznym rozkładzie w obu półkulach mózgu i mózdziku	
Wirus Herpes 6 (HHV 6)	Globalne	Cały rok	Wysoka	Powszechna reaktywacja u pacjentów po transplantacji szpiku	Zaburzenia świadomości, <i>limbic encephalitis</i> , drgawki rzadko gorączka, SIA/DH	PCR w PMR; pleocytoza limfocytarna; w MR T2 hiperintensywne sygnały w środkowej części płatów skroniowych (często hipokampy)	
<i>Varicella zoster</i> wirus (VZV)	Globalne	Cały rok	Sporadyczna	W każdym wieku, ale zwykle reaktywacja u dorosłych osób immunoniekompetyentnych (szczególnie z HIV)	Zapalenie mózdziku u dzieci (samoustępujące), ogniskowe <i>encephalitis</i> , waskulopatia i udar po zmianach skórnych, ale pęcherzyki półpaśca mogą nie być obecne u immunoniekompetyentnych, wirusy mogą spowodować także poprzeczne zapalenie rdzenia	PCR w PMR, narastająca serologia, MR może wykazać zawały, demielinizację, waskulopatie w angiografii	

Orthomyxoviridae Wirus grypy (IV)	Globalne	W sezonie zakażeń; na półkuli pn. - zima	Sporadyczna		Poprzedzone infekcją górnych dróg oddechowych niespecyficzne zapalenie mózgu może spowodować ostrą nekrotyzującą encefalopatię	Hodowla; obecność antygenu lub PCR w materiale z górnych dróg oddechowych
Paramyxoviridae						
Wirus odry (MeV)	Globalne	W ogniskach	Sporadyczna	Nieszczepione dzieci i immunoniekompentni dorośli	Ostre zapalenie mózgu z pełnym wyzdrowieniem u 75% dzieci; u immunoniekompentnych zapalenie mózgu pojawia się po ekspozycji; SSPE występuje lata po zakażeniu w dzieciństwie (zwykle przed ukończeniem 20 lat); wczesne zmiany zachowania, złe dopasowanie do szkoły, zmiany prowadzące do mioklonii, drgawek, demencji, śpiączki i zgonu	Poziom przeciwciał w surowicy ozdrowieńca; IgM w surowicy; badanie EEG może wykazać charakterystyczne zmiany (wysokonapięciowe zespoły fal wolnych)
Wirus nagminnego zapalenia przyusznic, świnki (MuV)	Globalne	Późna zima, wczesna wiosna	Sporadyczna	Rzadko u nieszczepionych	Poprzedzone zapaleniem przyusznic częste ZOMR, niespecyficzne zapalenie mózgu, rzadziej nieswoiste zapalenie mózdzku	Dynamika poziomu przeciwciał w surowicy i PMR; obniżenie poziomu glukozy; pleocytoza w PMR

Picornaviridae							
Non-polio enterowirusy (wirusy echo, coxackie, enterowirus 71)	Globalne	Lato, wczesna jesień	Wysoka	w każdym wieku, ale zwykle dzieci i młodzi dorośli	Aseptyczne ZOMR częste u niemowląt, rzadziej <i>encephalitis</i> , niespecyficzne zapalenie mózgu, <i>rhomboencephalitis</i> lub <i>poliomyelitis like syndrome</i>	PCR w PMR; MR może pokazać zaburzenia pniu mózgu	
Wirus ostrego nagminnego porażenia dziecięcego, polio (PV)	Wirus dziki - Afganistan, Pakistan; wirus szczepionkowy - głównie kraje Afryki	W krajach Afryki cały rok	Możliwe epidemie	Głównie dzieci	Niespecyficzne zapalenie mózgu, zapalenie rdzenia	PCR w PMR; hodowla wydzielin z gardła; hodowla kału; badanie serologiczne	PCR w PMR; hodowla wydzielin z gardła; hodowla kału; badanie serologiczne
Retroviridae Ludzki wirus niedoboru odporności (HIV)	Globalne	Cały rok	Sporadyczna	Zakażenia w każdym wieku; szczególnie narażeni podejmujący ryzykowne zachowania seksualne, przyjmujący dożylnie środki uzależniające, produkty krwiopochodne, zakłucia igłą	ZOMR, encefalopatia w okresie serokonwersji, częściowej przewlekła podkorowa demencja (parkinsonizm, dysfunkcja wykonawcza, apatia) rzadko gwałtowne zapalenie mózgu gdy pacjenci przerywają terapię antyretrowirusową lub w zespole rekonstrukcji	Serologia może być negatywna w ostrej fazie zakażenia; ilościowy PCR w PMR i surowicy; w przypadkach demencji w MR obustronne symetryczne zlewające się zmiany istoty białej w T2 (hiperintensywny sygnał bez wzmocnienia); PMR może wykazywać przewlekły podniesiony poziom białka przy braku objawów ze strony OUN	
Rhabdoviridae Wirus wścieklizny (RABV)	Globalne, częściej w krajach z niskim dochodem	Cały rok	Sporadyczna	Wszystkie grupy wiekowe - ugrzyżenie przez zakażone zwierzęta dzikie, w tym nietoperze i domowe	W klasycznej postaci zapalenie mózgu z hydrofobią, zmiany zachowania, delirium z gwałtowną progresją do śpiączki i zgonu, zapalenie rdzenia z występującym osłabieniem wiotkim; śmiertelność 100%	Antygen wirusowy wykryty w biopsji skóry karku; hodowla i PCR w biopsji mózgu, skórze i ślinie; serologia	
Togaviridae Wirus różyczki (RUBV)	Globalne, częściej w krajach z niskim dochodem	Późna zima, wczesna wiosna	Sporadyczna	Osoby nieszczone	Wysypka poprzedza nieswoiste zapalenie mózgu	IgM w surowicy lub PMR; dynamika poziomu przeciwciał	

*LCM – limfocytarne zapalenie spłotu naczyńńiwkowego i opon mózgowo-rdzeniowych

Piśmiennictwo:

1. Przyjałkowski W, Paul M. Zapalenie mózgu. w: Szczeklik A, Gajewski P (red.) Interna Szczeklika. Wydawnictwo Medycyna Praktyczna, Kraków, 2022, 2433-2572.
 2. Mano T, Saito M, Yoshizawa T. Axonal invasion of *Listeria monocytogenes*: Implications for early diagnosis with magnetic resonance imaging. *J Neurol Sci*, 2017;373:7–8.
 3. Kramer AH. Viral encephalitis in the ICU. *Crit Care Clin*. 2013;29: 621-649.
 4. Stahl JP, Azouvi P, Bruneel F i wsp. Guidelines on the management of infectious encephalitis in adults, *Médecine et Maladies Infectieuses*, 2017;47: 179-194.
 5. Taba P, Schmutzhard E, Forsberg P i wsp. EAN consensus review on prevention, diagnosis and management of tick-borne encephalitis. *Eur J Neurol*. 2017;0:1–21.
 6. Kuchar E, Zajkowska J, Flisiak R i wsp. Epidemiologia, diagnostyka i profilaktyka kleszczowego zapalenia mózgu w Polsce i wybranych krajach europejskich – stanowisko polskiej grupy ekspertów *Med Pr*. 2021; 72: 193-210.
 7. Tunkel AR, Glaser CA, Bloch KC, i wsp. The management of encephalitis: clinical practice guidelines by the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2008;47: 303-27.
 8. Cho TA, McKendall RR. Clinical approach to the syndromes of viral encephalitis myelitis and meningitis. W: *Handbook of Clinical Neurology*, Vol 123 Neurovirology, ed Tselis AC, Boos J, 2014.
 9. Nguyen I, Urbanczyk K, Mtui E i wsp. Intracranial CNS Infections: A Literature Review and Radiology Case Studies. *Semin Ultrasound, CT MRI*. 2020;41: 106–120.
 10. Klein da Costa B, Kazutoshi Sato D. Viral encephalitis: a practical review on diagnostic approach and treatment, *Jornal de Pediatria*, 2020;96: 12-19.
 11. Venkatesan A, Tunkel AR, Bloch KC i wsp. Case definitions, diagnostic algorithms, and priorities in encephalitis: Consensus statement of the international encephalitis consortium. *Clin Infect Dis*. 2013;57: 1114–28.
-

10. ROLA NEUROOBRAZOWANIA W INFEKCJACH UKŁADU NERWOWEGO

Diagnostyka obrazowa w diagnostyce infekcji odgrywa pierwszoplanową rolę, lub stanowi uzupełnienie, w zależności od lokalizacji stanu zapalnego (Tab. 12). Kluczową jest w zmianach pourazowych, zapaleniu mózgu i ropniach. W sytuacjach podejrzenia neuroinfekcji, diagnostyka obrazowa stanowi ważny element w trakcie różnicowania z innymi procesami chorobowymi jak udar, guz lub ognisko zakażenia w obrębie czaszki, twarzoczaszki takimi jak ropniak nad i podoponowy, zapalenie zatok (Tab.13). Badania obrazowe odgrywają największą rolę w rozpoznawaniu zapalenia mózgu i rdzenia kręgowego. Jednak prawidłowy obraz TK, MR nie wyklucza obecności zapalenia mózgu (np. o etiologii paranowotworowej lub autoimmunizacyjnej).

Wskazanie do pilnego TK (ocena przestrzeni płynowych, struktur kostnych):

- śpiączka,
- wyciek płynu,
- wodogłowie–podejrzenie lub w wywiadzie,
- niedawny uraz lub zabieg neurochirurgiczny,
- obrzęk tarcz nerwu wzrokowego,
- objawy ogniskowe.

Wykonanie badania MR (mniej widoczne części kostne, zwapnienia) jest wskazane gdy:

- obecne są objawy ogniskowe,
- posiewy PMR są dodatnie pomimo stosowanej antybiotykoterapii,
- utrzymuje się pleocytoza,
- występuje nawracające ZOMR.

Wykonanie opcji angio-MR jest wskazane w przypadku podejrzenia zapalenia naczyń, malformacji naczyniowych, zakrzepicy zatok żylnych czy źródła krwawienia w postaci tętniaków.

Tabela 12. Rola neuroobrazowania w infekcjach układu nerwowego.

Choroba	Rola neuroobrazowania
Zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (ZOMR)	Drugorzędowa w stosunku do punkcji lędźwiowej, posiewu, badań serologicznych, PCR. TK może być pomocne w podjęciu decyzji o wykonaniu punkcji lędźwiowej w przypadku podejrzenia wzmożonego ciśnienia śródczaszkowego (najczęściej w przebiegu bakteryjnego ZOMR), wykluczeniu obecności struktur patologicznych, będących przeciwwskazaniem do LP
Zapalenie mózgu	Kluczowa w procesie diagnostycznym MR z kontrastem jest badaniem z wyboru; zmiany nie zawsze widoczne w początkowych etapach choroby (opryszczkowe zapalenie mózgu); brak zmian nie wyklucza zapalenia (KZM) W razie braku dostępności MR zalecane wykonanie TK z kontrastem (badanie mniej czułe)

Ropień mózgu	Kluczowa w procesie diagnostycznym MR z kontrastem jest badaniem z wyboru; w razie braku dostępności MR zalecane wykonanie TK z kontrastem (badanie mniej czułe)
Zapalenie przestrzeni międzykręgowej (discitis)	Kluczowa w procesie diagnostycznym MR z kontrastem jest badaniem z wyboru; w razie braku dostępności MR zalecane wykonanie TK z kontrastem (badanie mniej czułe)
Zapalenie obwodowego układu nerwowego	W większości przypadków rola marginalna MR jako badanie dodatkowe w wybranych przypadkach pozwala na uwidocznienie zmian zapalnych korzeni rdzeniowych (postać mózgowo-rdzeniowa KZM z zajęciem korzeni nerwowych)
Choroby oportunistyczne OUN	Kluczowa rola w diagnostyce oraz monitorowaniu efektów leczenia

Tabela 13. Zmiany w badaniach obrazowych w różnych infekcjach układu nerwowego.

Choroba	Predysponowane okolice anatomiczne	Zmiany w badaniu TK	Zmiany w badaniu MR
Bakteryjne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych		Obraz badania często prawidłowy. Wzmocnienie kontrastowe powierzchni mózgu (opony miękkiej). Może być widoczne poszerzenie komór. Angiografia TK – może być widoczna zakrzepica zatok żylnych lub zwężenie/nieregularność światła dużych i średnich naczyń tętniczych, jeśli powikłane <i>vasculitis</i> .	Najczulsza metoda obrazowania. Wzmocnienie kontrastowe opony miękkiej. Podwyższony sygnał bruzd i zbiorników mózgu w sekwencji FLAIR. Może być widoczne poszerzenie komór. Wenografia MR – może być widoczna zakrzepica. Angiografia MR – może być widoczne zwężenie/nieregularność światła dużych i średnich naczyń, jeśli powikłane <i>vasculitis</i> .
Bakteryjne ogniskowe zapalenie mózgu (<i>cerebritis</i>) i bakteryjny ropień mózgu		Obraz radiologiczny zmienny w zależności od stadium rozwoju ropnia. Wczesne zapalenie mózgu (<i>cerebritis</i>) widoczne jako słabo odgraniczony obszar o obniżonej gęstości z efektem masy i z niejednorodnym wzmocnieniem kontrastowym. W późniejszych stadiach (tworzenie torebki) ropień widoczny jako lepiej odgraniczony obszar o obniżonej gęstości z brzeżnym wzmocnieniem kontrastowym, z obrzękiem na obwodzie.	Wczesne zapalenie mózgu (<i>cerebritis</i>) widoczne jako słabo odgraniczony obszar o podwyższonym sygnale w obrazach T2/FLAIR z cechami restrykcji dyfuzji w obrazach DWI/ADC (w odróżnieniu od przerzutów do OUN, które najczęściej nie wykazują restrykcji dyfuzji), efektem masy i niejednorodnym wzmocnieniem kontrastowym. W późniejszych stadiach (tworzenie torebki) ropień widoczny jako lepiej odgraniczony obszar o podwyższonym sygnale w części centralnej w obrazach T2/FLAIR (z torebką o obniżonym sygnale) z brzeżnym wzmocnieniem kontrastowym, otoczony strefą obrzęku. W spektroskopii MR w centrum zmiany obecność aminokwasów, octanów i bursztynianów (ich obecność silnie przemawia za ropniem – w przerzutach ww. związki typowo nieobecne).

Gruźlicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i gruźliczak	Opony podstawy mózgowia. Zmiany mięsiste (gruźliczaki) najczęściej w obszarze nadnamiotowym.	Wzmocnienie opon podstawy mózgowia.	Grube linijne wzmocnienie opon podstawy mózgowia. Gruźliczaki w przypadkach typowych widoczne jako ognisko o obniżonym sygnale w obrazach T2 (w odróżnieniu od ropni powodowanych przez bakterie ropotwórcze), wzmacniające się kontrastowo.
Opryszczkowe zapalenie mózgu	Układ limbiczny (najczęściej przyśrodkowe części płatów skroniowych i dolne części płatów czołowych oraz wyspy).	We wczesnej fazie obraz zwykle prawidłowy. Po około 3-4 dniach słabo odgraniczone obszary o obniżonej gęstości.	Najlepsza metoda obrazowania. Nieregularne, słabo odgraniczone obszary o podwyższonym sygnale w obrazach T2/FLAIR w strefie korowo-podkorowej struktur układu limbicznego, z zatarciem granicy między istotą szarą a białą, ze względnym zaoszczędzeniem istoty białej (najczęściej obustronnie i asymetrycznie) z restrykcją dyfuzji w obrazach DWI/ADC (restrykcja dyfuzji może być obecna przed pojawieniem się zmian w obrazach T2/FLAIR). We wczesnej fazie wzmocnienie kontrastowe często nieobecne, w późniejszej fazie po około 1 tygodniu od wystąpienia objawów klinicznych wzmocnienie zakrętów. Sekwencje typu T2/SWI/eSWAN mogą wykazać ogniska mikrokrwotoczne.
Neuroborelioza	Istota biała, nerwy czaszkowe.	Obraz zwykle prawidłowy.	Drobne ogniska hiperintensywne w obrazach T2/FLAIR w istocie białej mózgowia, rzadziej w rdzeniu kręgowym (rzadko większe „guzopodobne” zmiany), przypominające SM (mogą ulegać wzmocnieniu po podaniu środka kontrastującego). Wzmocnienie kontrastowe nerwów czaszkowych (najczęściej VII) lub korzeni nerwowych cauda equina w zależności od postaci choroby, rzadziej wzmocnienie opony miękkiej pokrywającej mózgowie. Bardzo rzadko świeże zmiany niedokrwiennie spowodowane <i>vasculitis</i> .
Zapalenia mózgu wywołane przez flawiwirusy (m.in. KZM)	Jądra podstawne, wzgórze.	Obraz zwykle prawidłowy (szczególnie w początkowym etapie choroby)	Hiperintensywne obszary w obrazach T2/FLAIR obustronnie w jądrach podstawy, wzgórzach, pniu mózgu, mózdzku, w korze mózgu i rogach przednich rdzenia kręgowego. Wzmocnienie kontrastowe rzadko obecne.

<p>Podostre stwardniające zapalenie mózgu</p>	<p>Płaty ciemieniowe, skroniowe, czołowe i potyliczne.</p>	<p>Obraz często prawidłowy. Możliwy obrzęk kory mózgowej i obniżenie gęstości w strefie podkorowej.</p>	<p>We wczesnym okresie obraz MR może być prawidłowy. Obustronne i asymetryczne obszary o podwyższonym sygnale w obrazach T2/FLAIR w korze oraz w strefie podkorowej półkul mózgu i obszarze okołokomorowym. W miarę postępu choroby zanik korowo-podkorowy. Wzmocnienie kontrastowe rzadko obecne. W spektroskopii MR zwiększony poziom cholicy (Cho), mioinozytolu (ml) i glutaminy/glutaminianów (Glx), oraz obniżony poziom N-acetyloasparagianu (NAA), które odzwierciedlają uszkodzenie i utratę neuronów oraz aktywację mikrogleju (zmiany w spektroskopii mogą być widoczne zanim pojawią się zmiany w standardowym badaniu MR).</p>
<p>Neurocysticerkoza (wągryca OUN)</p>	<p>Przestrzenie podpajęczynówkowe, komory boczne, kora mózgu, jądra podstawne</p>	<p>Obraz zależny od stadium. We wczesnym stadium cienkościenne ognisko (lub ogniska) o obniżonej gęstości (zbliżone do PMR) bez wzmocnienia kontrastowego. W późniejszej fazie (stadium pęcherzyka koloidowego) zmiana staje się hiperdensyjna względem PMR, pojawia się obwodowe wzmocnienie kontrastowe i obrzęk wokół zmiany. W końcowym etapie pojawia się zwapnienie, bez obrzęku i bez cech wzmocnienia kontrastowego.</p>	<p>W stadium pęcherzykowym zmiana ogniskowa (lub zmiany ogniskowe) o sygnale podobnym do PMR, bez obrzęku i bez cech wzmocnienia kontrastowego (lub z niewielkim wzmocnieniem na obwodzie), często z położonym ekscentrycznie drobnym guzkiem (skoleksem) o wysokim sygnale w obrazach FLAIR (obraz „tarczy strzelniczej”), bez otaczającego obrzęku mózgu. W następnej fazie (stadium koloidowe) wzrasta gęstość zmiany, która wykazuje podwyższony sygnał w obrazach T1, pojawia się lub nasila obwodowe wzmocnienie kontrastowe oraz otaczający obrzęk tkanki mózgu (umiarkowany lub znaczny). W późniejszym etapie pojawia się zwapnienie, bez otaczającego obrzęku i bez cech wzmocnienia kontrastowego.</p>
<p>Zapalenie mózgu wywołane HIV (HIV <i>encephalitis/encephalopathy</i>)</p>	<p>Istota biała płatów czołowych i ciemieniowych.</p>	<p>We wczesnej fazie choroby obraz zwykle prawidłowy. W późniejszych stadiach choroby łagodny lub umiarkowany zanik (nieproporcjonalny do wieku pacjenta) z ogniskowymi lub rozlanymi obszarami hipodensyjnymi w istocie białej.</p>	<p>Obustronne, relatywnie symetryczne hiperintensywne ogniska w obrazach T2/FLAIR, zlewające się wraz z postępowaniem choroby, bez cech restrykcji dyfuzji w obrazach DWI/ADC i bez obecności wzmocnienia po podaniu środka kontrastującego (obecność wzmocnienia sugeruje zakażenie oportunistyczne lub zespół rekonstrukcji immunologicznej, IRIS). W spektroskopii MR obraz niespecyficzny – zmniejszenie poziomu N-acetyloasparagianu (NAA) odzwierciedlające utratę neuronów oraz podwyższenie poziomu mioinozytolu (ml), będącego markerem aktywacji mikrogleju.</p>

Toksooplazmoza	Jądra podstawy, wzgórze, mózdzek, pogranicze istoty białej i szarej.	Pojedyncze lub mnogie hipodensyjne ogniska z umiarkowanym lub znacznym obrzękiem (z lub bez towarzyszącego wzmocnienia kontrastowego).	Pojedyncze lub mnogie ogniska o zróżnicowanym sygnale w obrazach T2 (hiper-, izo- lub hipodensyjne) otoczone obrzękiem, z obrączkowatym lub guzkowym wzmocnieniem kontrastowym. W badaniu 18F-FDG PET ogniska na tle toksoplazmozy nie wykazują lub wykazują minimalny wychwyty znacznika (w porównaniu np. do pierwotnego chłoniaka OUN).
Kryptokokoza	Zbiorniki podpajęczynówkowe, przestrzenie okołonaczyniowe Virchowa-Robina, istota biała podkorowa, jądra podstawy, śródmózgowie.	Ogniska hipodensyjne. Obecność wzmocnienia kontrastowego zależy od statusu immunologicznego chorego (u pacjentów z głęboko obniżoną odpornością wzmocnienie najczęściej nieobecne).	Ogniska hiperintensywne w obrazach T2 względem mięszu mózgu (sygnał podobny do PMR), często pod postacią poszerzonych przestrzeni okołonaczyniowych Virchowa-Robina. Obecność wzmocnienia zależy od odporności komórkowej chorego, często nieobecne, (jeśli obecne to często pod postacią delikatnego wzmocnienia opony miękkiej).
PML	Najczęściej nadnamiotowa istota biała (płatów czołowych, ciemieniowych i potylicznych), konary środkowe mózdku.	Obszary hipodensyjne w istocie białej podkorowej i głębokiej.	Wielogniskowe, obustronne i niesymetryczne obszary hiperintensywne w obrazach T2/FLAIR, zajmujące podkorową istotę białą, szerzące się na głęboką istotę białą; istota szara zaoszczędzona do zaawansowanego etapu choroby; rzadziej stwierdza się ogniska w podkorowych włóknach U. Wzmocnienie kontrastowe najczęściej nieobecne, (jeśli obecne – pod postacią dyskretnego wzmocnienia na obwodzie zmian). Świeże zmiany wykazują restrykcję dyfuzji w obrazach DWI/ADC. W spektroskopii MR obraz niecharakterystyczny – obniżenie poziomu N-acetyloasparaginy (NAA) odzwierciedlające utratę neuronów.
Zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego wywołane przez wirusa wścieklizny	Pień mózgu, jądra podstawne, wzgórze, struktury układu limbicznego, rdzeń kręgowy.	Obraz zwykle prawidłowy.	Słabo odgraniczone obszary o podwyższonym sygnale w obrazach T2/FLAIR w zajętych obszarach mózgowia i rdzenia kręgowego, z predylekcją do struktur istoty szarej.
Choroby prionowe	Jądra podstawne, wzgórze, kora mózgowa, hipokampy, mózdzek (rzadko istota biała)	Zwykle bez zmian. W zaawansowanych stadiach zaniki korowe i poszerzenie układu komorowego.	Najbardziej czuła metoda obrazowania. Hiperintensywny sygnał w obrazach T2/FLAIR oraz restrykcja dyfuzji w obrazach DWI/ADC (obrazowanie dyfuzyjne wykazuje zmiany zanim pojawią się w innych sekwencjach) w jądrach podstawnych, w tylnych częściach wzgórz (objaw poduszki) i/lub korze mózgu. Nie stwierdza się wzmocnienia kontrastowego.

Zapalenie krążka międzykręgowego i trzonów kręgów (<i>discitis, spondylodiscitis</i>)	U dzieci infekcja najczęściej rozpoczyna się w krążku międzykręgowym ze względu na bezpośredni dopływ krwi; u dorosłych infekcja rozpoczyna się w trzonie kręgu, następnie przechodzi do przestrzeni międzykręgowej.	Badanie mniej czułe w porównaniu do badania MR (zalecane w braku dostępności badania MR)	Badanie z wyboru. Wysoki sygnał krążka międzykręgowego w obrazach T2/STIR i przylegających trzonów kręgów z towarzyszącym wzmocnieniem kontrastowym; destrukcja warstwy korowej blaszek granicznych trzonów. Badanie pozwala ocenić obecność szerzenia się procesu zapalnego do kanału kręgowego (ropniak nadtwardówkowy) i na okoliczne tkanki przykręgosłupowe.
---	--	--	---

Piśmiennictwo:

1. Osborn AG, Hedlund GL, Salzman KL. Osborn's Brain, 2nd Edition. Elsevier 2017.
2. Swinburne NC, Bansal AG, Aggarwal A i wsp. Neuroimaging in Central Nervous System Infections. Curr Neurol Neurosci Rep. 2017;17: 49.
3. Shih RY, Koeller KK. Bacterial, Fungal, and Parasitic Infections of the Central Nervous System: Radiologic-Pathologic Correlation and Historical Perspectives. Radiographics. 2015, 35: 1141-1169.
4. Abdalkader M, Xie J, Cervantes-Arslanian A i wsp. Imaging of Intracranial Infections. Semin Neurol. 2019; 39: 322-333.

11. BADANIE EEG (ELEKTROENCEFALOGRAFIA)

Elektroencefalografia (EEG) jest badaniem elektrofizjologicznym, za pomocą którego rejestruje się zapis czynności bioelektrycznej mózgu, pochodzącej z aktywności neuronów kory mózgowej [1]. Ocena zapisu EEG ma wartość diagnostyczną w chorobach zapalnych ośrodkowego układu nerwowego (OUN) o różnej etiologii, w tym w zapaleniach mózgu lub zapaleniach opon mózgowo-rdzeniowych z towarzyszącym zajęciem kory mózgowej. Badanie EEG pomaga w postawieniu rozpoznania, jest wykorzystywane w diagnostyce różnicowej, jak również służy do monitorowania przebiegu choroby i dostarcza istotnej informacji na temat skuteczności terapii oraz rokowania, co do wyzdrowienia [2]. W przypadku występowania w przebiegu zapalenia mózgu lub zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych napadów padaczkowych lub stanów padaczkowych drgawkowych, bądź niedrgawkowych pod postacią zaburzeń świadomości, badanie EEG pozwala na wykrycie zmian napadowych, dzięki czemu jest możliwe wczesne wdrożenie odpowiedniego postępowania terapeutycznego [3,4]. Przy pomocy badania EEG oraz ciągłego monitorowania zapisu EEG (*continuous EEG–cEEG*) zmiany napadowe, w tym niedrgawkowy stan padaczkowy wykrywa się u 18%–40% chorych z zapaleniem mózgu i zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych [5]. Napady padaczkowe, jak również stan padaczkowy częściej występują w przebiegu zakażeń OUN o etiologii wirusowej niż bakteryjnej [3]. W przypadku opryszczkowego zapalenia mózgu (*Herpes simplex encephalitis – HSE*) napady padaczkowe występują u około 50% pacjentów, natomiast u pacjentów z bakteryjnym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych napady padaczkowe są obserwowane u 5% chorych przed przyjęciem do szpitala oraz u 15% pacjentów w trakcie hospitalizacji. Wystąpienie napadów padaczkowych w przebiegu zakażenia OUN wiąże się z gorszym rokowaniem co do wyleczenia i wyzdrowienia [3].

W zapaleniach mózgu oraz zapaleniach opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii wirusowej i bakteryjnej w zapisie EEG rejestruje się uogólnione lub ogniskowe zwolnienie czynności podstawowej pod postacią fal wolnych theta lub delta, jak również okresowe wyładowania padaczkokształtne (*periodic epileptiform discharges–PED*), w tym uogólnione okresowe wyładowania padaczkokształtne (*generalized periodic epileptiform discharges–GPED*), okresowe zlateralizowane wyładowania padaczkokształtne (*periodic lateralized epileptiform discharges–PLED*) oraz obustronne niezależne okresowe zlateralizowane wyładowania padaczkokształtne (*bilateral independent periodic lateralized epileptiform discharges–BIPLED*) [3]. W przypadku występowania stanu padaczkowego, w tym niedrgawkowego stanu padaczkowego pod postacią zaburzeń świadomości, w zapisie EEG rejestruje się ciągłą czynność napadową [6]. U pacjentów z zapaleniem mózgu, u których w wyjściowym zapisie EEG rejestrowano zmiany o typie PED, występowanie napadów padaczkowych obserwowano w 65% przypadków [3,7,8].

Spośród zapaleń wirusowych mózgu najbardziej specyficznym wzorcem zapisu badania EEG jest zapis czynności bioelektrycznej mózgu w przebiegu opryszczkowego zapalenia mózgu (*Herpes simplex encephalitis – HSE*). W przypadku HSE w zapisie EEG można zarejestrować ogniskowe, bądź uogólnione zwolnienie czynności podstawowej mózgu pod postacią fal wolnych theta lub delta, jak również jednostronne lub rzadziej obustronne okresowe wyładowania padaczkokształtne (*periodic epileptiform discharges–PED*) pod postacią wysokonapięciowych fal ostrych oraz zespołów fali ostrej z falą wolną. Powyższe zmiany występują najczęściej w sposób zlateralizowany i dotyczą półkuli mózgu zajętej chorobowo oraz lokalizują się przeważnie w płacie skroniowym [9-11]. W przebiegu HSE w zapisie badania EEG mogą także występować trójfazowe fale ostre, jednakże nie są one specyficzne dla tej jednostki chorobowej, gdyż mogą być obecne w encefalopatiach septycznych oraz metabolicznych, takich jak encefalopatia wątrobowa, mocznicowa oraz w chorobie Creutzfeldta-Jakoba, jak również w zapaleniach mózgu o innej etiologii [3,11,12].

Infekcyjne zapalenia mózgu wymagają różnicowania z autoimmunologicznymi zapaleniami mózgu (*autoimmune encephalitis–AE*). W przypadku AE o różnej etiologii w zapisie EEG rejestruje się czołową przerywaną rytmiczną czynność delta (*frontal intermittent rhythmic delta activity–FIRDA*), uogólnioną rytmiczną czynność delta (*generalized rhythmic delta activity–GRDA*), okresowe wyładowania padaczkokształtne (*periodic epileptiform discharges–PED*), okresowe zlateralizowane wyładowania padaczkokształtne (*periodic lateralized epileptiform discharges–PLED*), nadmierną czynność beta (*excess beta activity–EBA*) oraz trójfazowe fale ostre [8,11,13,14].

Wśród AE najbardziej charakterystycznym wzorcem zapisu badania EEG jest zapis czynności bioelektrycznej mózgu w przebiegu autoimmunologicznego zapalenia mózgu z obecnością przeciwciał przeciwko receptorom NMDA, gdzie w zapisie EEG stwierdza się ogniskowe lub uogólnione zwolnienie czynności podstawowej, okresowe wyładowania padaczkokształtne (*periodic epileptiform discharges–PED*) oraz tzw. szczotki delta (delta brush), czyli rytmiczną, zazwyczaj symetryczną i synchroniczną we wszystkich odprowadzeniach czynność delta, z nakładającą się rytmiczną czynnością

beta, z dominacją amplitudy w okolicach czołowych. Występowanie szczotek delta w zapaleniu mózgu wywołanym przeciwciałami anti-NMDA wiąże się z gorszym rokowaniem, co do przebiegu choroby i wyzdrowienia [15].

Charakterystyczny wzorzec zapisu czynności bioelektrycznej mózgu występuje także w przebiegu podostrego stwardniającego zapalenia mózgu (*subacute sclerosing panencephalitis – SSPE*), które jest schorzeniem OUN o etiologii zapalno-zwyrodnieniowej, będącym powikłaniem zakażenia wirusem odry. W związku z powszechnymi szczepieniami przeciwko odrze obecnie w Europie praktycznie nie obserwuje się SSPE. W przebiegu tego schorzenia w zapisie EEG rejestruje się występujące okresowo i powtarzające się, co 4-7 sekund kompleksy wysokonapięciowych fal delta, jak również okresowe asymetryczne wyładowania padaczkokształtne pod postacią zespołów iglica-fala wolna [16].

Pomimo tego, iż nie ma patognomicznego wzorca zapisu EEG dla poszczególnych rodzajów zapaleń mózgu, ocena czynności bioelektrycznej kory mózgowej, ma znaczenie w diagnostyce różnicowej i jest przydatna w monitorowaniu przebiegu choroby, jak również w ocenie odpowiedzi na terapię. Rejestrowane w zapisie EEG nieprawidłowości w postaci uogólnionego lub ogniskowego zwolnienia czynności podstawowej oraz wyładowań padaczkowych, mogą mieć niekorzystny wpływ na rokowanie [3].

Piśmiennictwo:

1. Rubinos C, Alkhachroum A, Der-Nigoghossian C i wsp. Electroencephalogram Monitoring in Critical Care. *Semin Neurol* 2020;40: 675-680.
2. Sutter R, Kaplan PW, Cervenka MC i wsp. Electroencephalography for diagnosis and prognosis of acute encephalitis. *Clin Neurophysiol* 2015;126: 1524-1531.
3. Carrera E, Claassen J, Oddo M i wsp. Continuous electroencephalographic monitoring in critically ill patients with central nervous system infections. *Arch Neurol* 2008; 65:1612-1618.
4. van de Beek D, de Gans J, Spanjaard L i wsp. Clinical features and prognostic factors in adults with bacterial meningitis. *N Engl J Med* 2004;351: 1849-1859.
5. Claassen J, Mayer SA, Kowalski RG i wsp. Detection of electrographic seizures with continuous EEG monitoring in critically ill patients. *Neurology* 2004; 62:1743-1748.
6. Simabukuro MM, Silva GDD, Castro LHM i wsp. A critical review and update on autoimmune encephalitis: understanding the alphabet soup. *Arq Neuropsiquiatr* 2022;80: 143-158.
7. Gandelman-Martón R, Kimiagar I, Itzhaki A i wsp. Electroencephalography findings in adult patients with West Nile virus-associated meningitis and meningoencephalitis. *Clin Infect Dis* 2003;37:1573-1578.
8. Qiu X, Zhang H, Li D i wsp. Analysis of Clinical Characteristics and Poor Prognostic Predictors in Patients With an Initial Diagnosis of Autoimmune Encephalitis. *Front Immunol* 2019;10:1286.
9. Halperin JJ. Diagnosis and management of acute encephalitis. *Handb Clin Neurol* 2017; 140:337-347.
10. Pollak TA, Lennox BR, Müller S i wsp. Autoimmune psychosis: an international consensus on an approach to the diagnosis and management of psychosis of suspected autoimmune origin. *Lancet Psychiatry* 2020; 7:93-108.
11. Rubiños C, Godoy DA. Electroencephalographic monitoring in the critically ill patient: What useful information can it contribute? *Med Intensiva* 2020; 44:301-309.
12. Shin JW, Yim B, Oh SH i wsp. Redefining periodic patterns on electroencephalograms of patients with sporadic Creutzfeldt-Jakob disease. *Clin Neurophysiol* 2017;128: 756-762.
13. Foff EP, Taplinger D, Suski J i wsp.. EEG Findings May Serve as a Potential Biomarker for Anti-NMDA Receptor Encephalitis. *Clin EEG Neurosci* 2017;48:48-53.
14. Kalita J, Misra UK. EEG changes in tuberculous meningitis: a clinicrodiological correlation. *Electroencephalogr Clin Neurophysiol* 1998;107:39-43.
15. Schmitt SE, Pargeon K, Frechette ES i wsp. Extreme delta brush: a unique EEG pattern in adults with anti-NMDA receptor encephalitis. *Neurology* 2012; 79:1094-1100.
16. Ali S, Kumar H, Ullah S i wsp. Electroencephalography Patterns of Subacute Sclerosing Panencephalitis. *Cureus* 2021; 13: e15728.

12. DIAGNOSTYKA LABORATORYJNA NEUROINFEKcji

Zakażenia ośrodkowego układu nerwowego stanowią bezpośrednie zagrożenie życia pacjenta. Ze względu na ciężkość zakażenia i jego możliwe konsekwencje w każdym przypadku zakażeń OUN należy dążyć do ustalenia czynnika etiologicznego zakażenia i jego wrażliwości na antybiotyki i chemioterapeutyki. Jest to możliwe jedynie w przypadku prawidłowego pobrania, w odpowiednim czasie, właściwego materiału klinicznego do badań.

Gdy podejrzewa się zakażenie OUN należy wdrożyć pełne laboratoryjne postępowanie diagnostyczne z materiałem pobranym od chorego, które obejmuje badanie mikrobiologiczne, analityczne (ogólne i biochemiczne) oraz badania serologiczne (stężenie/miano p/ciał). Przy obecnym tempie rozwoju i dostępności metod molekularnych (niehodowlanych) istotne jest **jednoczesne** zachowanie odpowiedniej objętości materiału klinicznego do badań genetycznych (diagnostyka czynnika etiologicznego i weryfikacja etiologiczna posiewów ujemnych). Coraz powszechniej stosowane multipleksowe panele mPCR o szerokim spektrum, pozwalają na jednoznaczne oznaczenie czynnika etiologicznego, a co za tym idzie na szybkie włączenie terapii celowanej (patrz rozdz. 24.2). Nowe możliwości w postaci szybkiej i precyzyjnej identyfikacji drobnoustrojów po ich wyhodowaniu daje spektrometr masowy typu MALDI-TOF (patrz rozdz. 15.3). Umożliwia on szybką identyfikację zarówno bakterii, jak i grzybów drożdżopodobnych oraz pleśniowych.

Diagnostyka biochemiczna dotyczy przede wszystkim badań płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR) i krwi pacjenta. Badania te, obejmujące między innymi oznaczenie w PMR stężenia glukozy, białka i liczby komórek (cytoza), często pozwalają na wstępne określenie charakteru zakażenia. Badania analityczne krwi, określające morfologię (leukocytozę), stężenie CRP i prokalcytoniny (PCT) również mogą ukierunkowywać rozpoznanie. Natychmiast po pobraniu materiału biologicznego do badań laboratoryjnych należy włączyć antybiotykoterapię empiryczną.

Najbardziej kluczowym elementem diagnostyki zakażeń OUN, tzw. „złotym standardem diagnostycznym”, szczególnie w przypadku etiologii bakteryjnej i grzybiczej, pozostaje jednak **wyhodowanie czynnika etiologicznego (diagnostyka bakteriologiczna)**. **Jeśli wynik hodowli prowadzonej w lokalnym laboratorium szpitalnym jest ujemny po 24 godzinach od pobrania materiału od chorego, a nie prowadzono równoległe diagnostyki molekularnej, próbki przeznaczone do badań molekularnych należy przekazać do laboratorium wykonującego takie badania.**

W przypadku zakażeń bakteryjnych próbkę taką można przesać do Ośrodka Referencyjnego KOROUN. Jeśli po wysłaniu materiałów na badania molekularne w laboratorium uda się wyhodować czynnik etiologiczny zakażenia, należy o tym bezzwłocznie poinformować **KOROUN** i przesać wyizolowany od pacjenta szczep bakteryjny. Każdy szczep wyhodowany z inwazyjnego zakażenia nabytego poza szpitalem należy przysyłać do KOROUN wraz z dokładnie wypełnionym formularzem w celu potwierdzenia identyfikacji i przeprowadzenia rozszerzonych badań dla celów epidemiologicznych (formularz zlecenia badania oraz instrukcja postępowania z próbką dostępne są na stronie: www.koroun.nil.gov.pl).

W niektórych przypadkach trudno jest uzyskać dodatni i wiarygodny wynik we wszystkich ze wspomnianych badań, jednak w każdym przypadku, o ile to tylko możliwe, należy prowadzić diagnostykę wszystkimi dostępnymi metodami.

13. MATERIAŁ DO BADAŃ LABORATORYJNYCH W KIERUNKU ZAKAŻEŃ OUN, ZASADY POBIERANIA

13.1. Rodzaj materiału klinicznego

Podstawowym materiałem do badań w przypadku podejrzenia zakażenia OUN jest PMR. W większości przypadków drobnoustroje dostają się do opon mózgowo-rdzeniowych drogą krwiopochodną, rzadziej przez ciągłość lub bezpośrednio do OUN. Dlatego równie ważnym jak PMR materiałem diagnostycznym jest krew. **W każdym przypadku podejrzenia zakażenia OUN, szczególnie o etiologii bakteryjnej, należy bezwzględnie wykonać posiew krwi, który w początkowym stadium zakażenia jest dodatni nawet w ponad 50% przypadków.** Szczególne trudności diagnostyczne napotykamy w przypadku zakażenia wywołanego przez *N. meningitidis*, ponieważ szansa wyizolowania meningokoka już po pierwszej dawce antybiotyku spada do kilku procent. Dlatego u chorego z IChM bakterie tego gatunku próbuje się, w przypadku ujemnych posiewów PMR i krwi, izolować z wybroczyn na skórze lub z jamy nosowo-gardłowej. Zastosowanie podłoża hodowlanych zawierających żywice (resins) inaktywujące antybiotyk, zwiększa odzysk bakterii z materiału klinicznego po rozpoczęciu antybiotykoterapii, również w przypadku etiologii meningokokowej. W tym ostatnim przypadku należy jednak szczególnie pamiętać o ścisłym przestrzeganiu instrukcji producenta dotyczącej posiewu pobranego materiału klinicznego.

Pomocne w diagnostyce ZOMR, szczególnie w sytuacji ujemnych posiewów z PMR lub krwi, mogą być również materiały pobrane z pierwotnych ognisk zakażenia (materiał ze stawu, opłucnej, płuc, ucha środkowego, zatok), a w przypadku zgonu pacjenta materiały pobrane śródsekcyjnie (Tab. 14). Metodykę pobierania i opracowywania wymienionych materiałów opisano poniżej [1,2].

Należy pamiętać, że probówka zawierająca pobrany materiał kliniczny, zgodnie z zaleceniami, powinna być starannie podpisana, z uwzględnieniem następujących danych: imię, nazwisko i wiek pacjenta, oddział, rodzaj materiału, data i godzina jego pobrania. Oprócz tego materiał kliniczny powinien być dostarczony do laboratorium wraz ze skierowaniem zawierającym następujące dane: imię, nazwisko i datę urodzenia pacjenta, numer historii choroby, pieczętkę oddziału, wstępne rozpoznanie choroby i ewentualne choroby towarzyszące, powód pobrania materiału do badania, dane na temat antybiotykoterapii, rodzaj materiału do badania, datę i godzinę pobrania i przesłania materiału do laboratorium, wskazówki lub szczególne wymagania w zakresie diagnostyki mikrobiologicznej, podpis i pieczęć lekarza prowadzącego i szczegółową informację, komu należy przekazać wynik (numer telefonu). Laboratorium odnotowuje godzinę otrzymania materiału.

Tabela 14. Materiały diagnostyczne w zakażeniach OUN.

Materiał kliniczny	Metody badawcze
PMR	Preparat barwiony, posiew, PCR (panele syndromiczne), badanie cytologiczno-biochemiczne, testy lateksowe, badania serologiczne
Krew	Posiew, PCR (panele syndromiczne), badanie biochemiczne, testy lateksowe w surowicy krwi, badania serologiczne
Materiał z wybroczyn na skórze	Preparat barwiony, posiew, PCR (panele syndromiczne), badanie cytologiczno-biochemiczne, testy lateksowe

Wymaz z nosogardła wyłącznie od chorego z IChM (materiał pomocniczy w dochodzeniu epidemiologicznym, przy braku wyhodowania z innych materiałów klinicznych)	Posiew
Materiał pobrany <i>post mortem</i>	Preparat barwiony, posiew, PCR (panele syndromiczne)
Inne materiały z pierwotnych ognisk zakażenia (materiał ze stawu, opłucnej, płuc, ucha środkowego, zatok)	Preparat, posiew, PCR (panele syndromiczne)
Wymaz z pochwy matki (pomocniczo w diagnostyce ZOMR u noworodka)	Posiew

Piśmiennictwo:

1. Murray PR. The clinician and the Microbiology laboratory. W: Mandell Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Eighth ed. Philadelphia PA: Elsevier; 2015: 191-277.
2. Specimen collection, transport and acceptability W: Leber AL, Burnham CAD. Clinical Microbiology, Procedures Handbook 2023, Fifth Edition Volume 1; 2.0.1.

13.2. Zasady pobierania płynu mózgowo-rdzeniowego i nakłucie lędźwiowe

W niniejszym podrozdziale wszystkie zalecenia odnoszą się do wykonywania nakłucia lędźwiowego (LP) w rozpoznawaniu zakażeń układu nerwowego.

LP jest stosunkowo prostą i bezpieczną procedurą do wykonania, to u części dorosłych i większości dzieci oraz ich rodzin budzi obawy o następstwa tego zabiegu diagnostycznego. Wyjaśnienie wskazań do zabiegu, korzyści terapeutycznych wynikających z możliwości analizy PMR także sposobu wykonania samego zabiegu zwykle uspokoja i powinno być rutynowym postępowaniem. Ponadto w przypadku starszych dzieci i młodzieży pomocne może być „przećwiczenie” pozycji, jaką przyjmą podczas zabiegu. Zaleca się także uzyskanie dodatkowej pisemnej zgody, biorąc pod uwagę inwazyjny charakter zabiegu i powikłania, które mogą wystąpić.

W nagłych przypadkach LP, wykonuje się przede wszystkim w celu wykrycia stanu zapalnego /zakażenia w OUN lub krwotoku podpajęczynówkowego. Pilne nakłucie lędźwiowe z badaniem PMR jest ważnym narzędziem diagnostycznym w rozpoznawaniu i w wyborze optymalnego leczenia zakaźnych chorób układu nerwowego. W związku z tym korzyści z wczesnej diagnozy znacznie przewyższają ryzyko związane z zabiegiem u pacjentów, którzy zostali dokładnie zbadani pod kątem przeciwwskazań.

Pilne wskazania do LP:

- podejrzenie ZOMR lub zapalenia mózgu o jakiegokolwiek etiologii (z wyjątkiem podejrzenia ropnia mózgu),
- podejrzenie krwawienia podpajęczynówkowego przy prawidłowej tomografii komputerowej (TK) [1].

Wskazania do wykonania LP jako ważnej składowej rozpoznania i wskazówka do leczenia (w trybie pilnym lub odroczonym):

- u noworodków i najmłodszych niemowląt w zakażeniach uogólnionych bez ustalonego punktu wyjścia i etiologii,
- u noworodków wskazanie do punkcji jest również dodatni posiew krwi oraz brak poprawy stanu ogólnego pacjenta pomimo leczenia prawidłowo dobranymi antybiotykami,
- w zapaleniu nerwów czaszkowych lub rdzeniowych w przebiegu neuroboreliozy
- przy podejrzeniu chorób ośrodkowego i obwodowego układu nerwowego spowodowanych demielinizacją w tym zespołu Guillain-Barré oraz o etiologii nowotworowej u pacjenta z chorobą zakaźną z objawami neurologicznymi lub oponowymi.

Jeśli pomyślałeś o wykonaniu punkcji lędźwiowej zrób to!

Badanie obrazowe (TK) nie jest konieczne u wszystkich pacjentów przed LP. Niektóre badania sugerują, że można zidentyfikować pacjentów wysokiego ryzyka, co pozwala większości pacjentów bezpiecznie poddać się LP bez badań przesiewowych TK [2]. Warto wiedzieć, że badanie TK może nie być wystarczające do wykluczenia podwyższonego ciśnienia śródczaszkowego [3]. Pomocna jest również ocena dna oka, celem wykrycia obecności tarczy zastoinowej nerwu wzrokowego, co jest przeciwwskazaniem do LP.

Przeciwwskazania do LP u pacjenta z podejrzeniem neuroinfekcji

Wykonanie LP można odroczyć, gdy stan pacjenta jest bardzo ciężki (stan nieopanowanego wstrząsu septycznego/niewydolność krążeniowo-oddechowa). W takich przypadkach zaleca się rozpocząć empiryczne leczenie przeciwdrobnoustrojowe (antybiotyki i.v. w dawkach jak w ZOMR, acyklowir w maks. dawce i.v.). Przed włączeniem antybiotyku należy pobrać krew (2 zestawy z dwóch odrębnych wkłuć) i inne materiały na posiew, gdy jest to zasadne i możliwe.

Niewydolność oddechowa — u dzieci z zaburzeniami oddychania podczas LP może wystąpić hipoksemia lub bezdech, zwłaszcza w pozycji leżącej na boku [4]. Dlatego też, w razie potrzeby, przed i w trakcie zabiegu u pacjentów z cechami niewydolności oddechowej należy monitorować wydolność oddechową i zapewnić drożność dróg oddechowych,

Niestabilność hemodynamiczna — osoby we wstrząsie przed LP tak szybko, jak to możliwe powinny zostać poddane odpowiedniej resuscytacji płynowej, mieć pobraną krew na posiew i otrzymać empiryczne antybiotyki; LP należy odłożyć do czasu ustabilizowania się stanu dziecka.

Ze względu na ryzyko powstania krwaka nie zaleca się wykonywania LP u pacjentów z zaburzeniami krzepnięcia, którzy aktywnie krwawią, mają ciężką trombocytopenię (np. liczba płytek krwi $<50\,000/\mu\text{L}$) lub mają $\text{INR} > 1.4$ bez wcześniejszego skorygowania podstawowych nieprawidłowości.

U noworodków przy zaburzeniach w układzie krzepnięcia (małopłytkowość, nieprawidłowy wynik koagulogramu, przedłużony czas krwawienia, które dość często stanowią powikłanie sepsy, należy najpierw uzyskać normalizację w układzie krzepnięcia i dopiero wtedy wykonać nakłucie lędźwiowe [5].

Innymi **objawami klinicznymi sugerującymi konieczność odroczenia LP u pacjenta z septycznym ZOMR** oraz natychmiastowego podania deksametazonu (z wyjątkiem noworodków, u których nie zaleca się leczenia deksametazonem) i antybiotyku (w przypadku septycznego ZOMR) są:

- śpiączka: brak reakcji lub bardzo słaba reakcja na bodźce bólowe; w skali Glasgow $<9-10$ punktów; skala Glasgow może być również stosowana u dzieci od około 4. roku życia (rozwój mowy); u młodszych stosuje się pediatryczną skalę Glasgow, w której oceniana jest odpowiedź wzrokowa, słowna i ruchowa.
- objawy świadczące o wzmożonym ciśnieniu śródczaszkowym: senność, podwójne widzenie, nieprawidłowa reakcja źrenic na światło, obrzęk tarcz nerwu wzrokowego (późny objaw); tętniące ciemię przy braku innych objawów wzmożonego ciśnienia nie jest przeciwwskazaniem do LP,
- szerokie źrenice albo asymetria wielkości źrenic,
- objawy wglębienia mózgu (nieadekwatna bradykardia, nieregularny oddech, wysokie ciśnienie tętnicze),
- niedawny napad drgawek (w ciągu ostatnich 30 min. lub brak powrotu do stanu sprzed drgawek po napadzie),
- zaburzona reakcja odruchowa oczno-głowa – objaw lalki,
- objawy deliberacyjne (objaw dłoniowo-bródkowy, szukania, objaw zwierciadła i Kralla - automatyczne powtarzanie wykonanego ruchu),
- koagulopatia/małopłytkowość; (płytki <50 tys. i $\text{INR} >1,4$),

- miejscowe zakażenie (w miejscu planowanej LP).

U pacjentów, u których może występować zwiększone ciśnienie wewnątrzczaszkowe na podstawie któregokolwiek z poniższych wyników badań fizykalnych albo innych poniższe okoliczności, **należy wykonać neuroobrazowanie przed LP:**

- bradykardia z nadciśnieniem tętniczym,
- zmieniony stan psychiczny,
- nierówne, rozszerzone lub słabo reagujące źrenice,
- papilledema w badaniu dna oka (u dorosłych, szczególnie gdy obrzęk jest po jednej stronie),
- ogniskowe zmiany neurologiczne,
- objawy odkorowania lub odmóżdżenia,
- ryzyko obecności ropnia mózgu (stan obniżonej odporności lub wrodzona choroba serca z przeciekiem prawo-lewym, wady siniczne) [6,7].

UWAGA! Oczekiwanie na wynik TK, w przypadku septycznego ZOMR, nie może opóźniać podawania antybiotyku.

Wykonanie badań obrazowych w przebiegu leczenia zakażeń OUN jest wskazane i uzasadnione w następujących sytuacjach:

- występowania ogniskowych objawów neurologicznych,
- wycieku PMR, niedawny uraz lub zabieg neurochirurgiczny w wywiadzie, wodogłowie w wywiadzie,
- utrzymywania się dodatnich posiewów PMR pomimo adekwatnej antybiotykoterapii,
- utrzymywania się podwyższonej pleocytozy wielojądrowej (>30 do 40%) po 10 i więcej dniach leczenia,
- w nawracającym ZOMR.

Powikłania po LP

Przed LP należy wyjaśnić pacjentom lub ich opiekunom korzyści płynące z prawidłowej diagnozy i poinformować o możliwych powikłaniach, którymi mogą być:

- niezyskanie płynu/potrzeba powtórzenia LP/traumatyczne przeżycie,
- zespół popunkcyjny – do 5-15% [8, 9],
- przejściowe/trwałe parestezje/drętwienie (bardzo rzadko),
- nagłe zatrzymanie oddechu z powodu unieruchomienia (rzadko),
- krwiak rdzenia lub ropień (niezwykle rzadko),
- wklinowanie (niezwykle rzadkie, jeśli przestrzega się wymienionych wyżej przeciwwskazań do LP).

Analgezja, anestezja i sedacja do LP:

- należy, jeśli to możliwe, korzystać z technik pozafarmakologicznych w tym tłumaczenia i wyjaśniania (u dzieci starszych), odwracania uwagi i bardzo korzystny wpływ może mieć obecność spokojnego rodzica
- wszystkie dzieci powinny mieć zastosowaną jakąś formę znieczulenia miejscowego natomiast u dorosłych jest to rozwiązanie opcjonalne:

- miejscowy krem znieczulający (EMLA) jeśli LP można bezpiecznie opóźnić do czasu uzyskania efektu działania leku,
- podskórna lignokaina powinna być stosowana niezależnie od znieczulenia naskórnego (do 0,4ml/kg 1% roztworu (4mg/kg),
- doustna podaż glukozy, sacharozy u dzieci < 3 m.ż.,
- należy uwzględnić sedację farmakologiczną np. w przypadku starszych niemowląt i dzieci, które nie są w stanie współpracować przy ustalaniu pozycji i unieruchomieniu podczas zabiegu, łagodna sedacja zabiegowa (np. midazolamem i.v. lub doustnie) zmniejsza niepokój i w połączeniu ze znieczuleniem miejscowym zazwyczaj umożliwia bezpieczne wykonanie LP [10].

Obserwacja po analgezy i sedacji. Monitorować należy wszystkich poddanych sedacji lub ciężko chorych – pulsoksymetria ciągła ± EKG.

Elementy warunkujące udaną LP:

- co najmniej jeden asystent dobrze wytrenowany w trzymaniu i unieruchamianiu dziecka!
- jałowe rękawiczki,
- sterylne gaziki i odpowiednia taca,
- zestaw do dezynfekcji skóry,
- 1% lignokaina, 2 ml strzykawki, igły 25G (jeśli stosujemy znieczulenie lignocainą),
- próbki na płyn (co najmniej 2, optymalnie 3, trzecia z przeznaczeniem na badanie molekularne),
- odpowiednia igła punkcyjna: z mandrynem (stosowanie igieł bez mandrynu obarczone jest dodatkowym, choć rzadkim, ryzykiem powstania dermoidalnego guza rdzenia), dostosowana do pacjenta (wieku, grubości tkanki tłuszczowej),
- wcześniejsza podaż antybiotyków może powodować jałowość PMR – wyjątkiem jest zakażenie GBS w przypadku którego, obecność bakterii jest jeszcze możliwa przez co najmniej 8 godzin po podaniu antybiotyku; z kolei opóźnienie o 2-3 godz. antybiotykoterapii może powodować spadek stężenia glukozy w PMR [5],
- manometria płynu nie jest u dzieci i dorosłych rutynowo wykonywana.

Manometria jest mało przydatna w diagnozowaniu neurozakażeń OUN. Ponieważ pomiar może być niewiarygodny, pomiaru ciśnienia otwarcia można zaniechać w przypadku dzieci młodszych niż dwa lata, pacjentów „walczących” lub niechętnych do współpracy lub pomiarów LP wykonywanych u pacjenta w pozycji siedzącej [11].

Wykonywanie LP

LP należy wykonać dystalnie od rdzenia kręgowego, na poziomie ogona końskiego. W chwili urodzenia dolny koniec rdzenia kręgowego znajduje się naprzeciwko trzonu L3. U dorosłych L1-L2; LP można wykonać od przestrzeni L2-L3 do przestrzeni L5-S1, ponieważ przestrzenie te znajdują się poniżej zakończenia rdzenia kręgowego (górna krawędź L2 u dorosłych).

Najważniejszym elementem powodzenia LP jest dobre trzymanie pacjenta przez doświadczoną asystę. Zachowanie właściwej pozycji chorego ma znaczenie decydujące.

Pozycja:

- LP może być wykonywana u pacjenta leżącego na boku lub siedzącego,
- najważniejsze jest maksymalne rozciągnięcie kręgosłupa (pozycja embrionalna), jednak nadmierne zgięcie, zwłaszcza u niemowląt może stać się przyczyną niewydolności oddechowej,
- plecy muszą być idealnie pod kątem 90° do łóżka; biodra i ramiona powinny być w tej samej linii,

- narysuj domyślną linię łączącą szczyty talerzy biodrowych; linia ta przecina kręgosłup na poziomie między 3 i 4 kręgiem lędźwiowym; jeśli potrzeba można w tym miejscu postawić kropkę,
- rdzeń kończy się w okolicach L3 u noworodków, górna krawędź L2 u dorosłych,
- punkcję powinno się wykonywać w przestrzeni między L3-L4 lub L4-L5,
- u dzieci poniżej 12. miesiąca życia LP należy wykonać poniżej przestrzeni L2–L3 [12].

Przygotowanie do LP:

- należy umyć i zdezynfekować ręce i włożyć aseptycznie sterylne rękawiczki jak do procedur chirurgicznych,
- przygotować pole produktem leczniczym o wskazaniach do dezynfekcji skóry wg procedury obowiązującej w danym szpitalu (wymagana jest skuteczność wobec bakterii, grzybów, prątków gruźlicy oraz wirusów w czasie kontaktu do 1 minuty),
- nakładanie środka dezynfekcyjnego zaczynamy od planowanego miejsca wkłucia, ruchami okrężnymi na zewnątrz, do wyschnięcia, ok. 30 s (Ryc. 13),
- zaleca się zastosowanie serwety z otworem,
- odczekać dostateczny czas, aby skóra wyschła (zgodnie z zaleceniami producenta zastosowanego preparatu do dezynfekcji skóry),
- otworzyć (asysta) po wykonaniu LP probówki tak by ich wnętrze pozostało jałowe,
- znieczulić skórę 1% lignokainą używając igły 25G (opcjonalnie).



Ryc. 13. Sposób dezynfekcji skóry podczas przygotowania do LP

Punkcja lędźwiowa:

- ustawić igłę w linii pośrodkowej kierując ją nieco dogłowowo,
- nakłuć skórę (u dziecka poczekać aż nieco się uspokoi),
- ponownie zorientować igłę (powinna być ułożona równoległe do łóżka i kierować się na pępek),
- wprowadzić igłę punkcyjną na wybranym poziomie przestrzeni międzykręgowej (wyczuwalny opór), posuwając dalej igłę aż do momentu, gdy opór nagle zmniejszy się; wyjąć mandryn; jeśli nie ma płynu włożyć ponownie mandryn i poruszając się do przodu znów sprawdzić czy nie ma płynu,
- gdy igła napotka opór należy ją powoli cofać aż pojawi się płyn; jeśli płynu nie ma należy ponownie wprowadzić mandryn, nieco zmienić kierunek igły i spróbować ponownie,

- gdy pojawi się krew to tę część należy zebrać na posiew; jeśli płyn się przejaśnia może być zebrany na badanie.
- jeśli jest to gęsta krew należy wykonać ponowne nakłucie w innej przestrzeni, jeśli płyn jest jednorodnie krwisty i nie przejaśnia się może to być krwawienie podpajeczynówkowe (porównujemy kolor w kolejnych 3 probówkach) (Ryc. 14).
- wypływający płyn należy zebrać optymalnie do 3 probówek (patrz poniżej),
- wprowadzić mandryn (zmniejsza ryzyko bólu głowy) i usunąć igłę wraz z mandrynem,
- uciśnij na krótko miejsce wkłucia palcem poprzez jałowy gazik,
- wysłać jak najszybciej próbki PMR do laboratorium.



Ryc. 14. PMR pobrany podczas LP: 1- płyn czysty prawidłowy lub zakażenie wirusowe, 2 – płyn jednorodnie krwisty wskazujący na krwawienie podpajeczynówkowe, 3 – płyn mętny (ropny), zakażenie bakteryjne

Liczba i objętość pobieranych próbek PMR

W celu przeprowadzenia pełnej diagnostyki laboratoryjnej w kierunku ZOMR **należy pobrać PMR optymalnie do 3 probówek** (na badania analityczne i cytologiczno-biochemiczne drugą na badanie mikrobiologiczne, trzecia na badanie molekularne). Optymalna objętość materiału wymagana do badań zarówno analitycznych jak i mikrobiologicznych to 1 ml PMR. W celu zmniejszenia ryzyka zanieczyszczenia próbki do badań mikrobiologicznych florą saprofityczną skóry pacjenta, zaleca się przekazanie pierwszej pobranej próbki do badań analitycznych (cytologiczno-biochemicznych) i dopiero drugiej do laboratorium mikrobiologicznego.

W przypadku pobrania małej objętości PMR, (co często ma miejsce u małych dzieci), wystarczającej do wykonania tylko jednego badania, lekarz powinien zdecydować, które z badań, mikrobiologiczne czy analityczne jest bardziej potrzebne w podejmowaniu decyzji terapeutycznych.

Opieka po LP. Miejsce wkłucia należy pokryć kilkoma jałowym gazikami i zakleić plastrem. Leżenie w łóżku po LP nie zapobiega bólom głowy [13,14]. Osobom dorosłym warto zalecić pozostanie w łóżku na brzuchu ok. 2 godzin. Wskazane jest przyjmowanie dużej ilości płynów.

Transport PMR do laboratorium mikrobiologicznego

Drobnoustroje, które najczęściej wywołują ZOMR są bardzo wrażliwe na zmiany warunków środowiska. Probówki z PMR nie należy wystawiać na działanie promieni słonecznych, wysokiej lub niskiej temperatury i należy dostarczyć jak najszybciej do laboratorium mikrobiologicznego. W przypadku opóźnienia opracowywania PMR lub jego transportu do laboratorium oddalonego od szpitala należy go zabezpieczyć przed ochłodzeniem (zabezpieczenie w cieplarni). Jeżeli

transport trwa krócej niż 2 godziny próbkę należy przewozić w termosie lub termotorbie, w 37°. W przypadku transportu >2 godz., należy użyć właściwego podłoża transportowego.

Kontrolna LP i badania PMR

Wykonywanie rutynowej, kontrolnej LP u chorych z ZOMR przebiegającym bez powikłań, a wywołanym przez wrażliwe na antybiotyki *S. pneumoniae*, *N. meningitidis* i *H. influenzae* nie jest konieczne. Również w neuroboreliozie nie ma potrzeby wykonywania kontrolnego badania PMR.

Wskazania do kontrolnej LP istnieją natomiast i należy je rozważyć w przypadku:

- zgodnie z najnowszymi rekomendacjami PTN [5] w celu udokumentowania wyjąłwienia PMR zwykle zaleca się wykonywanie nakłuć lędźwiowych co 24-48 godzin a przedłużona obecność bakterii w PMR jest czynnikiem pogarszającym rokowanie. Nie zaleca się wykonywania rutynowo badania PMR na zakończenie terapii,
- gdy nie udało się ustalić czynnika etiologicznego ZOMR,
- ZOMR wywołanego przez szczep *S. pneumoniae* oporny na antybiotyki beta-laktamowe,
- gdy w przebiegu ZOMR wystąpiły objawy ogniskowe,
- chorych z zaburzeniami odporności.

Piśmiennictwo:

1. Vermeulen M, van Gijn J. The diagnosis of subarachnoid haemorrhage. *J Neurol Neurosurg Psychiatry*. 1990;53: 365.
2. Gopal AK, Whitehouse JD, Simel DL i wsp. Cranial computed tomography before lumbar puncture: a prospective clinical evaluation. *Arch Intern Med* 1999; 159:2681.
3. Joffe AR. Lumbar puncture and brain herniation in acute bacterial meningitis: a review. *J Intensive Care Med* 2007; 22:194.
4. Kneen R, Michael BD, Menson E i wsp. Management of suspected viral encephalitis in children—Association of British Neurologists and British Paediatric Allergy, Immunology and Infection Group national guidelines. *J Infect* 2012; 64:449.
5. Lauterbach R. Bakteryjne zapalenie opon mózgowo – rdzeniowcy u noworodka. W: Borszewska-Kornacka K, Gulczyńska E, Helwich E i wsp (red.) Standardy opieki medycznej nad noworodkiem w Polsce. Zalecenia Polskiego Towarzystwa Neonatologicznego. Wydanie V Media- Press Sp. z o.o. 2023: 387-391.
6. Kneen R, Michael BD, Menson E i wsp. Management of suspected viral encephalitis in children—Association of British Neurologists and British Paediatric Allergy, Immunology and Infection Group national guidelines. *J Infect* 2012; 64:449.
7. Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL i wsp. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 2004; 39:1267.
8. Evans RW. Complications of lumbar puncture. *Neurol Clin* 1998; 16:83.
9. Janssens E, Aerssens P, Alliët P i wsp. Post-dural puncture headaches in children. A literature review. *Eur J Pediatr* 2003;162:117.
10. Ferdosian F, Esteghamat R, Fallah R i wsp. Effect of Midazolam Alone Versus Midazolam with Maternal Presence on Pain and Anxiety of Lumbar Puncture in 6 to 24-Month-Old Children. *Iran J Child Neurol* 202; 14: 57-64.
11. Avery RA, Shah SS, Licht DJ i wsp. Reference range for cerebrospinal fluid opening pressure in children. *N Engl J Med* 2010; 363:891.
12. Wiley JF, Cronin KM. Lumbar puncture. In: *Textbook of Pediatric Emergency Medicine Procedures*, 2nd edition, King C, Henretig FM (Eds), Wolters Kluwer Lippincott Williams & Wilkins, Philadelphia 2007.
13. Thoennissen J, Herkner H, Lang W i wsp. Does bed rest after cervical or lumbar puncture prevent headache? A systematic review and meta-analysis. *CMAJ* 2001; 165:1311.
14. Arevalo-Rodriguez I, Ciapponi A, Munoz L i wsp. Posture and fluids for preventing post-dural puncture headache.

13.3. Zasady pobierania krwi

13.3.1. Pobranie krwi na posiew (badanie mikrobiologiczne)

Zalecenia ogólne:

- Krew należy pobrać jak najszybciej (natychmiast) po wysunięciu podejrzenia zakażenia OUN.
- Krew należy pobrać przed podaniem antybiotyku, ale jej pobranie nie może opóźnić podania leku (zakażenie OUN jest stanem zagrożenia życia).
- Jeśli pacjent jest w trakcie antybiotykoterapii, krew należy pobrać przed podaniem kolejnej dawki leku, gdy jego stężenie w surowicy jest najniższe.
- Optymalnie krew należy pobrać z nakłucia żyły – mniejsze ryzyko zanieczyszczenia niż w przypadku pobierania krwi przez cewnik (nawet świeżo założony). Wyjątkiem jest sytuacja, gdy potencjalnym źródłem zakażenia może być cewnik naczyniowy – w takim przypadku krew należy pobrać z cewnika oraz nakłucia żyły.
- W przypadku braku możliwości pobrania krwi żyłnej można pobrać krew tętniczą – nie ma to wpływu na czułość i jakość badania, ale stwarza większe ryzyko powikłań.
- Najważniejszym czynnikiem wpływającym na prawdopodobieństwo uzyskania wyniku dodatniego jest objętość pobranej krwi.
- U pacjentów dorosłych należy pobrać jednocześnie (jeden po drugim) 2-3 posiewy (zestawy) krwi, a u dzieci 2 posiewy (zestawy) z różnych miejsc wkłucia. Przez jeden posiew (zestaw) rozumie się pobranie z jednego miejsca anatomicznego.
- U pacjentów dorosłych jeden posiew (zestaw) oznacza pobranie do 2 butelek – butelki z podłożem do hodowli bakterii tlenowych i butelki do hodowli beztlenowców. U dzieci jeden posiew (zestaw) oznacza pobranie przede wszystkim do butelki do hodowli bakterii tlenowych (pobranie dodatkowo do butelki beztlenowej jest uzasadnione, gdy objętość pobranej krwi jest wystarczająca). Warto pamiętać, że *Streptococcus pneumoniae* i niektóre inne bakterie Gram-dodatnie mogą lepiej rosnąć w podłożach do hodowli bakterii beztlenowych. Objętość krwi wprowadzana do każdej butelki powinna być zgodna z zaleceniami producenta. U dzieci (zwłaszcza małych) należy stosować podłoża pediatryczne.
- Zalecana objętość pobieranej krwi zależy od masy ciała pacjenta (patrz Tab. 15 poniżej).
- Jeśli równocześnie pobierana jest krew na inne badania laboratoryjne, w pierwszej kolejności należy pobrać krew na posiew, aby ograniczyć ryzyko zanieczyszczenia.

Tabela 15. Zalecana objętość krwi na posiew w zależności od masy ciała pacjenta wg rekomendacji IDSA 2018 [1].

Masa ciała (kg)	Zalecana objętość krwi na posiew (ml)		Całkowita objętość krwi na posiew (ml)
	Posiew (zestaw) I	Posiew (zestaw) II	
≤ 1	2	-	2 (min. 1 ml)
1,1-2	2	2	4
2,1-12,7	4	2	6
12,8-36,3	10	10	20
> 36,3	20-30	20-30	40-60

Aksesoria niezbędne do pobrania krwi na posiew:

- alkoholowy środek do dezynfekcji rąk,
- rękawiczki jednorazowe niejałowe (jałowe rękawiczki są potrzebne u noworodków oraz jeśli zaistnieje konieczność oklepania żyły przed wkłuciem / dotknięcia miejsca wkłucia już po dezynfekcji skóry),

- preparat do odkażania skóry na bazie alkoholu,
- jednorazowa opaska uciskowa,
- jałowe gaziki,
- plaster z opatrunkiem,
- optymalnie system do zamkniętego pobierania krwi na posiew (igła motylkowa z wężykiem do pobierania krwi i adapter do butelki do posiewu krwi) lub igły i strzykawki,
- butelki do posiewu krwi,
- pojemniki na zużyte akcesoria i pojemnik na odpady ostre.

Technika pobierania krwi

1. Przed rozpoczęciem procedury zdezynfekuj ręce.
2. Wykonaj dezynfekcję powierzchni, na której będą układane akcesoria potrzebne do pobrania krwi.
3. Przygotuj niezbędne akcesoria do pobrania krwi.
4. Sprawdź skierowanie i potwierdź tożsamość pacjenta, poinformuj go na czym będzie polegała procedura i jaki jest jej cel.
5. Przygotuj odpowiednie do zlecenia butelki do posiewu krwi (butelki powinny być w temp. pokojowej), uwzględniając masę ciała / wiek pacjenta. Sprawdź ich termin ważności oraz zalecenia producenta dotyczące optymalnej objętości krwi.
6. Zaznacz markerem na butelce poziom, do którego należy pobrać krew.
7. Otwórz przygotowane pakiety.
8. Zdejmij plastikowe osłonki z butelek i jałowym gazikiem nasączonym preparatem alkoholowym wykonaj dokładną dezynfekcję korków i gumowej membrany.
9. Podłóż arkusz podkładu i wybierz miejsce pobrania krwi – oceń żyły i możliwości ułucia.
10. Załóż opaskę uciskową i wyczuź żyłę, z której będzie pobierana krew.
11. Poluzuj opaskę (czas zacisku należy ograniczyć do minimum) i wykonaj dezynfekcję skóry w miejscu pobrania krwi. Gazikiem nasączonym środkiem do dezynfekcji skóry zdezynfekuj obszar o średnicy min. 5 cm wykonując ruch ślimakowy odśrodkowy. Powtórz czynność 3 razy. Poczekaj do wyschnięcia skóry. (Uwaga: jeśli skóra w miejscu pobrania jest widocznie zabrudzona, przed rozpoczęciem całej procedury, na etapie potwierdzania tożsamości pacjenta należy ją umyć wodą i mydłem).
12. Ponownie zdezynfekuj ręce i załóż jednorazowe niejałowe rękawiczki.
13. Zaciśnij opaskę uciskową.

Uwaga: Po przeprowadzonej dezynfekcji skóry nie należy dotykać ręką w niejałowej rękawiczce miejsca, skąd pobierana będzie krew na posiew.
14. Igłą motylkową z zestawu do pobierania krwi nakłuj żyłę.
15. W momencie pojawienia się krwi w dreniku, wktuj drugi koniec zestawu w korek butelki z podłożem:
 - najpierw podstaw butelkę do hodowli bakterii tlenowych,

- druga w kolejności powinna być butelka do hodowli bakterii beztlenowych (w przypadku pobierania krwi igłą ze strzykawką, kolejność jest odwrotna, tj. najpierw należy napełnić butelkę do hodowli beztlenowców, a potem butelkę tlenową nie zmieniając igły).

16. Pobierz odpowiednią objętość krwi (podciśnienie w butelkach „zaciąga” krew).

17. Zdejmij opaskę uciskową.

18. Usuń igłę z żyły pacjenta, a miejsce wkłucia delikatnie uciśnij suchym, jałowym gazikiem.

19. Zdejmij rękawiczki – zdezynfekuj ręce.

20. Załóż opatrunek na miejsce wkłucia.

21. Delikatnie wymieszaj krew z podłożem przechylając butelki 3-krotnie.

Aby pobrać krew z drugiego miejsca (drugi posiew/zestaw) powtórz czynności zaczynając od punktu 9 a następnie:

22. Opisz lub naklej etykiety na butelkach: pełne imię i nazwisko pacjenta, oddział, datę i godzinę pobrania oraz miejsce, z którego pobierana była krew.

23. Butelki umieść w przeznaczonym do transportu opakowaniu.

24. Na skierowaniu zapisz godzinę pobrania krwi oraz złóż podpis jako osoby pobierającej i dołącz zlecenie do butelek.

Krew pobraną na posiew należy jak najszybciej dostarczyć do laboratorium mikrobiologicznego, transportując ją w temperaturze pokojowej w zamkniętym pojemniku oznakowanym „materiał zakaźny”. Jeśli krew na posiew jest pobierana poza godzinami pracy pracowni mikrobiologicznej, butelki należy przechowywać w temperaturze pokojowej (15–30°C) lub w cieplarni (37°C) zgodnie z zaleceniami producenta butelek z podłożem do posiewu krwi. Inkubacja w analizatorze powinna rozpocząć się jak najszybciej po pobraniu.

Piśmiennictwo:

1. Miller JM, Binnicker MJ, Campbell S i wsp. A Guide to Utilization of the Microbiology Laboratory for Diagnosis of Infectious Diseases: 2018 Update by the Infectious Diseases Society of America and the American Society for Microbiology. Clin Infect Dis 2018;67(6):813-816.

13.3.2. Pobieranie krwi do badania analitycznego

Wykonuje się zgodnie z obowiązującą w szpitalu procedurą za pomocą zestawów strzykawkowych lub próżniowych z antykoagulantem.

13.4. Zasady pobierania innych materiałów od chorych

13.4.1. Pobieranie wymazów z nosogardzieli

- Pacjent z głową lekko przechyloną do tyłu powinien głęboko oddychać. Należy poprosić pacjenta o szerokie otwarcie ust.
- Delikatnie przytrzymać szpatułką język w celu uwidocznienia miejsca pobrania materiału. Konieczne jest jasne światło skierowane w stronę jamy ustnej pacjenta.
- W przypadku pobierania materiału z jamy nosowo-gardłowej należy przygotować mały wacik na odpowiednim, łatwo dającym się modelować drucie lub dostępne wymazówki na giętkim drucie. Należy je delikatnie zgiąć i wprowadzić delikatnie za języczkiem podniebiennym ku górze lub przez otwór nosowy ku tyłowi, aż dotknie tylnej ściany jamy nosowo-gardłowej. Wykonuje się wtedy ruchy wacika ku dołowi i ku górze w celu potarcia ściany gardła.

- Pobrany materiał należy jak najszybciej przekazać do laboratorium mikrobiologicznego.
- W przypadku braku możliwości natychmiastowego opracowania pobranego materiału klinicznego w laboratorium, należy pobrać wymaz za pomocą specjalnych, fabrycznych zestawów zawierających wacik z odpowiedniego, absorbującego materiału i podłoże transportowe [1,2].

Piśmiennictwo:

1. Investigation of Throat Related Specimens UK Standards for Microbiology Investigations, Public Health England 2015; B 9; Issue no: 9; 1-29. <https://www.rcpath.org/static/6238dfba-3449-4bef-801d23d3ac62c18b/uk-smi-b-9i9-investigation-of-throat-related-specimens-april-2015-pdf>; dostęp 12.12.2023.
2. Specimen collection, transport and acceptability W: Leber AL, Burnham CAD. Clinical Microbiology, Procedures Handbookm 2023, Fifth Edition Volume 1; 2.0.1.

13.4.2. Pobieranie materiału z wybroczyn na skórze

W przypadku zakażenia inwazyjnego bakterie mogą być izolowane z wybroczyn na skórze, które są częstym objawem choroby. Wybroczyny najczęściej występują w przypadku *N. meningitidis*. Stosuje się zarówno technikę prostego rozerwania zmian skórnych i pobrania wymazów jak i biopsję [1,2].

Piśmiennictwo:

1. Investigation of tissues and biopsies from deep-seated sites and organs UK Standards for Microbiology Investigations, Public Health England 2018; B 17; Issue no: 6.3; 1-23. <https://www.rcpath.org/static/47722f8c-8c43-4ad2-be5785b454021795/UK-SMI-B-17i63-Investigation-of-tissues-and-biopsies-from-deep-seated-sites-and-organs-January-2018.pdf>; dostęp 12.12.2023.
2. Specimen collection, transport and acceptability W: Leber AL, Burnham CAD. Clinical Microbiology, Procedures Handbookm 2023, Fifth Edition Volume 1; 2.0.1.

13.4.3. Pobieranie materiałów *post mortem*

Celem badania autopsyjnego jest ustalenie rozpoznania patomorfologicznego oraz określenie przyczyny zgonu. W tym celu wykonywane są badania histopatologiczne oraz – w razie potrzeby – inne badania (np. mikrobiologiczne, molekularne, toksykologiczne). Klasyczne badanie autopsyjne pozostaje złotym standardem diagnostyki pośmiertnej, jednak w wybranych przypadkach zastosowane mogą być techniki autopsji minimalnie inwazyjnej z pobraniem materiałów do badań mikrobiologicznych [1]. W Polsce brakuje rozwiązań prawnych i organizacyjnych w tym zakresie i techniki te nie są rutynowo dostępne.

Zgodnie z art. 32 ust. o działalności leczniczej z dnia 15 kwietnia 2011 r. sekcję zwłok można przeprowadzić nie wcześniej niż po upływie 12 godzin od stwierdzenia zgonu. Jeżeli zachodzi potrzeba pobrania ze zwłok komórek, tkanek lub narządów, możliwe jest przeprowadzenie autopsji wcześniej, z zachowaniem zasad i trybu przewidzianych w przepisach o pobieraniu, przechowywaniu i przeszczepianiu komórek, tkanek i narządów (art. 32 pkt. 2). Sekcję taką może zarządzić kierownik, a jeżeli nie jest on lekarzem, to lekarz przez niego upoważniony lub lekarz upoważniony przez zarząd spółki kapitałowej. Niniejszego przepisu nie stosuje się do osób osadzonych, które zmarły w zakładach karnych i aresztach śledczych [2].

Wiarygodność pośmiertnych badań mikrobiologicznych zależy od wielu czynników, m.in. od czasu, jaki upłynął od śmierci do autopsji, czasu trwania samej autopsji, stosowanej przyżyciowo antybiotykoterapii, metod preparatyki sekcyjnej, sposobu postępowania ze zwłokami po śmierci, wykonywanymi zabiegami pielęgniarstka, obecnością cewników naczyniowych, moczowych, warunkami przechowywania zwłok. Wyniki pośmiertnych badań mikrobiologicznych winny być zawsze interpretowane w kontekście całości obrazu klinicznego, w tym danych z wywiadu, okoliczności zgonu, wyników przyżyciowych badań laboratoryjnych i obrazowych, zmian makroskopowych stwierdzonych sekcyjnie, innych dostępnych danych. Pozytywny wynik pośmiertnego badania mikrobiologicznego może odzwierciedlać rzeczywistą infekcję, jednak częstość występowania skażenia pośmiertnego i pośmiertnej translokacji bakteryjnej w tradycyjnych badaniach autopsyjnych szacuje się na około 20%. Przestrzeganie zasad aseptyki w trakcie autopsji pozwala zredukować ten odsetek do poniżej 10% [3,4]. Próbkę do

pośmiertnych badań mikrobiologicznych powinny być pobrane niezwłocznie, optymalnie w ciągu 24 godzin od śmierci, a priorytetem jest uniknięcie kontaminacji pobranego materiału [5]. Pośmiertna translokacja bakteryjna jest zjawiskiem naturalnym, rozpoczynającym się w ciągu 8 godzin po śmierci i dotyczącym najczęściej endogennych komensalnych bakterii jelitowych, takich jak *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp., *Clostridium* spp. i *Streptococcus* spp. Dyskusyjna jest możliwość rozprzestrzeniania mikroorganizmów w okresie agonii oraz w wyniku resuscytacji. Namnażanie bakterii oraz ich migracja do krwi i tkanek zapoczątkowują zjawiska rozkładu gnilnego. Zjawiska te mogą zaburzać pośmiertną diagnostykę mikrobiologiczną, a interpretacja uzyskanych wyników wymaga ostrożności i współpracy interdyscyplinarnej lekarza patomorfologa, specjalisty mikrobiologa oraz lekarzy klinicystów [6-9].

Optymalny sposób pobierania krwi do pośmiertnych badań mikrobiologicznych nie został ustalony. Opisywana w literaturze klasyczna metoda pobierania krwi przez przedśionek z użyciem metody termicznej /elektrokauteza była porównana z metodą kaniulacji żyły podobojczykowej z wykorzystaniem kontrastu jodowego, która dała niższy odsetek wyników fałszywie dodatnich [10]. Żadna z tych metod nie jest rutynowo stosowana w prosektoriach. W tej sytuacji należy uznać za właściwą każdą technikę, zapewniającą zachowanie aseptyki i minimalizującą możliwość kontaminacji krwi, a podstawowe znaczenie ma stosowanie jałowych rękawiczek i ostrzy skalpela.

W przypadku pobierania krwi z serca techniką klasyczną, z przecięciem od przodu ściany komór w dolnej 1/3 wysokości serca przy pomocy jałowego skalpela, krew z komór należy przelać do jałowego pojemnika, zachowując szczególną ostrożność by uniknąć kontaminacji materiału. Alternatywna technika może zminimalizować ryzyko uzyskania wyników fałszywie dodatnich oraz ograniczyć wpływ na przebieg dalszej, rutynowej diagnostyki sekcyjnej „in tabula” (preferowanej przez większość patomorfologów, a wymagającej wyjęcia narządów ciała z korpusu). Metoda uwzględnia zasady aseptyki, jednak wymaga walidacji. Bezpośrednio po ostrożnym otwarciu jamy klatki piersiowej należy przystąpić do pobrania krwi z serca „in situ”. Fiksując osierdzie dłonią niedominującą, należy nakłuć ścianę przednią serca poniżej bruzdy wieńcowej za pomocą jednorazowej sterylnej igły (np. 1,2 x 40-50 mm 18G) i zaaspirować wymaganą objętość krwi do jałowej strzykawki o objętości 10-20 ml. Lewa komora serca zwykle dominuje wielkością i zawiera większą objętość płynnej krwi zalegającej (nawet po wystąpieniu stężenia pośmiertnego). Nakłucie należy wykonać w obszarze makroskopowo prawidłowego mięśnia sercowego, choć ocena w tym zakresie może być utrudniona wskutek otłuszczenia serca. W prawej komorze i przedśionku częściej występują skrzepliny, które – jeśli przylegają ściśle do śródbłonna – mogą być wykładnikiem zatorowości płucnej (11). Proponowana technika pobrania krwi ogranicza nie tylko ryzyko kontaminacji, ale także zaburzenia dalszej rutynowej diagnostyki sekcyjnej. Należy unikać ucisku na żyły główne i organy jamy brzusznej, by zapobiec kontaminacji aspiratu krwi florą jelitową.

Jeżeli planowany jest rutynowy posiew, próbkę krwi o objętości 10 ml należy równo rozdzielić pomiędzy podłoże tlenowe i beztlenowe. Należy też pozyskać adekwatną ilość krwi do pozostałych niezbędnych badań (np. molekularnych, jeśli wymagane).

Próbki tkankowe są materiałem preferowanym w stosunku do wymazów. Wycinki o orientacyjnych wymiarach 2 x 2 x 0,5 cm należy pobrać z płuc, wątroby, nerek oraz zmienionej krwotocznie skóry, ewentualnie także z innych narządów jeżeli ich wygląd makroskopowy budzi podejrzenie zakażenia (obecność wysięku, podejrzenie ropnia, ogniska krwotoczne, wybroczyny). Zalecane jest stosowanie jałowych rękawiczek, używanie odrębnego jałowego skalpela do każdego narządu biopowanego, preparowanie i pobieranie wycinków tkankowych w sposób minimalizujący ryzyko kontaminacji (unikanie kontaktu z innymi narządami, wydzielinami, stołem sekcyjnym, itp.).

Wycinki należy umieścić w jałowych pojemnikach, opisać lokalizację narządową i niezwłocznie przesać do laboratorium mikrobiologicznego. Jeżeli jest to niemożliwe, wówczas należy je zalać roztworem jałowej wody do wstrzykiwań (aqua pro injectione) lub 0,9% natrium chloratum i przechowywać w lodówce nie dłużej niż 48 godzin. W razie konieczności dłuższego transportu, próbki należy zabezpieczyć przed uszkodzeniem i utratą jałowości. Próbki krwi przeznaczone do hodowli należy przenieść do podłoża transportowego.

Jałowe pobranie płynu mózgowo-rdzeniowego do pośmiertnych badań mikrobiologicznych jest trudne technicznie i było przedmiotem nielicznych badań. Płyn pozyskiwano z przestrzeni podpajęczynówkowej lub z komór mózgu [12]. Nie opracowano w tym zakresie powszechnie uznawanych standardów technicznych, a praktyczna przydatność pośmiertnych badań mikrobiologicznych płynu mózgowo-rdzeniowego wymaga dalszych badań. Uzyskanie dodatniego wyniku posiewu

płynu przy zapewnieniu jałowości pobrania wiąże się z wysokim prawdopodobieństwem, że zidentyfikowany patogen był przyczyną śmierci. Wzrost flory mieszanej przemawia za kontaminacją [13].

UWAGA!

Wynik przeprowadzanego badania bakteriologicznego z materiału pobieranego *post mortem* zależy w dużej mierze od zapewnienia odpowiednich warunków pobierania materiału (jak najszybsze wykonanie sekcji, ograniczenie do minimum przypadkowych zanieczyszczeń, stosowanie jałowych rękawiczek oraz pobieranie każdej tkanki nowym, jałowym skalpelem) i jego przesyłania.

W przypadku wysyłania materiałów pobranych śródsekcyjnie do KOROUN, najlepszym materiałem do badań jest krew z komór serca (2 ml) i PMR (2 ml). Jeśli nie ma możliwości uzyskania próbki krwi należy przestać wycinki śledziony, płuc, wątroby czy nerki o orientacyjnych wymiarach 0,5 x 0,5 x 0,5 cm, a w przypadku wybroczyn również fragmenty zmienionej skóry. W celu uzyskania wiarygodnego wyniku najlepiej przeprowadzać badanie na co najmniej dwóch próbkach tkankowych pobranych od pacjenta. Wykrycie tego samego patogenu w różnych lokalizacjach narządowych przemawia za tym, że był on faktycznym czynnikiem prowadzącym do zgonu, a nie artefaktem wynikającym z techniki pobrania.

Pobrane próbki materiału (krew, PMR, fragmenty tkanek) można przechowywać w lodówce do 2 dni. Jeżeli spodziewany czas jest dłuższy, próbki należy zamrozić w -20°C (najlepiej w -70°C) i wraz z wypełnioną ankietą dostarczyć przesyłką kurierską do KOROUN na suchym lodzie lub z wkładem chłodzącym. Materiał należy przesyłać po wcześniejszym telefonicznym uzgodnieniu z Ośrodkiem Referencyjnym.

UWAGA!

Wszystkie czynności związane z opracowywaniem próbek z autopsji w laboratorium mikrobiologicznym powinny być wykonywane w boksie laminarnym. Konieczny jest ubiór ochronny (fartuch i rękawiczki).

Piśmiennictwo:

1. Saegeman V, Cohen MC, Burton JL i wsp. Microbiology in minimally invasive autopsies: best techniques to detect infection. ESGFOR (ESCMID study group of forensic and post-mortem microbiology) guidelines. *Forensic Sci Med Pathol.* 2021;17: 87-100.
2. Ustawa z dnia 15 kwietnia 2011 r. o działalności leczniczej; Dz.U. 2023 poz. 991
3. Morris, J.A.; Harrison, L.M.; Partridge, S.M. Practical and theoretical aspects of postmortem bacteriology. *Curr. Diagn. Pathol.* 2007, 13, 65–74.
4. Palmiere C, Vanhaebost J, Ventura F, Bonsignore A, Bonetti LR. Cerebrospinal fluid PCR analysis and biochemistry in bodies with severe decomposition. *J Forensic Leg Med.* 2015;30: 21-24.
5. Fernández-Rodríguez A, Cohen MC, Lucena J i wsp. How to optimise the yield of forensic and clinical post-mortem microbiology with an adequate sampling: a proposal for standardisation. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2015;34: 1045–1057.
6. Finley SJ, Benbow ME, Javan GT. Microbial communities associated with human decomposition and their potential use as postmortem clocks. *Int J Legal Med.* 2015;129: 623–632.
7. Buchelo SR, Lynne AM. The microbiome of human decomposition. *Microbe Magazine.* 2016;11:165–71.
8. Burcham ZM, Hood JA, Pechal JL i wsp. Fluorescently labeled bacteria provide insight on post-mortem microbial transmigration. *Forensic Sci Int.* 2016;264: 63–9. 9.
9. Christofersen S. The importance of microbiological testing for establishing cause of death in 42 forensic autopsies. *Forensic Sci Int.* 2015;250: 27–32
10. Hove M, Pencil SD. Effect of postmortem sampling technique on the clinical significance of autopsy blood cultures. *Hum Pathol.* 1998;29:137-139.
11. Mansueto, G., Costa, D., Capasso, E. *et al.* The dating of thrombus organization in cases of pulmonary embolism: an autopsy study. *BMC Cardiovasc Disord* 2019; 19: 250.
12. Garland J, Philcox W, Keshava K i wsp. Differences in Sampling Site on Postmortem Cerebrospinal Fluid Biochemistry: A Preliminary Study. *Am J Forensic Med Pathol.* 2018; 39: 304-308.

13. Morris JA, Harrison LM, Partridge SM. Postmortem bacteriology: a re-evaluation. J Clin Pathol. 2006; 59: 1-9.

13.4.4. Inne materiały diagnostyczne w zakażeniach OUN

Materiały kliniczne pobrane z pierwotnego ogniska zakażenia (materiał ze stawu, opłucnej, płuc, ucha środkowego, zatok) pobrać i zabezpieczyć zgodnie z obowiązującymi w szpitalu procedurami. Próbki materiału do badań mikrobiologicznych należy dostarczyć do laboratorium natychmiast po pobraniu.

14. BADANIA ANALITYCZNE MATERIAŁÓW KLINICZNYCH

Badanie ogólne płynu mózgowo rdzeniowego (PMR) połączone z badaniami biochemicznymi, morfologią z rozdziałem automatycznym leukocytów (WBC 5DIFF) z oceną mikroskopową (rozsmazem) ułatwiają różnicowanie między bakteryjnym i wirusowym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych (ZOMR). Bardzo często są podstawą do postawienia rozpoznania w połączeniu z objawami klinicznymi i późniejszymi wynikami posiewów [1].

14.1. Badanie ogólne PMR

Badanie ogólne płynu obejmuje ocenę cech fizycznych, biochemicznych oraz ocenę cytozy wraz z oceną mikroskopową [2]. Wstrząsanie próbki podczas transportu może spowodować rozpad erytrocytów (zawyżenie stężenia oksyhemoglobiny/hemoglobiny). Niektóre komórki mogą ulec lizie w ciągu godziny od pobrania. Czas przeżycia granulocytów może ulec skróceniu w wyniku ekspozycji próbki na światło lub jej kontakt z powietrzem. Liza komórek fałszywie zaniża cytozę. Transport płynu >30 minut może fałszywie zaniżyć glukozę i fałszywie zawyżyć mlecza. Stężenie białka jest stabilne. Transport >60 minut powoduje dodatkowo lizę erytrocytów dając w tym przypadku fałszywie zawyżone stężenie białka całkowitego, przy wysokiej cytozie zaniżone stężenie glukozy (dwa istotne diagnostycznie parametry w ZOMR) [1,3].

14.1.1. Ocena wyglądu PMR

Cechy prawidłowego płynu mózgowo-rdzeniowego przedstawiono w Tabeli 16.

PMR powinien być pobrany do probówki polipropylenowej (PP) i dostarczony w krótkim czasie do laboratorium (próbki do badania ogólnego są zawsze do pobrania w laboratorium). Przetrzymanie materiału na oddziale w sposób istotny wpływa na wynik cytozy i niektórych parametrów [1,4,5].

Tabela 16. Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego, prawidłowe właściwości fizyko-chemiczne.

Badane właściwości	Metoda	Analizator	Zakres wartości referencyjnych dla prawidłowego PMR	Całkowity błąd dopuszczalny TEA	Czas oczekiwania na wynik
Objętość	Odczyt wzrokowy	n/d	Do badania ogólnego wymaga się 2 ml PMR	n/d	Badanie wykonywane w ciągu jednej godziny
Barwa	Odczyt wzrokowy	n/d	wodojasny	n/d	Badanie wykonywane w ciągu jednej godziny
Barwa po wirowaniu	Odczyt wzrokowy	n/d	wodojasny	n/d	Badanie wykonywane w ciągu jednej godziny
Przejrzystość	Odczyt wzrokowy na ciemnym polu	n/d	przejrzysty	n/d	Badanie wykonywane w ciągu jednej godziny
Przejrzystość po wirowaniu	Odczyt wzrokowy na ciemnym polu	n/d	przejrzysty	n/d	Badanie wykonywane w ciągu jednej godziny

Barwa płynu w ZOMR często jest mleczna może być jasnożółta czasem podbarwiona krwią i bardzo często są to płyny mętne. Mętność wynika z podwyższonej cytozy (pleocytozy) z podwyższoną liczbą granulocytów obojętnochłonnych. Czasem opalescencja płynu może wskazywać na obecność bakterii.

Płyny jasnoczerwone i ciemnoczerwone mogą być wynikiem pobrania traumatycznego lub wskazywać na poważniejsze przyczyny. Istotne jest w tych przypadkach po pierwsze zaobserwowanie i odnotowanie na wyniku barwy płynu po wirowaniu i oznaczenie o ile jest to możliwe stężenia bilirubiny całkowitej (TBil mg/dl). W przypadku pobrania traumatycznego płyn

jest wodojasny po wirowaniu, a krwawienia od jasnożółtego po bursztynowy (zależność czasowa). Ksantochromiczne płyny są typowe u pacjentów z żółtaczką.

Zmętnienie płynu obserwuje się przy zwiększonej liczbie komórek (leukocytów, innych komórek jądrazstych), obecnych drobnoustrojach lub podwyższonym stężeniu białka całkowitego. Obecność ponad 200 leukocytów lub ponad 400 erytrocytów powoduje widoczne zmętnienie. Płyn prawidłowy ma konsystencję wody. Płyn ulegający wykrzepianiu obserwuje się w bloku kanału kręgowego i po traumatycznej punkcji [1].

14.1.2. Badania biochemiczne PMR

Badanie ogóle płynu mózgowo rdzeniowego zawsze obejmuje oznaczenie stężenia białka całkowitego (TP), glukozy (Glu) i chlorków (Cl) oraz często mleczanów na analizatorach biochemicznych. Jednocześnie z pobraniem PMR można pobrać krew pacjenta do próbki na skrzep (do 60 minut przed punkcją, najlepiej na czczo). Wybrane parametry są mierzone w PMR i surowicy, co pozwala wyliczyć wskaźnik PMR/surowica. Często badanie to jest stosowane w badaniu oceny bariery krew PMR (QAlb) [1,4].

Tabela 17. Wykaz parametrów biochemicznych obejmujących badanie ogólne PMR.

Parametr	Metoda	Analizator	Zakres wartości referencyjnych dla prawidłowego PMR u dorosłych	Zakres wartości referencyjnych dla prawidłowego PMR u noworodków	Całkowity błąd dopuszczalny TEA	Czas oczekiwania na wynik
TP (białko całkowite) mg/dl	Kolorymetryczna	Biochemiczny z dostępną metodą	15-45 >60 r.ż.: 15-60	15-100	n/d	Badanie wykonywane w ciągu jednej godziny
Glukoza mg/dl	Enzymatyczna	Biochemiczny lub do RKZ* z dostępną metodą	50-80 (60-70% stężenia w osoczu)	50-80	n/d	Badanie wykonywane w ciągu jednej godziny
Chlorki mmol/l	Potencjometryczna	Biochemiczny lub do RKZ* z dostępną metodą	115-130	115-130	n/d	Badanie wykonywane w ciągu jednej godziny
Mleczały mmol/l	Amperometryczna	Biochemiczny lub do RKZ* z dostępną metodą	Nie zależą od stężenia w krwi 1,1-2,4	Nie zależą od stężenia w krwi Nie zawsze są oznaczane <2,4	n/d	Badanie wykonywane w ciągu jednej godziny
Odczyn None Apelta Wykrywa obecność globulin	Metoda manualna zmętnieniowa	Metoda z wykorzystaniem odczynnika None Apelta	Ujemny (-) Brak zmętnienia płyn jest przejrzysty	Ujemny (-) Brak zmętnienia płyn jest przejrzysty	n/d	Badanie wykonywane w ciągu jednej godziny
Odczyn Pandy'ego Wykrywa obecność albumin i globulin	Metoda manualna zmętnieniowa	Metoda z wykorzystaniem odczynnika Pandy'ego	Ujemny (-) Brak zmętnienia płyn jest przejrzysty	Ujemny (-) Brak zmętnienia płyn jest przejrzysty	n/d	Badanie wykonywane w ciągu jednej godziny

* RKZ - równowaga kwasowo-zasadowa

GLUKOZA

Na stężenie glukozy w PMR ma wpływ czynny transport oraz prosta dyfuzja. Stężenie glukozy w płynie PMR odzwierciedla jej stężenie w krwi sprzed 30-90 minut. Przy podejrzeniu ZOMR w badanym płynie obserwuje się często hipoglikemię (<40 mg/dl), hiperglikemia jest charakterystyczna w traumatycznych punktach i u pacjentów z nieleczoną cukrzycą. W zakażeniach wirusowych stężenie glukozy jest porównywalne ze stężeniem w osoczu. Należy pamiętać o przydatności QGlu. Wyliczony stosunek stężenia glukozy PMR/krew w warunkach prawidłowych powinien być $\geq 0,6$. Transport próbek opisany wcześniej ma istotny wpływ na wynik oznaczenia [1,4].

BIAŁKO CAŁKOWITE

W PMR aż 80% białek pochodzi z krwi a pozostałe 20% z OUN ze splotu naczyńwórkowego i opony miękkiej. Wzrost stężenia niezwiązany z ZOMR powinien być wiązany z domieszką krwi, dysfunkcją bariery krew-PMR (QA1b), osłabionym wchłanianiem zwrotnym do krwi oraz wzmożoną syntezą miejscową. O podwyższonym stężeniu białka całkowitego informują nas odczyny Nona Apelta i Pandy'ego. Nasilenie zmętnienia ocenianego na wyniku plusami koreluje z jego stężeniem. Stężenie białka >45 mg/dl daje zmętnienie, na co najmniej jeden plus. W ropnych, kiłowych i gruźliczych ZOMR często obserwuje się zmętnienie w obu testach. Charakterystyczny wzrost stężenia białka całkowitego w badanym PMR obserwuje się w infekcyjnych zapaleniach opon mózgowo-rdzeniowych lub mózgu, z zawałami mózgu, ropniu mózgu, krwawieniach podpajęczynówkowych, guzach OUN, urazach mózgu, polineuropatiach w SM i kile mózgu. Oznaczenie stężenia albuminy w surowicy i płynie jest przydatne we wspomnianej wcześniej diagnostyce dysfunkcji bariery [1,4].

CHLORKI

Stężenie chlorków podlega zmianom w zależności od stężenia w surowicy. Nie istnieją interferencje związane z metodą oznaczenia. Obecność jednak w płynie mózgowo-rdzeniowym domieszki krwi wpływa na wynik, szczególnie w istotnym diagnostycznie różnicowaniu zakażenia bakteryjnego z wirusowym [1,4].

MLECZANY

Stężenie mleczanów nie zależy od ich stężenia w krwi. Podwyższone stężenie mleczanów obserwuje się w beztlenowym metabolizmie OUN w hipoksji tkanek lub niedotlenieniu. Wzrost mleczanów obserwowany jest m.in. w bakteryjnym ZOMR, w urazach, zawałach, obrzękach mózgu, wodogłowie.

Oznaczenie stężenia mleczanów w PMR pozwala na różnicowanie zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych na tle bakteryjnym, grzybiczym lub gruźliczym >2,4 (mmol/l) od zapalenia na tle wirusowym 1,1-2,4 (mmol/l). Podwyższone stężenie mleczanów w PMR jest zwykle ściśle związane z obniżeniem stężenia glukozy w PMR. Analizowanie obu parametrów ma większą wartość diagnostyczną w diagnostyce bakteryjnego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych niż ocena tylko jednego z nich. Utrzymywanie się podwyższonego stężenia mleczanów w kolejnych oznaczeniach może świadczyć o uszkodzeniu mózgu. Im wyższe jest stężenie w PMR tym gorsze jest rokowanie. Najwyższe stężenia spotyka się w ropnym zapaleniu opon mózgowo-rdzeniowych [1,4].

14.1.3. Połączenie wskaźników laboratoryjnych i klinicznych jako metoda różnicowania bakteryjnego i wirusowego ZOMR.

Przy interpretacji otrzymanych wyników należy pamiętać o tym, że badanie ogólne oraz cytologiczne PMR niejednokrotnie nie pozwalają różnicować etiologii bakteryjnej od wirusowej ZOMR. Wprowadzono i zwalidowano dwa złożone wskaźniki, które mogą ułatwić to zróżnicowanie i podejmować najbardziej racjonalną decyzję odnośnie antybiotykoterapii. Należą do nich BMS-Bacterial Meningitis Score (Tab. 18) oraz Meningitest (Tab. 19). BMS obejmuje pięć charakterystycznych parametrów uwzględniających również objaw kliniczny jakim mogą być drgawki. Uzyskanie '0' punktów przemawia za prawdopodobnym aseptycznym ZOMR, liczba punktów '2-6' przewiduje bakteryjne ZOMR jako bardzo prawdopodobne. Wydaje się, że oba te narzędzia decyzyjne mają podobną wartość i mogą być stosowane zamiennie [1, 6, 7].

Tabela. 18. Wykaz parametrów dla Bacterial Meningitis Score (BSM*).

Parametr	Punkty
Pozytywny wynik barwienia met. Grama	2
Stężenie białka całkowitego (TP) >80 mg/dl	1
Neutrofile w PMR >1000 w mikrolitrze	1
Neutrofile w morfologii > 10 000 w mikrolitrze	1
Drgawki	1

*0 punktów - prawdopodobne aseptyczne ZOMR, 2-6 punktów - prawdopodobne bakteryjne ZOMR

Meningitest z czułością 96-100% wskazuje na bakteryjne ZOMR w przypadku spełnionego któregośkolwiek z 7 wymienionych parametrów:

Tabela 19. Wykaz parametrów dla wskaźnika Meningitest.

1.	Pozytywny wynik barwienia Gramem
2.	Stężenie białka całkowitego (TP) >50 mg/dl
3.	Stężenie prokalcytoniny (PCT) > 0,05 ng/dl
4.	Neutrofile w PMR >1000 w mikrolitrze
5.	Neutrofile w morfologii > 10 000 w mikrolitrze
6.	Plamica
7.	Drgawki

14.1.4. Badanie cytologiczne

Badanie cytologiczne obejmuje zmierzoną cytozę oraz ocenę morfologiczną komórek czyli cytogram. Obecnie do pomiaru komórek w badanym PMR stosuje się wysoko czułe analizatory hematologiczne ze specjalnym kanałem pomiarowym dedykowanym płynom ustrojowym (BF-ang. Body Fluids). Podany wynik zawiera liczbę leukocytów w mikrolitrze (WBC-BF), całkowitą liczbę komórek jądrzastych (TC-BF) oraz liczbę erytrocytów (RBC-BF). Pomiar umożliwia rozdział leukocytów na dwie grupy komórkowe bez różnicownia. Grupę mononuklearów MN (limfocyty, monocyty) oraz polinuklearów PMN (neutrofile, eozynofile). Zróżnicowanie obu grup jest możliwe po wykonaniu preparatów barwionych najczęściej metodą MGG (May-Grunewald-Giemsza). Cytogram jest liczony i oceniany jakościowo pod mikroskopem świetlnym przez doświadczoną diagnostę. Liczy się 100 napotkanych komórek jądrzastych podając na wyniku ich udział procentowy oraz opis. W przypadku braku w laboratorium analizatora z kanałem do pomiaru cytozy w płynach ustrojowych stosuje się metodę liczenia cytozy w kamerze Fusch-Rosenthal'a. Żaden system automatyczny nie identyfikuje komórek atypowych (patologicznych) t.j. limfocytów reaktywnych, komórek blastycznych, nowotworowych, syderofagów i in., które nie występują w prawidłowym PMR [1,4].

Tabela.20. Liczba komórek jądrzastych w prawidłowym PMR w zależności od wieku.

Wiek	Zakres referencyjny (liczba komórek w mikrolitrze)
< 12 miesięcy	0-30
1-4 lata	0-20
5-18 lat	0-10
> 81 lat	0-5

Tabela.21. Udział procentowy (%) leukocytów w prawidłowym PMR w zależności od wieku.

Wiek	Neutrofile (%)	Limfocyty (%)	Monocyty (%)
Noworodki 0-2 miesiące	0-8	5-35	50-90
Dzieci (2 miesiące-18 lat)	Brak danych	Brak danych	Brak danych
Dorośli > 18 lat	0-6	40-80	15-45

Tabela. 22. Parametry mierzone w PMR metodą automatyczną na analizatorach hematologicznych.

Parametr	Metoda	Analizator	Zakres wartości referencyjnych dla płynu prawidłowego	Całkowity błąd dopuszczalny TEA	Czas oczekiwania na wynik
Całkowita liczba komórek jądrzastych TC-BF	Fluorescencyjna cytometria przepływowa	Analizator hematologiczny z kanałem pomiarowym BF (Body Fluids)	n/d	n/d	Badanie wykonywane w ciągu jednej godziny
Całkowita liczba krwinek białych WBC-BF	Fluorescencyjna cytometria przepływowa	Analizator hematologiczny z kanałem pomiarowym BF (Body Fluids)	0-5 komórek w mikrolitrze	n/d	Badanie wykonywane w ciągu max. jednej godziny
Procentowy udział komórek o jądrze jednopłatomym (MNM%)	Fluorescencyjna cytometria przepływowa	Analizator hematologiczny z kanałem pomiarowym BF (Body Fluids)	n/d	n/d	Badanie wykonywane w ciągu max. jednej godziny
Liczba komórek o jądrze jednopłatomym w mikrolitrze (MNM #)	Fluorescencyjna cytometria przepływowa	Analizator hematologiczny z kanałem pomiarowym BF (Body Fluids)	n/d	n/d	Badanie wykonywane w ciągu max. jednej godziny

Procentowy udział komórek o jądrze wielopłatowym (PNM%)	Fluorescencyjna cytometria przepływowa	Analizator hematologiczny z kanałem pomiarowym BF (Body Fluids)	n/d	n/d	Badanie wykonywane w ciągu max. jednej godziny
Liczba komórek o jądrze wielopłatowym w mikrolitrze (PNM #)	Fluorescencyjna cytometria przepływowa	Analizator hematologiczny z kanałem pomiarowym BF (Body Fluids)	n/d	n/d	Badanie wykonywane w ciągu max. jednej godziny
Liczba krwinek czerwonych w mikrolitrze (RBC-BF #)	Fluorescencyjna cytometria przepływowa	Analizator hematologiczny z kanałem pomiarowym BF (Body Fluids)	nieobecne	n/d	Badanie wykonywane w ciągu max. jednej godziny

14.2. Prawidłowy i zmieniony zapalenie PMR

Prawidłowy płyn mózgowo-rdzeniowy jest wodojasny, przejrzysty z parametrami biochemicznymi w zakresie wartości referencyjnych (Tab. 16 i 17) i cytozą do pięciu komórek jądrystych. W tabelach poniżej (Tab. 23 i 24) przedstawiono zmiany, które mogą towarzyszyć zakażeniu bakteryjnemu, wirusowemu, boreliozie i kile OUN [1,4].

Tabela. 23. Wynik badania ogólnego PMR w bakteryjnym i wirusowym zakażeniu OUN.

Parametr badania ogólnego	Bakteryjne ZOMR	Wirusowe ZOMR
Barwa	Żółta, jasnomleczna	Wodojasna
Przejrzystość	Mętny, czasem z opalescencją	Przejrzysty
Stężenie białka	Często > 100 mg/dl	Norma/nieznacznie podwyższone
Stężenie glukozy/współczynnik Glu	Obniżone/<0,4	Norma/>0,6
Stężenie chlorków	Obniżone	Norma/obniżone
Stężenie mleczanów	Podwyższone	Norma/obniżone
Cytoza	Kilkaset i >1000 kom/mikrolitr	Kilka-kilkaset kom/mikrolitr
Cytogram	Dominują neutrofile	Dominują limfocyty

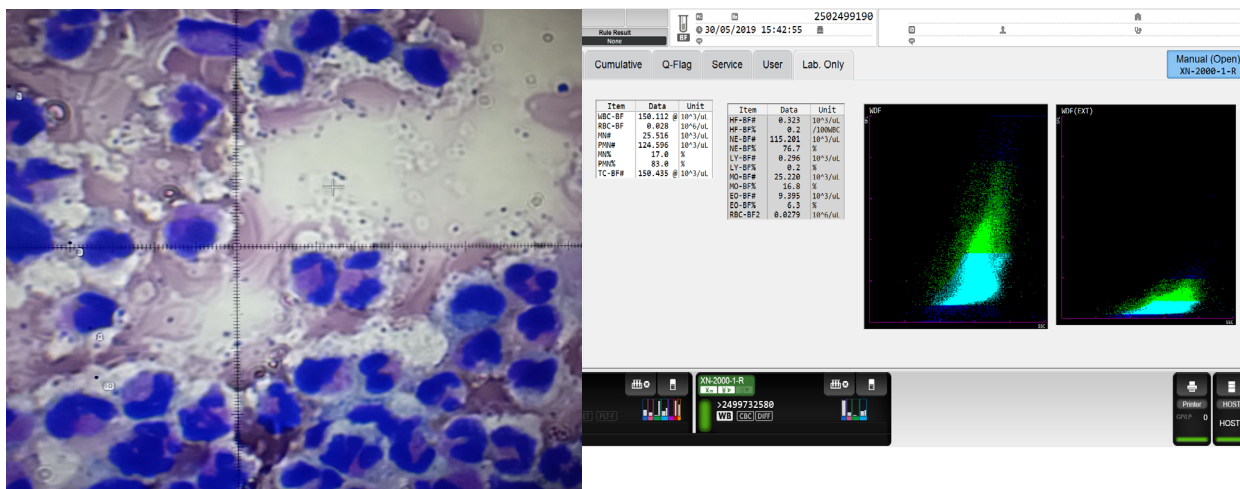
Tabela. 24. Wynik badania ogólnego PMR w neuroborelioze i kile OUN.

Parametr badania ogólnego	Neuroborelioza	Kiła OUN
Barwa	Wodjasna/jasnożółta	Wodjasna
Przejrzystość	Przejrzysty, czasem z opalescencją	Przejrzysty
Stężenie białka	Norma czasem podwyższone	Często podwyższone
Stężenie glukozy/współczynnik Glu	Norma/>0,6	Norma, czasem obniżone/>0,6
Stężenie chlorków	Norma/obniżone	Norma/obniżone
Stężenie mleczanów	Norma	Norma/obniżone
Cytoza	Kilkadziesiąt–kilkaset kom./mikrolitr	Kilkadziesiąt komórek/mikrolitr
Cytogram	Odczyn limfocytarny lub limfocytarno-monocytarny, limfocyty z jąderkami,	Dominują limfocyty

Poza parametrami biochemicznymi, które szczególnie w bakteryjnym ZOMR ulegają istotnej zmianie na uwagę zasługuje cytoza (pleocytoza) wraz z opisem. Morfologia neutrofilów i limfocytów wnosi wiele cennych danych, które mogą i powinny szczególnie przy limfocytozach skierować uwagę na fenotypowanie. Również neutrofile z wodniczkami i z ziarnistością toksyczną wskazują na ciężki przebieg i towarzyszą wysokim stężeniom CRP. Istotne jest w tym przypadku monitorowanie zmian w stężeniu CRP i PCT pamiętając o ich czasach półtrwania przy zastosowanej antybiotykoterapii. Zakażenia wirusowe przy limfocytozie w PMR, czasem mogą wykazywać nieznaczny wzrost neutrofilii w morfologii krwi obwodowej, nie dając znamiennych wzrostów w stężeniach białek ostrej fazy [1,3,4].

Tabela. 25. Wynik badania pacjenta ze stwierdzonym bakteryjnym ZOMR (przykład nr 1).

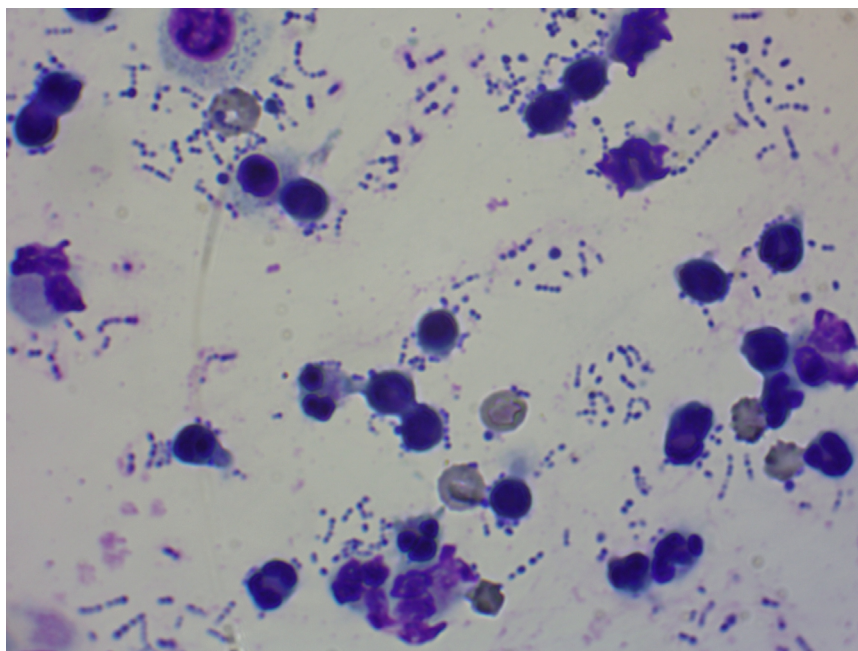
Badany parametr	Wynik badania
Barwa	Jasnożółta
Przejrzystość	Mętny
Stężenie białka	120 mg/dl
Stężenie glukozy	24 mg/dl
Stężenie chlorków	114 mmol/l
Stężenie mleczanów	17 mmol/l
Cytoza PMR: Całkowita liczba komórek jądrzastych	150 (komórek w mikrolitrze)
Cytogram	96% neutrofile, 4% monocyty
PCT /CRP	357 ng/ml/ 120 mg/dl
Hodowla	<i>Streptococcus pneumoniae</i> (+)



Ryc. 15. Preparat w/w pacjenta barwiony met. MGG pow.1000x widoczna neutrofilia oraz bakterie (+) zdiagnozowane w badaniu mikrobiologicznym oraz rozdział automatyczny z cytozą > 100 G/L (przykład nr 1)

Tabela.26. Wynik badania pacjenta z stwierdzonym bakteryjnym ZOMR; objętość badanego PMR 3 ml (przykład nr 2).

Badany parametr	Wynik badania
Przejrzystość	Lekko mętny
Przejrzystość po wirowaniu	Przejrzysty
Barwa	Wodojasna
Barwa po wirowaniu	Wodojasna
Odczyn Nonne-Apelta	(+) dodatni
Odczyn Pandy’ego	(+++) dodatni
Białko całkowite PMR	349,0 mg/dl
Glukoza PMR	<2 mg/dl
Chlorki PMR	114 mmol/l
Mleczany PMR	14,3 mmol/l
Cytoza PMR: Całkowita liczba komórek jądrzastych	1278 (komórek w mikrolitrze)
Całkowita liczba krwinek białych (WBC)	1277 (komórek w mikrolitrze)
Liczba komórek o jądrze jednopłatomym (MN)	75 (komórek w mikrolitrze)
Procentowy udział komórek o jądrze jednopłatomym	5,9 (%)
Liczba komórek o jądrze wielopłatomym (PMN)	1202 (komórek w mikrolitrze)
Procentowy udział komórek o jądrze wielopłatomym	94,1 (%)
Liczba krwinek czerwonych (RBC)	0,001 T/l



Ryc.16. Przykład wyniku badania ogólnego PMR w/w 54 letniej pacjentki z zakażeniem *Streptococcus pneumoniae* potwierdzonym badaniem mikrobiologicznym. Widoczne zdjęcie neutrofilii (rozdział automatyczny: 94,1 %, 1202 komórki w mikrolitrze) oraz licznych bakterii z cytospinu barwionego metodą MGG (May Grünwalda–Giemsy); pow.1000x (przykład 2)

14.3. Czynniki wpływające na wynik badania PMR

14.3.1. Czynniki przedlaboratoryjne

Tabela.27. Wpływ czynników przedlaboratoryjnych na wynik badania [1,4].

CZYNNIK	EFEKT
Pobranie do probówki z wykrzepiaczem	Fałszywa cytoza
Niewłaściwa objętość płynu <1,0 ml	Zmniejszona liczba danych na wyniku
Pobranie traumatyczne	Wzrost stężenia TP, obecność RBC, wzrost cytozy
Pobranie do probówki z wykrzepiaczem	Fałszywa cytoza
Pobranie z heparyną inną niż litowa	Wpływ na parametry biochemiczne szczególnie chlorki
Wstrząsanie próbką	Rozpad komórek, przy obecnych RBC uwalnianie Hb i fałszywy wzrost TP
Opóźnienie dostarczenia	Rozpad komórek, fałszywy wzrost TP i spadek Glu
Antybiotykoterapia	Wpływ na hodowlę, brak wpływu na cytozę gdy płyn pobrany <24 h od ich podania

14.3.2. Czynniki laboratoryjne

Tabela.28. Wpływ czynników laboratoryjnych na wynik badania [1].

CZYNNIK	EFEKT
Niewymieszana próbka przed badaniem ogólnym	Fałszywa ocena barwy, przejrzystości i cytozy
Niewłaściwe warunki wirowania płynu do cytogramu	Rozpad komórek
Błąd pomiaru - rzadko - (niewłaściwe dozowanie przez aparat, błąd odczytu kolorymetrycznego)	Często fałszywie niskie stężenia

14.4. Badanie ogólne krwi

Badania laboratoryjne pod pojęciem -badania ogólne krwi- obejmują w przypadku pacjentów z podejrzeniem ZOMR morfologię z rozdziałem automatycznym i często rozmazem (krew pobrana na wersenian potasu), biochemię z białkiem CRP i prokalcytoniną PCT (pobranie na skrzep), często OB oznaczane w krwi pobranej na cytrynian [4].

14.4.1. Morfologia z rozdziałem automatycznym i rozmazem

W zakażeniach bakteryjnych często spotyka się neutrofilie (> wart.ref.) z obecnością frakcji niedojrzałych granulocytów (IG #, %). Zaobserwować można nieznaczna nadpłytkowość a w zależności od wieku pacjenta i chorób towarzyszących niedokrwistość najczęściej normocytarną. Penie obserwowane są w sepsach, w niektórych chorobach hematologicznych oraz po chemii. Oceny profilu granulocytów obojętnochłonnych, (powinny być obecne pałki i nieliczne mielocyty) można dokonać wykonując rozmaz mikroskopowy (czas). Rozmaz pozwala wykazać obecność ziarnistości toksycznych w neutrofilach, która często wyprzedza wzrost BOF. Limfocytozy w rozdziałach 5Diff powinny być zawsze ocenione mikroskopowo. Pacjenci z ZOMR rzadko ją rozwijają. Jest ona charakterystyczna dla mononukleozy, przewlekłej białaczki limfocytowej, cytomegalii i innych [4].

14.4.2. OB

Szybkość opadania krwinek czerwonych powszechnie znana pod nazwą odczynu Biernackiego (OB) jest czułym ale nieswoistym wykładnikiem stanu zapalnego wyrażanym w mm/godz. Wartość referencyjna zależy od metody i wieku. Powszechnie w laboratoriach można spotkać metodę manualną dającą odczyt po godzinie (czas) oraz metody automatyczne (Alifax, Sarsted S2000), z których część znacznie skraca czas oczekiwania na wynik. Na wynik opadania krwinek czerwonych w czasie ma wpływ obecność fibrynogenu, alfa-, beta globulin oraz immunoglobulin.

Należy pamiętać, że wysokie/podwyższone wartości OB są charakterystyczne dla pacjentów ze szpiczakiem, w kolagenozach, w RZS, ciąży i wielu innych, ale przyspieszone OB wyprzedzają zwykle inne wykładniki stanu zapalnego (nadpłytkowość, leukocytoza, prokalcytonina, CRP) [4,8].

14.4.3. CRP

Białko C-reaktywne (CRP) jest produkowane w wątrobie przy udziale IL-6 w odpowiedzi na obecność bakterii. Białko to uaktywnia klasyczną drogę dopełniacza uzyskując znaczący wzrost w 6 godzinie od pojawienia się patogenu. Wartość maksymalną obserwuje się w pierwszej i drugiej dobie. W zakażeniach wirusowych nie spotyka się istotnie podwyższonych stężeń CRP, wyjątkami są nadkażenia z obecną dodatkowo neutrofilią i ziarnistościami toksycznymi oraz limfocytami atypowymi rozpoznawanymi w rozmazie mikroskopowym.

W sepsie, ostrych zakażeniach bakteryjnych oraz bakteryjnym ZOMR obserwuje się trzycyfrowe wzrosty CRP. Oznaczenie CRP wykonywane jest w surowicy i powinno być wydane do godziny w trybie CITO (nie istnieją istotne czynniki interferujące w oznaczeniu) [4].

14.4.4. PCT

Prokalcytonina (PCT) to białko produkowane w odpowiedzi na stan zapalny przez wiele komórek organizmu. Czynnikiem stymulującym jest ściana komórkowa bakterii oraz mediatory reakcji zapalnej. Stężenie PCT rośnie wcześniej niż CRP, bo już w trzeciej godzinie od zadziałania czynnika prozapalnego osiągając maksymalne wartości w 6/8 godzinie.

Oznaczenie PCT wykonywane jest w surowicy i powinno być wydane do godziny w trybie CITO (nie istnieją istotne czynniki interferujące w oznaczeniu). Morfologia krwi z rozdziałem automatycznym i rozmazem w połączeniu z CRP i PCT są istotne w diagnozowaniu i monitorowaniu BZOMR i wirusowego ZOMR. Na uwagę klinicystów zasługuje IL-6, której wprowadzenie do oznaczeń nie zostało jeszcze powszechnie uznane. Nie wszystkie laboratoria dysponują również tym testem [1,2].

14.4.5. IL-6

Interleukina-6, (IL-6) jest cytokiną pierwotnie opisaną jako interferon- β 2, czynnik wzrostu plazmocytozy oraz czynnik stymulujący hepatocyty. Ostatnio jej oznaczanie staje się powszechne w ujęciu zakażeń septycznych i stanów zapalnych. Wytwarzanie IL-6 szybko wzrasta w przebiegu reakcji związanych z ostrą postacią zapalenia, z urazem, stresem, zakażeniem, śmiercią mózgową, procesami nowotworowymi i in. Stężenie IL-6 u pacjentów z urazem może być czynnikiem predykcyjnym dotyczącym późniejszych komplikacji spowodowanych dodatkowo stresem operacyjnym lub sugerować obecność niezauważonych urazów lub powikłań. Oznaczanie, co pewien czas stężenia IL-6 w surowicy lub osoczu pacjentów przyjętych na OIOM wykazało swoją przydatność w ocenie SIRS (zespół systemowej odpowiedzi zapalnej), sepsy lub wstrząsu septycznego oraz jako czynnika predykcyjnego u tej części pacjentów. IL-6 jest również przydatnym markerem ostrzegawczym w wykrywaniu sepsy w przebiegu choroby nowotworowej [1,4,9,10].

Piśmiennictwo:

1. Brunzel NA. Diagnostyka laboratoryjna moczu i innych płynów ustrojowych. Kemon H, Mantur M (red.) Urban &Partner; wydanie trzecie, Elsevier Saunders 2023.
2. Brunstein J. Special sample types: CSF. MLO Med Lab Obs 2017;49: 24,26.
3. Wright BLC, Lai JTF, Sinclair AJ. Cerebrospinal fluid and lumbar puncture: a practical review. J Neurol 2012; 259: 1530-1545.
4. A.Dembińska I wsp. Diagnostyka Laboratoryjna z elementami chemii klinicznej wyd.5.
5. Teunissen CE, Petzold A, Bennett LJ i wsp. A consensus protocol for the standardization of cerebrospinal fluid collection and biobanking. Neurology 2009;73: 1914-1922.
6. Brunstein J. Special sample types: CSF. MLO Med Lab Obs. 2017; 49: 28 -30.
7. Gonzales BE, Mercado CK, Johnson L i wsp. Early markers of lateonset sepsis in premature neonates: clinical, hematological and cytokine profile. J Perinat Med 2003;31:60-68.
8. Wright BLC, Lai JTF, Sinclair AJ. Cerebrospinal fluid and lumbar puncture: a practical review. J Neurol 2012; 259: 1530-1545.
9. Park JY, Pillinger MH. Interleukin-6 in the Pathogenesis of Rheumatoid Arthritis. Bull NYU Hosp Jt Dis 2007;65: 4-10.
10. Bone RC, Balk RA, Cerra FB i wsp. Definitions for sepsis and organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. The ACCP/SCCM Consensus Conference Committee. American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine. Chest. 1992; 101: 1644-55.

15. IDENTYFIKACJA CZYNNIKA ETIOLOGICZNEGO ZAKAŻEŃ OUN

Diagnostyka bakteriologiczna zakażeń obejmuje badanie mikroskopowe preparatu z materiału klinicznego (PMR, krew, zmiany skórne, punktaty, inne) i z hodowli drobnoustroju, barwionego najczęściej metodą Grama i błękitem metylenowym, posiew na odpowiednie podłoża mikrobiologiczne w celu wyhodowania czynnika etiologicznego zakażenia oraz diagnostykę serologiczną i molekularną (bezpośrednio z materiału klinicznego i wyhodowanego drobnoustroju).

Uzyskanie pozytywnej hodowli pozostaje nadal metodą „gold standard” dla najważniejszych czynników etiologicznych zakażeń OUN, ponieważ pozwala nie tylko na identyfikację drobnoustroju odpowiedzialnego za zakażenie, ale również na jego pełną charakterystykę fenotypową (antybiogram w celu wdrożenia celowanej terapii antybiotykowej), serologiczną (w zależności od drobnoustroju ustalenie grup, typów, podtypów serologicznych) oraz genetyczną.

Wszystkie wyniki uzyskiwane na poszczególnych etapach identyfikacji mikrobiologicznej i oznaczania wrażliwości na leki powinny być **na bieżąco** przekazywane lekarzowi prowadzącemu lub dyżurnemu. Wyniki wszystkich badań należy zapisywać w książce laboratoryjnej/systemie informatycznym.

15.1. Posiew PMR

Badanie PMR u pacjentów z podejrzeniem zakażenia OUN należy do najważniejszych i priorytetowych w laboratorium mikrobiologii klinicznej.

Dlatego tak duży nacisk kładzie się na prawidłowy i szybki transport próbki do laboratorium mikrobiologicznego, szybkie opracowanie PMR i właściwą identyfikację czynnika etiologicznego. Wykonanie preparatu i założenie hodowli powinny być czynnościami wykonywanymi **natychmiast** po otrzymaniu przez laboratorium PMR [1-5].

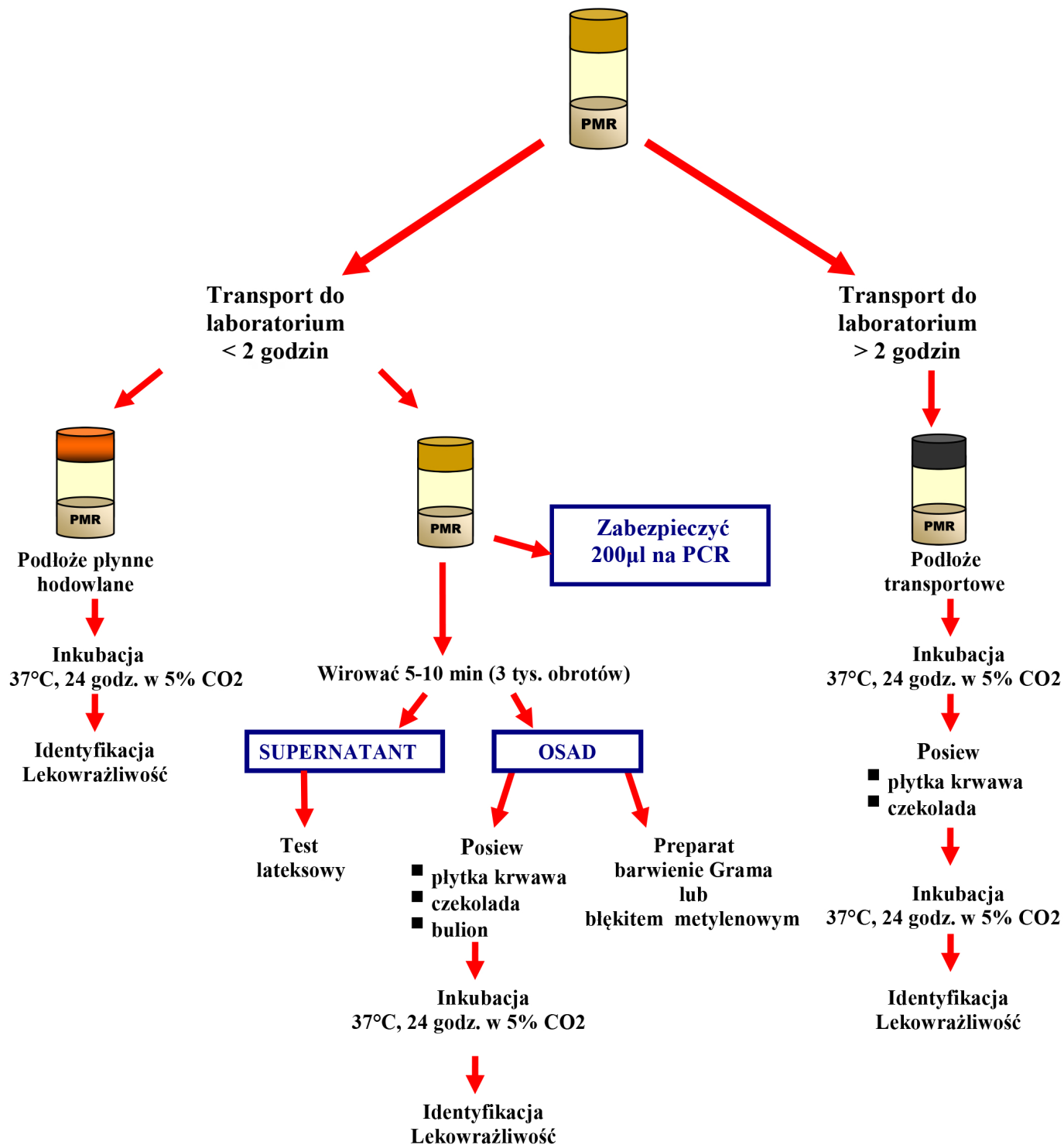
Jeśli w czasie najbliższych 2 godzin od pobrania transport PMR do laboratorium nie jest możliwy lub w przypadku, gdy badanie mikrobiologiczne nie może być wykonane przez mikrobiologa (brak dyżurów), pracownicy laboratorium analitycznego bądź oddziału, gdzie pobrano PMR, muszą być zobowiązani do natychmiastowego wykonania testów lateksowych, wykonania z odwirowanego jałowo płynu barwionych preparatów mikroskopowych (metodą Grama, błękitem metylenowym), posiania PMR na podłoża wzrostowe (agar krwawy, czekoladowy, bulion, butelki hodowlane) oraz zabezpieczenia PMR do identyfikacji z wykorzystaniem metod molekularnych opartych na amplifikacji kwasów nukleinowych.

Ponieważ możliwe jest zanieczyszczenie hodowli, która nie jest zakładana przez mikrobiologów, alternatywą dla postępowania opisanego powyżej może być posiewanie PMR i innych materiałów z jałowych miejsc ciała na podłoża do posiewów krwi, którymi dysponuje pracownia mikrobiologiczna. Podłoża te są na tyle bogate, że zabezpieczają wzrost drobnoustrojów o wysokich wymaganiach wzrostowych. **Przy takim podejściu traci się jednak możliwość sporządzenia preparatu bezpośredniego, który może być bardzo pomocny, a nawet decydujący w pierwszym etapie postępowania diagnostycznego i terapeutycznego.** Takie działanie wyklucza również możliwość wykonania badania molekularnego w celu ustalenia czynnika etiologicznego zakażenia, dlatego nie jest rekomendowane. Te uwagi odnoszą się także do stosowania podłoża transportowego w przypadkach braku bezpośredniego dostępu do laboratorium diagnostycznego w szpitalu.

Optymalnie do każdego badania bakteriologicznego wymagany jest przynajmniej 1 ml PMR. Jeśli oprócz rutynowej hodowli niezbędne są dodatkowe badania, przed wirowaniem należy połowę objętości PMR umieścić w osobnej jałowej probówce (badanie w kierunku grzybów). W każdym przypadku podjęcia rutynowej diagnostyki mikrobiologicznej należy zabezpieczyć, co najmniej 200 µl nieodwirowanego PMR do diagnostyki molekularnej.

UWAGA!

Posianie PMR na podłoża do posiewów krwi i inne podłoża mikrobiologiczne nie zwalnia od zabezpieczania próbki PMR do ewentualnej identyfikacji czynnika etiologicznego z wykorzystaniem metod molekularnych opartych na amplifikacji kwasów nukleinowych.



Ryc. 17. Schemat postępowania diagnostycznego z próbką PMR

15.1.1. Zagęszczanie PMR

Opracowanie prawidłowo dostarczonego do laboratorium PMR należy rozpocząć od procedury zagęszczania (wirowanie lub przesączenie). Wirowanie PMR zwiększa szansę wykrycia drobnoustrojów w preparacie i uzyskanie hodowli, gdyż rzadko można zaobserwować drobnoustroje w PMR bez jego zagęszczenia. PMR należy wirować od 5-10 min. przy obrotach 3000 x g, w temp. pokojowej. Wirówka cytospin używana przez niektóre laboratoria nawet 100-krotnie zwiększa szansę wykrycia bakterii. Jest to urządzenie służące do wirowania płynnych materiałów biologicznych. W wirówce typu cytospin PMR najlepiej wirować 15 minut przy obrotach 1000 x g. Dużą zaletą cytospinu jest to, że nie tylko zwiększa prawdopodobieństwo zobaczenia bakterii w preparacie bezpośrednim dzięki zagęszczaniu próbki, lecz również leukocyty znajdujące się w PMR zachowują swoją morfologię.

- Po odwirowaniu PMR należy ściągnąć **klarowny supernatant do jałowej probówki i zabezpieczyć w lodówce do badania testami lateksowymi**. Probówkę należy dokładnie opisać.
- Po odciążeniu supernatantu osad komórek pozostawić w probówce wraz z niewielką ilością supernatantu w celu zawieszenia uzyskanego osadu. Probówkę należy dokładnie opisać.
- Jeśli po wirowaniu osad komórek nie jest widoczny okiem nieuzbrojonym należy pozostawić kilka, 6-7 kropli płynu na dnie probówki, w której wirowano PMR, a supernatant przenieść ostrożnie do jałowej probówki. Z pozostałego supernatantu i osadu należy sporządzić jednorodną zawiesinę.
- Osad/zawiesina osadu uzyskana po odwirowaniu PMR służy w pierwszej kolejności do posiewu na podłoża wzrostowe, a następnie do sporządzania preparatu barwionego metodą Grama lub inną stosowaną w laboratorium. Objętość zawiesiny powinna umożliwić umieszczenie jednej kropli na każdym podłożu i szkiełku do preparatu.
- Probówkę z pozostałą po wykonaniu preparatu zawiesiną należy zabezpieczyć w cieplarni, gdyby okazało się, że np. po obejrzeniu preparatu bezpośredniego należy założyć hodowlę na dodatkowych podłożach.
- **Jeżeli do badania mikrobiologicznego dostępne jest mniej niż 1 ml PMR, preparat i posiew wykonujemy z próbki nieodwirowanej.**

UWAGA!

Z odwirowanego PMR wykonuje się preparat bezpośredni oraz zakłada hodowlę, natomiast supernatant służyć może do wykrywania antygenów otoczkowych, najczęściej metodą aglutynacji lateksu opłaszczonego swoistymi przeciwciałami.

Zamiast wirowania można 2 ml PMR sączyć przez sterylny sączek o średnicy porów 0,45 mm. Odwrócony sączek kładzie się następnie na podłożu selektywne.

15.1.2. Postępowanie z PMR

- Rutynowo, podejrzewając etiologię bakteryjną lub grzybiczą, PMR posiewa się na:
 - **płynne podłoża** hodowlane do systemów automatycznych (butelki z podłożem do hodowli bakterii tlenowych i butelki do hodowli beztlenowców) w pierwszej kolejności należy posiać butelkę tlenową),
 - **stałe podłoże** krwawe, podłoże Saburoud, wzbogacone czekoladowe oraz na bogaty bulion (np. tioglikolanowy czy z wyciągiem mózgowo-sercowym).
- Jeśli w preparacie bezpośrednim obserwuje się Gram-ujemne pałeczki, które mogą należeć do rodziny *Enterobacteriales*, pozostały PMR można posiać na podłoże MacConkey'a i inkubować w 35°C w atmosferze 5% CO₂. Jeśli natomiast w preparacie bezpośrednim stwierdzono obecność bakterii morfologicznie podobnych do beztlenowców lub tym bardziej, gdy wiadomo, że pacjent jest obciążony czynnikami ryzyka zakażenia bakteriami beztlenowymi, do posiania PMR powinna być dołączona płytka z podłożem lub podłoże płynne umożliwiające wzrost beztlenowców (inkubować w 35°C w warunkach beztlenowych).
- Zawiesinę posianą na podłoża należy rozprowadzić po ich powierzchni, a płytki inkubować w 35°C w atmosferze 5% CO₂.
- Po 18-24 godzinach inkubacji, należy sprawdzić wzrost drobnoustrojów na płytkach. W razie wzrostu należy rozpocząć identyfikację czynnika etiologicznego.

UWAGA!

Gdy po 24 godz. hodowla jest ujemna, inkubację należy przedłużyć o dalsze 72 godz. (zalecenie WHO) i jednocześnie należy przesłać próbkę zabezpieczoną na PCR do laboratorium wykonującego diagnostykę molekularną.

- Gdy w preparacie obserwowano bakterie, a hodowla po 72 godz. jest ujemna niektórzy autorzy zalecają przedłużenie inkubacji o dalsze 4 dni.
- Jeśli używano bulion tioglikolanowy i zaobserwowano jakiegokolwiek zmętnienie należy wykonać preparat barwiony metodą Grama oraz posiać bulion na podłoże czekoladowe, niezależnie od wyniku pierwotnych hodowli. W przypadku braku wzrostu w bogatym bulionie hodowlę należy zakończyć po 5 dniach.
- Należy pamiętać o naturalnych preferencjach wzrostowych drobnoustrojów; np. *H. influenzae* i *N. meningitidis* najlepiej rosną po bezpośrednim posiewie zagęszczonego PMR na wzbogacone podłoże stałe, natomiast *S. pneumoniae* najlepiej rośnie w podłożu bulionowym.
- W przypadku posiania PMR na podłoża do posiewów krwi (butelki z podłożem w kierunku bakterii tlenowych i bez-tlenowych), dalszy tok diagnostyczny należy przeprowadzić tak jak dla posiewów krwi (patrz poniżej).

Piśmiennictwo:

1. Cerebrospinal Fluid Cultures W: Leber AL, Burnham CAD. Clinical Microbiology, Procedures Handbook 2023, Fifth Edition; Volumen 1; 3.5.1.
2. Tunkel AR. Bacterial meningitis, Cerebrospinal fluid examination. W: Mandell Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Eight ed. Philadelphia PA: Elsevier; 2015: 1119.
3. Investigation of Cerebrospinal Fluid. UK Standards for Microbiology Investigations, Public Health England 2017; B 27; Issue no: 6.1; 1-29. [B 27–Investigation of Cerebrospinal Fluid \(publishing.service.gov.uk\)](https://www.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/628222/UKSMI-B27-2017-06-1-29.pdf) dostęp 12.12.2023.
4. CDC. Chapter 8: Identification and characterization of *Streptococcus pneumoniae* in *Laboratory methods for the diagnosis of meningitis caused by Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, and Haemophilus influenzae* (Second Edition, 2011).
5. Popovic T, Ajello GW, Facklam RR. Laboratory methods for the diagnosis of meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*.; Centers for Disease Control and Prevention (U.S.); National Center for Infectious Diseases (U.S.); World Health Organization; 1998.

15.1.3. Przygotowywanie preparatu mikroskopowego z PMR

Przygotowywanie preparatów powinno odbywać się natychmiast po założeniu hodowli, aby uniknąć przypadkowych zanieczyszczeń materiału klinicznego podczas sporządzania preparatu mikroskopowego.

- Celem zwiększenia szansy wykrycia drobnoustroju w preparacie (podobnie jak w hodowli) próbkę PMR należy odwirować w temperaturze pokojowej, w sterylnym, zamkniętym pojemniku 5-10 min przy obrotach 1200 x g lub przy użyciu cytowirówki, zgodnie z zaleceniami producenta. Po odwirowaniu uzyskany supernatant należy ściągnąć np. za pomocą jałowej pipetki do innej próbki (na dodatkowe badania), pozostawiając jego niewielką ilość w której zawieszony jest osad. Kroplę zawieszonego osadu nanieść na czyste odtłuszczone szkiełko podstawowe a następnie delikatnie rozprowadzić i odczekać aż do wyschnięcia preparatu [1,2].

Jeśli objętość przesłanego PMR nie przekracza 1ml wówczas preparat należy wykonać z próbki nieodwirowanej. Można wówczas przygotować tzw. wielowarstwowy preparat mikroskopowy, poprzez naniesienie i wysuszenie na szkiełku podstawowym 2-3 kolejnych kropeł PMR. W przypadku obecności skrzepów, jeśli możliwe należy je rozbić używając np. jałowej pipetki. Po wysuszeniu preparat utrwalić, przesuwając szkiełko 3-4 razy nad płomieniem palnika. Tak przygotowany preparat można barwić różnymi metodami, a obserwacja w obrazie mikroskopowym specyficznych form dla poszczególnych gatunków drobnoustrojów pozwala na wstępne ukierunkowanie diagnozy. Spośród metod barwienia najczęściej stosuje się metodę Grama, w przypadku podejrzenia gruźlicy OUN metodę Ziehl-Neelsena a przy podejrzeniu kryptokokozy można wykonać preparat bezpośredni w tuszu chińskim [1] .

Preparat należy wykonać i ocenić zaraz po wyschnięciu szkiełka. Obserwację odpowiednio przygotowanego preparatu należy prowadzić, przez co najmniej pół godziny, zmieniając pola widzenia. Należy pamiętać, że zarówno wynik dodatni, jak i ujemny wymaga **natychmiastowego** powiadomienia lekarza prowadzącego lub dyżurnego.

15.1.4. Barwienie metodą Grama

Barwienie metodą Grama jest najpowszechniej stosowaną metodą w laboratoriach mikrobiologicznych i stanowi podstawę klasyfikacji bakterii na Gram-dodatnie i Gram-ujemne, z uwagi na różnice w budowie ściany komórkowej tych bakterii. Obserwowany kształt, rozmiar oraz szczegóły strukturalne komórki stanowią wstępne, ważne wskazówki odnośnie rodzaju obecnych drobnoustrojów i sugerują, jakie dodatkowe metody można zastosować do ich scharakteryzowania. Z użyciem metody Grama obserwować można również grzyby drożdżopodobne, które barwią się Gram-dodatnio [3].

Metoda ta jest bardzo prosta i szybka, co jest niezwykle ważne w tak poważnych zakażeniach jak zakażenia OUN; z uwagi, na to, że wykonywana jest rutynowo praktycznie we wszystkich pracowniach bakteriologicznych, jej opis pominięto. W przypadku zautomatyzowanych systemów do barwienia metodą Grama należy postępować zgodnie z instrukcją producenta.

Ocenia się, że barwienie metodą Grama w diagnostyce bakteryjnych ZOMR, jest testem o czułości w zakresie od 60% do 90% i swoistości 97% [4]. Uzyskanie dodatniego wyniku zależy od badanej populacji pacjentów, liczby komórek bakteryjnych w PMR, typu mikroorganizmu, wcześniejszej ekspozycji na antybiotyki a także doświadczenia personelu laboratorium [5]. Wyniki fałszywie ujemne preparatów z PMR mogą wynikać z niskiej liczby bakterii. Prawdopodobieństwo wyniku pozytywnego barwienia metodą Grama koreluje ze stężeniem bakterii w PMR; liczba bakterii $\leq 10^3$ CFU w 1 ml płynu daje ok. 25% szansy na uzyskanie wyniku dodatniego, natomiast przy liczbie $\geq 10^5$ CFU/ml zwiększa się do 97% [6]. Szansa uzyskania dodatniego wyniku zależy także od rodzaju drobnoustroju i waha się od 90-97% (*S. pneumoniae*), poprzez 86-97% (*H. influenzae*), 75% (*N. meningitidis*), do poniżej 50% (*L. monocytogenes*) [7]. Niektóre z badań wskazują, że wydajność barwienia metodą Grama PMR może być zmniejszona u pacjentów leczonych wcześniej antybiotykami [5,7].

15.1.5. Barwienie błękitem metylenowym wg Loefflera

Barwienie z użyciem błękitu metylenowego jest metodą z wyboru w identyfikacji *Corynebacterium diphtheriae*, ale można je stosować, jako uzupełnienie barwienia metodą Grama, zwłaszcza w przypadku barwienia bakterii Gram-ujemnych, takich jak *Haemophilus influenzae* czy *Neisseria meningitidis* [4,5]. Błękit metylenowy jest kationowym barwnikiem, który nadaje niebieski kolor ujemnie naładowanym polifosforanowym częściom komórek (takim jak kwas rybonukleinowy). Wysuszony i utrwalony preparat pokrywa się roztworem błękitu metylenowego na 3 min., następnie spłukuje wodą i osusza. Preparat ogląda się pod immersją. W tym barwieniu uwidaczniany jest wzajemny stosunek elementów morfotycznych (limfocyty, leukocyty) i bakterii.

Skład roztworu do barwienia	
Nasycony roztwór błękitu metylenowego	30 ml
Woda destylowana	100 ml
1% roztwór KOH	1 ml

Przygotowanie nasyconego roztworu błękitu metylenowego: do 30 ml alkoholu etylowego należy dodawać błękit metylenowy do czasu aż przestanie się rozpuszczać, a jego nadmiar osiędzie na dnie naczynia.

Piśmiennictwo:

1. Investigation of Cerebrospinal Fluid. UK Standards for Microbiology Investigations, Public Health England 2017; B 27; Issue no: 6.1; 1-29. [B 27–Investigation of Cerebrospinal Fluid \(publishing.service.gov.uk\)](https://www.publishing.service.gov.uk/government/uploads/system/uploads/attachment_data/file/641111/b27-investigation-of-cerebrospinal-fluid.pdf) dostęp 12.12.2023.
2. Tunkel AR. Bacterial meningitis, Cerebrospinal fluid examination. W: Mandell Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Eight ed. Philadelphia PA: Elsevier; 2015: 1119.

3. Gram Stain W: Leber AL, Burnham CAD. *Clinical Microbiology, Procedures Handbook 2023, Fifth Edition; Volume 1; 3.2.1.*
4. Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan SL i wsp. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. *Clin Infect Dis* 2004; 39: 1267–1284.
5. Shahan B, Choi EY, Nieves G. Cerebrospinal Fluid Analysis. *Am Fam Physician*. 2021;103: 422-428. Erratum in: *Am Fam Physician*. 2021;103: 713.
6. La Scolea LJ Jr, Dryja D. Quantitation of bacteria in cerebrospinal fluid and blood of children with meningitis and its diagnostic significance. *J Clin Microbiol* 1984;19:187–190.
7. van de Beek D, Cabellos C, Dzupova O i wsp. ESCMID guideline: diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. *Clin Microbiol Infect*. 2016; 22: S37-62.

15.2. Bezpośrednie wykrywanie antygenów otoczkowych w PMR i innych płynach ustrojowych

Wykrywanie antygenów otoczkowych w diagnostyce zakażeń OUN znalazło zastosowanie dla bakteryjnych i grzybiczych (patrz rozdział 21.5) czynników etiologicznych tych zakażeń. W niniejszym rozdziale opisano testy lateksowe do diagnostyki bakteryjnego ZOMR.

Testy lateksowe (LA, ang. *latex agglutination*) służą do jakościowego wykrywania w płynach ustrojowych (PMR, płyny z jam ciała, surowica, moczu) wybranych antygenów, specyficznych dla najczęstszych czynników etiologicznych pozaszpitalnych zakażeń inwazyjnych, w tym ZOMR. Większość obecnych na rynku testów pozwala na wykrycie wybranych grup *N. meningitidis* (serogrupa A, B, C, W, Y), serotypu b *H. influenzae*, otoczkowych szczepów *S. pneumoniae*, *S. agalactiae* (GBS) czy *Escherichia coli* (serotyp K1) [1, 2]. Zasada metody polega na reakcji rozpuszczalnych, bakteryjnych antygenów polisacharydowych obecnych podczas zakażenia w płynach fizjologicznych z cząsteczkami lateksu opłaszczonymi swoistymi przeciwciałami. Obecność w materiale swoistych antygenów powoduje tworzenie się kompleksu antygen-przeciwcało, widocznego w postaci aglutynacji [3]. Niewątpliwą zaletą testów lateksowych jest fakt, że pozwalają one na wykrycie antygenów pochodzących również z martwych komórek bakteryjnych.

W każdym przypadku przeprowadzania testów lateksowych ważne jest, aby postępować zgodnie z instrukcją producenta. Oznaczenia należy wykonywać z próbek materiałów biologicznych, dla których test jest przeznaczony, zawsze należy zapoznać się z uwagami dotyczącymi interpretacji uzyskanych wyników oraz możliwymi ograniczeniami testu. Pomimo wielu zalet (szybkość, możliwość wykrycia antygenów z uszkodzonych lub zabitych komórek) wyniki testów lateksowych należy interpretować z dużą ostrożnością i rozwagą. Użyteczność LA zakwestionowana została w kilku opublikowanych raportach [4, 5]. Również ESCMID nie rekomenduje stosowania szybkich testów lateksowych, wskazując na to, że metoda ta nie jest bardziej przydatna niż barwienie metodą Grama [6]. Podawana w piśmiennictwie czułość i swoistość testów, dotyczy najczęściej przypadków, gdy wyniki barwienia Grama bądź hodowli są dodatnie [7]. W zależności od rodzaju mikroorganizmu zgłaszana czułość testów lateksowych w PMR wahała się w granicach 78-100% dla *H. influenzae*, dla *S. pneumoniae* 59–100%, a dla *N. meningitidis* 22–93% [8]. Nie należy zapominać o możliwości pojawienia się wyników zarówno fałszywie dodatnich jak i fałszywie ujemnych. Uzyskanie negatywnego wyniku testu w kierunku swoistego antygeny bakteryjnego nie wyklucza rozpoznania zakażenia, zarówno próbki zawierające nieznaczące ilości antygeny, jak i te z jego dużą zawartością, mogą dawać wyniki fałszywie ujemne. Wyniki fałszywie ujemne można uzyskać w przypadku bezotoczkowych szczepów *S. pneumoniae* oraz *H. influenzae* (bądź innego typu niż b) ponieważ testy lateksowe wykrywają obecność tych bakterii wyłącznie na podstawie antygenów otoczkowych. Fałszywie dodatnie wyniki mogą być skutkiem niespecyficznego reakcji krzyżowych, np. z czynnikiem reumatoidalnym, zhemolizowanymi erytrocytami czy białkiem obecnym w badanym materiale [9,10]. Obserwowano reakcje krzyżowe pomiędzy lateksem dla *H. influenzae*, a szczepami *Escherichia coli* K1 i *S. pneumoniae*, pomiędzy lateksem dla *S. pneumoniae* a szczepami z grupy *S. viridans*, lateksem *N. meningitidis* serogrupy C a *S. aureus* i *E. coli* [11]. Inne reakcje krzyżowe mogą być wynikiem złego przygotowania próbek lub też nieodpowiedniego wykonania testu.

Producenci testów podkreślają, że testy lateksowe są metodą przesiewową i powinny mieć charakter pomocniczy, jako wstępna diagnostyka bakteriologiczna. Każdy dodatni wynik testu powinien być potwierdzony, najlepiej posiewem bądź inną metodą diagnostyczną np. PCR lub preparatem. Otrzymane wyniki muszą być stosowane w powiązaniu z innymi danymi, takimi jak objawy, wyniki innych badań, obserwacje kliniczne [1,2].

Piśmiennictwo:

1. Wellcogen™ Bacterial Antigen Rapid Latex Agglutination Test, Bacterial Meningitis; Thermo Fisher Scientific <https://www.thermofisher.com/order/catalog/product/R30859602>; dostęp 12.12.2023.
2. PASTOREX™ MENINGITIS, BioRad, dostęp 12.12.2023. https://commerce.bio-rad.com/webroot/web/pdf/inserts/CDG/pl/61607_881193_PL.pdf
3. Tunkel AR, Hartman BJ, Kaplan S i wsp.. Practice guidelines for the management of bacterial meningitis. Clin Infect Dis 2004; 39:1267-1284.
4. Finlay FO, Witherow H, Rudd PT. Latex agglutination testing in bacterial meningitis. Arch Dis Child. 1995;73: 160-161.
5. Perkins MD, Mirrett S, Reller LB. Rapid bacterial antigen detection is not clinically useful. J Clin Microbiol. 1995;33: 1486-1491.
6. van de Beek D, Cabellos C, Dzupova O i wsp. ESCMID guideline: diagnosis and treatment of acute bacterial meningitis. Clin Microbiol Infect. 2016; 22: S37-62.
7. Tarafdar K, Rao S, Recco RA i wsp. Lack of sensitivity of the latex agglutination test to detect bacterial antigen in the cerebrospinal fluid of patients with culture-negative meningitis. Clin Infect Dis. 2001;33: 406-408.
8. Brouwer MC, Tunkel AR, van de Beek D. Epidemiology, diagnosis, and antimicrobial treatment of acute bacterial meningitis. Clin Microbiol Rev. 2010;23:467-492.
9. Smith LP, Hunter KW, Hemming VG i wsp. Improved detection of bacterial antigens by latex agglutination after rapid extraction from body fluids. J Clin Microbiol 1984; 20: 981-984.
10. Whittle HC, Egler LJ, Tugwell P i wsp. Rapid bacteriological diagnosis of pyogenic meningitis by latex agglutination. Lancet 1974; ii: 619-621.
11. Williams RG, Hart CA. Rapid identification of bacterial antigen in blood cultures and cerebrospinal fluid. J Clin Pathol 1988; 41: 691-693.

15.3. Identyfikacja drobnoustrojów z wykorzystaniem spektrometrii mas

Metoda spektrometrii mas MALDI TOF MS (ang. *Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*) jest coraz powszechniej wykorzystywana do gatunkowej identyfikacji drobnoustrojów w rutynowej diagnostyce mikrobiologicznej. Jest to metoda zautomatyzowana, umożliwiająca uzyskanie identyfikacji pojedynczego szczepu zaledwie w ciągu 3-5 minut. Zastosowanie tej metody umożliwia identyfikację różnych patogenów, w tym tych odpowiedzialnych za zakażenia ośrodkowego układu nerwowego, takich jak bakterie Gram-dodatnie, Gram-ujemne, drożdżaki, grzyby.

Metoda MALDI TOF MS oparta jest na analizie widma pików odpowiadających jonom białkowym i peptydowym o różnym stosunku masy cząsteczkowej do ładunku. W metodzie tej analizowane są głównie białka rybosomalne wyekstrahowane z komórek badanego szczepu.

Na skutek rozdziału spektralnego uzyskuje się automatycznie wygenerowane widmo białek badanego szczepu, które jest porównywane do widm wzorcowych różnych gatunków drobnoustrojów znajdujących się w tzw. bibliotece widm w oprogramowaniu analizatora. W wyniku analizy „najlepszego dopasowania” widma badanego, analizator przedstawia wynik badania identyfikacji w postaci nazwy gatunkowej drobnoustroju wraz z liczbowym współczynnikiem dopasowania (wskaźnik identyfikacji). Wartość wskaźnika identyfikacji wskazuje na prawdopodobieństwo właściwej identyfikacji, a tym samym na wiarygodność uzyskanej identyfikacji gatunkowej szczepu. W zależności od producenta analizatora, wskaźniki te mogą być prezentowane w różnej postaci (liczba, procenty). Biblioteki widm wzorcowych są stale uzupełniane o nowe gatunki drobnoustrojów, dzięki czemu możliwości identyfikacyjne metody spektrometrii mas przekraczają obecnie 2800 gatunków i stale powiększają się.

W zależności od zastosowanego sposobu ekstrakcji analizowanych białek, całkowity czas wykonania badania może ulec niewielkiemu wydłużeniu. Szczególnie dotyczy to identyfikacji grzybów, dla których proces izolacji białek wymaga przeprowadzenia nieco dłuższej procedury ekstrakcji. Producenci analizatorów wykorzystujących spektrometrię mas oferują także specjalne zestawy odczynnikowe, dzięki którym można identyfikować drobnoustroje pochodzące bezpośrednio z hodowli bulionowych, np. krwi. Odczynniki te służą do oddzielenia wyhodowanych bakterii od innych składników morfotycznych obecnych w pożywce bulionowej. Wyizolowany szczep jest następnie poddawany właściwemu procesowi identyfikacji. W

porównaniu do klasycznych metod identyfikacji (metoda mikroskopowa, metoda biochemiczna), ten sposób postępowania znacznie skraca czas uzyskania informacji o czynniku infekcyjnym, co jest szczególnie istotne dla zakażeń OUN. Na uwagę zasługuje fakt, że wybór sposobu ekstrakcji białek wpływa na poprawność identyfikacji i jej wiarygodność mierzoną wartością wskaźnika identyfikacji. Istotne jest także to, iż osłabienie lub utrata aktywności enzymatycznej białek obecnych w komórce drobnoustroju nie wpływa na wiarygodność identyfikacji.

Podobnie jak inne metody, także metoda MALDI TOF MS posiada ograniczenia polegające na niemożności uzyskania wiarygodnej i/lub poprawnej identyfikacji gatunkowej dla niektórych drobnoustrojów. Ograniczenia te mogą wynikać z pokrewieństwa filogenetycznego drobnoustrojów skutkującego uzyskaniem niemal identycznych widm białkowych dla różnych gatunków (niemożność odróżnienia paciorkowców zieleniejących np. *Streptococcus oralis* i *Streptococcus pneumoniae*, niemożność odróżnienia *Shigella* i *E.coli*), utraty cech fenotypowych (np. w przewlekłych infekcjach), wolnego metabolizmu (czas hodowli właściwy do uzyskania właściwego stężenia charakterystycznych białek), występowania form atypowych (pneumokoki), podobnych profili białkowych dla różnych gatunków. W przypadku *Salmonella*, identyfikacja prezentowana jest jedynie do poziomu rodzaju, co wynika z przyjętych zasad identyfikacji gatunkowej w obrębie tego rodzaju. Producenci analizatorów wykorzystujących metodę spektrometrii mas do identyfikowania drobnoustrojów są zobowiązani do przekazywania użytkownikom wszelkich danych dotyczących ograniczeń metody, na podstawie których laboratorium decyduje o właściwym sposobie postępowania.

Piśmiennictwo:

1. Azarko J., Wendt U.: Spektrometria masowa – nowa metoda identyfikowania drobnoustrojów, *Nowa Klinika* 2011,18(4): 4089-4093
2. Azarko J., Wendt U.: Identyfikacja drobnoustrojów – porównanie metody biochemicznej i spektrometrii masowej, *Diagn Lab* 2011, 47(4): 409-417
3. Wendt U.: Spektrometria masowa – nowa technologia w diagnostyce mikrobiologicznej, *Laboratorium - Przegląd Ogólnopolski* 2012,nr 9-10: 37-40
4. Azarko J., Wendt U.: Identyfikacja bakterii bezpośrednio w płynnej hodowli krwi metodą spektrometrii masowej, *XVI Konferencja Postępy Medycyny Zakażeń*, Warszawa grudzień 2012
5. Kosikowska u., Stępień-Pyśniak D, Pietras-Ożga D, et al. Zastosowanie spektrometrii masowej MALDI-TOF MS w identyfikacji bakterii izolowanych z materiałów klinicznych od ludzi i zwierząt, *Diagn Lab* 2015; 51(1): 23-30
6. Hildebrandt Ł., Wendt U.: Identyfikacja drobnoustrojów – stabilność i poprawność metody biochemicznej i spektrometrii mas (MALDI TOF MS), *Diagn Lab* 2020;56(4): 145-156

15.4. Posiew krwi

Bezpośrednio po dostarczeniu pobranego materiału do laboratorium mikrobiologicznego, butelki z podłożem należy bezzwłocznie wstawić do ciepłarki (temp. 35-37°C) lub do aparatu do hodowli posiewów krwi. Podłoża należy przeglądać codziennie (lub częściej), bez wstrząsania i mieszania, w celu wizualnego stwierdzenia wzrostu drobnoustrojów w podłożu poprzez zaobserwowanie zmętnienia lub hemolizy podłoża płynnego lub pojawienia się kolonii bakteryjnych w podłożach z fazą stałą. Obecność drobnoustrojów należy potwierdzić preparatem barwionym metodą Grama. W przypadku badania automatycznego, aparat sygnalizuje wykrycie wzrostu drobnoustrojów w butelce z podłożem. Wtedy z podłoża z takiej butelki wykonujemy preparat barwiony metodą Grama. Zaobserwowanie w obrazie mikroskopowym form specyficznych dla poszczególnych gatunków drobnoustrojów pozwala na ukierunkowanie dalszego procesu diagnostycznego i podjęcie ukierunkowanego leczenia przed uzyskaniem końcowej informacji o gatunku.

Z butelki z potwierdzoną obecnością drobnoustrojów wysiewamy zawieszinę na podłoża diagnostyczne stałe i kontynuujemy diagnostykę w celu identyfikacji drobnoustroju wg procedury obowiązującej w laboratorium mikrobiologicznym [1,2].

UWAGA!

W przypadku, gdy po 24 godz. hodowla jest ujemna, inkubację należy kontynuować przez 5-7 dni i jednocześnie przestać zabezpieczoną próbkę do laboratorium wykonującego diagnostykę molekularną.

Interpretacja wyników posiewu krwi

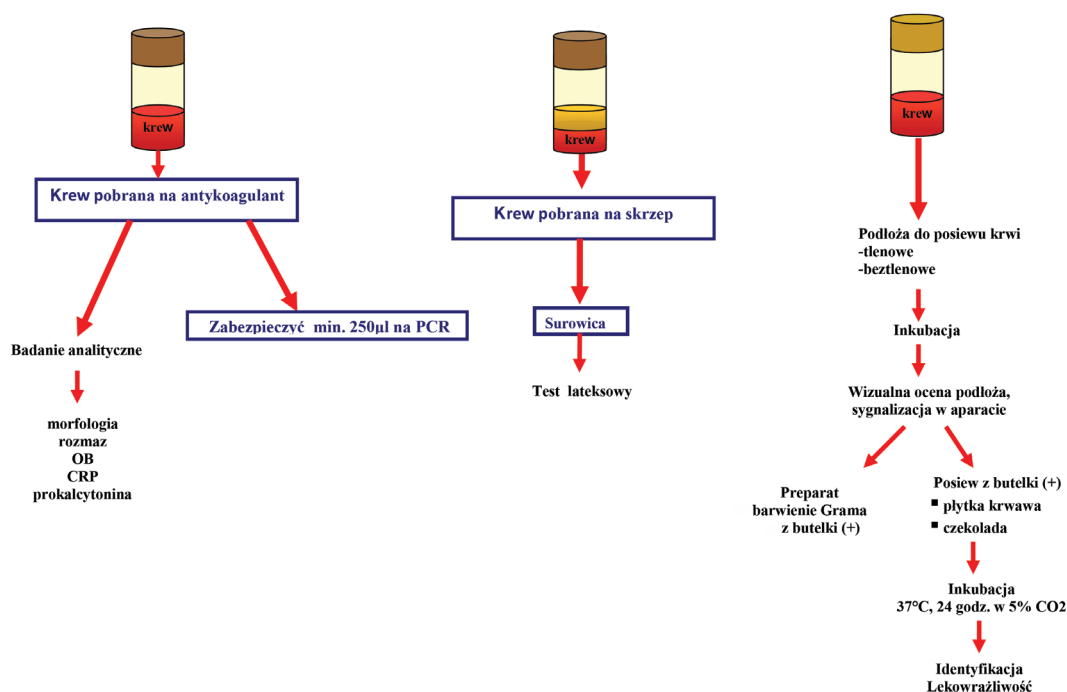
1. Wynik dodatni – na ogół do potwierdzenia czynnika etiologicznego zakażenia krwi konieczne jest wyhodowanie drobnoustroju z 2 niezależnych pobrań, jednak w przypadku niektórych drobnoustrojów, które nie występują na skórze czy też w środowisku, jednokrotne wyhodowanie szczepu wraz z objawami klinicznymi ma wartość diagnostyczną. Dotyczy to w szczególności 3 najczęstszych bakteryjnych czynników etiologicznych ZOMR tj.: *N. meningitidis*, *H. influenzae* i *S. pneumoniae*.

2. Wynik fałszywie dodatni – jeśli po kilku dniach inkubacji otrzymamy wzrost tylko w próbce z jednego pobrania, a wyhodowane drobnoustroje wchodzą w skład flory fizjologicznej skóry (*Staphylococcus epidermidis*, *Bacillus subtilis*, *Corynebacterium sp.*), wskazuje to na możliwość zanieczyszczenia próbki podczas pobrania.

3. Wynik fałszywie ujemny – jeśli po kilku dniach inkubacji nie otrzymamy wzrostu w żadnej z pobranych próbek, należy wówczas sprawdzić, czy pobrana próbka krwi na posiew nie była źle transportowana (zbyt wychłodzona), czy nie pobrano zbyt mało krwi lub pobrano ją po podaniu antybiotyku.

UWAGA!

Posianie krwi na podłoża do posiewów krwi i inne podłoża mikrobiologiczne nie zwalnia od zabezpieczenia próbki krwi (lub surowicy krwi) do ewentualnej identyfikacji czynnika etiologicznego z wykorzystaniem metod niehodowlanych.



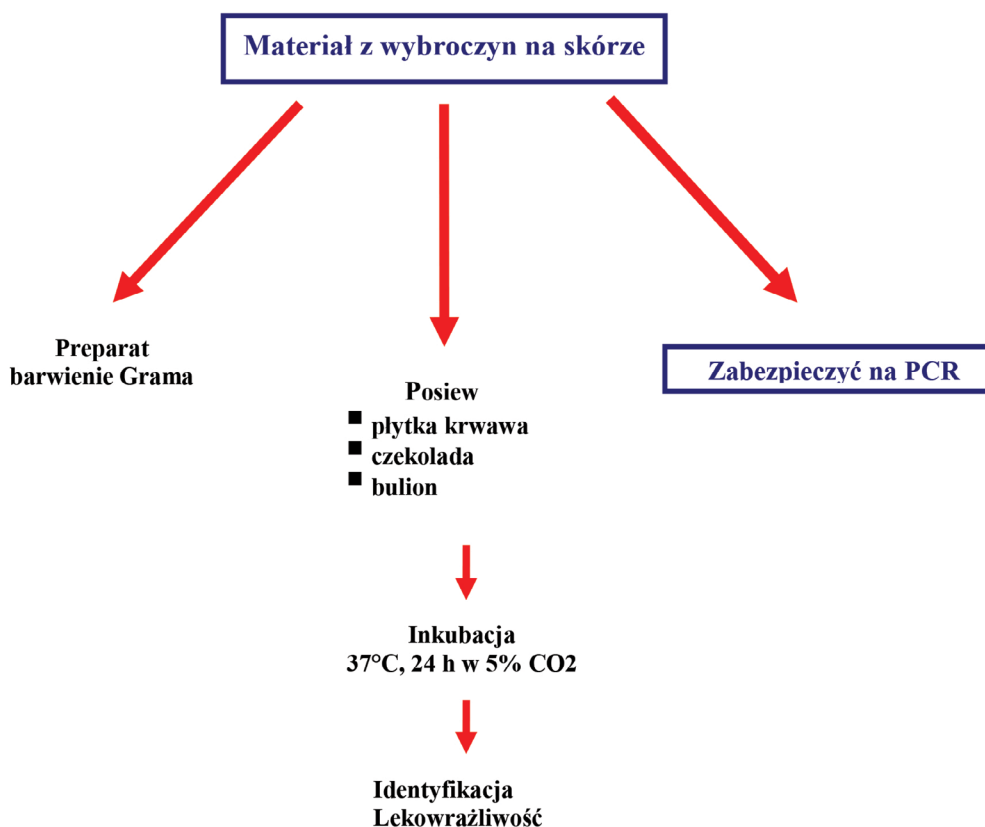
Ryc. 19. Schemat postępowania diagnostycznego z próbką krwi

Piśmiennictwo:

1. Blood culture W: Leber AL, Burnham CAD. Clinical Microbiology, Procedures Handbook 2023, Fifth Edition; Volume 2; 5.0.1.
2. Investigation of blood cultures (for organisms other than Mycobacterium species). UK Standards for Microbiology Investigations, Public Health England 2019; B 37; Issue no: 8.2; 1-55. https://assets.publishing.service.gov.uk/media/608199b3d3bf7f0132941970/B_37i8.2.pdf, dostęp 12.12.2023.

15.5. Posiew materiału pobranego z wybroczyn na skórze

Dodatni wynik preparatu barwionego metodą Grama w przypadku materiału pobranego z wybroczyn można otrzymać do 48 godz. od rozpoczęcia antybiotykoterapii. Uzyskany materiał należy następnie posiać na podłoża diagnostyczne, tak jak to opisano dla PMR. Jeśli to możliwe, materiał z wybroczyn należy zabezpieczyć do ewentualnej identyfikacji czynnika etiologicznego z wykorzystaniem metod niehodowlanych [1-3].



Ryc. 17. Schemat postępowania diagnostycznego z materiałem z wybroczyn na skórze

Piśmiennictwo:

1. Investigation of tissues and biopsies from deep-seated sites and organs UK Standards for Microbiology Investigations, Public Health England 2018; B 17; Issue no: 6.3; 1-23. <https://www.rcpath.org/static/47722f8c-8c43-4ad2-be5785b454021795/UK-SMI-B-17163-Investigation-of-tissues-and-biopsies-from-deep-seated-sites-and-organs-January-2018.pdf>;
2. CDC. Chapter 8: Identification and characterization of *Streptococcus pneumoniae* in *Laboratory methods for the diagnosis of meningitis caused by Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, and Haemophilus influenzae* (Second Edition, 2011).
3. Popovic T, Ajello GW, Facklam RR. Laboratory methods for the diagnosis of meningitis caused by *Neisseria meningitidis*, *Streptococcus pneumoniae*, and *Haemophilus influenzae*.; Centers for Disease Control and Prevention (U.S.); National Center for Infectious Diseases (U.S.); World Health Organization; 1998

15.6. Posiew wymazu z nosogardła

Wymazy od chorych. Jeśli prawdopodobnym czynnikiem etiologicznym ZOMR jest *N. meningitidis*, w wyjątkowych sytuacjach, tzn., gdy brak możliwości uzyskania innego materiału od chorego, pomocnym badaniem może być posiew wymazu pobranego z jamy nosowo-gardłowej (nosogardzieli, nosogardła) pacjenta [1,2]. Stwierdzenie w nosogardle obecności meningokoków, przy jednoczesnych objawach klinicznych świadczących o zakażeniu inwazyjnym, pozwala na rozpoznanie prawdopodobnego przypadku IChM. Wynika to z faktu, że ogromna większość zakażeń meningokokowych poprzedzona jest bezobjawowym nosicielstwem meningokoków w jamie nosowo-gardłowej, skąd dopiero bakterie przedostają się do krwi, a następnie pokonują barierę krew–mózg. Powyższa reguła nie dotyczy innych czynników etiologicznych, tzn. wyhodowanie z nosogardła pacjenta *S. pneumoniae* oznacza, że pacjent jest nosicielem pneumokoków, ale w żadnym stopniu nie potwierdza, ani nie wyklucza, że czynnikiem etiologicznym trwającego zakażenia jest ten gatunek bakteryjny.

Badanie wymazu z nosogardła należy traktować jako pomocnicze w określeniu serogrupy *N. meningitidis* w przypadku braku wyhodowania szczepu z innych materiałów klinicznych od pacjenta (PMR, krew) z objawami klinicznymi ZOMR.

Pobrany materiał należy jak najszybciej przekazać do laboratorium mikrobiologicznego. W przypadku braku możliwości natychmiastowego opracowania pobranego materiału klinicznego w laboratorium, należy pobrać wymaz za pomocą specjalnych, fabrycznych zestawów zawierających wacik z odpowiedniego, absorbującego materiału i podłoże transportowe. W badaniach wymazu pobranego z nosogardła, konieczne jest korzystanie z podłoży wybiórczych, umożliwiających wyhodowanie poszukiwanego drobnoustroju i hamujących wzrost innych bakterii. Podłoża wybiórcze do hodowli szczepów *N. meningitidis* można kupić gotowe lub przygotować w laboratorium na bazie agaru krwawego lub czekoladowego, do którego dodaje się zestaw antybiotyków:

Zestaw antybiotyków do podłoża wybiórczego dla <i>N. meningitidis</i>	
Wankomycyna	3,0 µg/ml
Kolistyna	7,5 µg/ml
Nystatyna	13,5 µg/ml

Wymazy od nosicieli. Pobieranie wymazów z nosogardła w kierunku nosicielstwa meningokoków u najbliższych kontaktów chorego nie jest zalecane. Należy podkreślić, że wymazy te nie mają znaczenia w określaniu, kto w otoczeniu chorego powinien otrzymać chemioprophylaktykę i nie są pomocne w określaniu skuteczności chemioprophylaktyki.

Piśmiennictwo:

1. Investigation of Throat Related Specimens UK Standards for Microbiology Investigations, Public Health England 2015; B 9; Issue no: 9; 1-29. <https://www.rcpath.org/static/6238dfba-3449-4bef-801d23d3ac62c18b/uk-smi-b-9i9-investigation-of-throat-related-specimens-april-2015-pdf>, dostęp 12.12.2023.
2. Popovic T, Ajello GW, Facklam RR. Laboratory methods for the diagnosis of meningitis caused by Neisseria meningitidis, Streptococcus pneumoniae, and Haemophilus influenzae.; Centers for Disease Control and Prevention (U.S.); National Center for Infectious Diseases (U.S.); World Health Organization; 1998

15.7. Posiew innych materiałów diagnostycznych w zakażeniu OUN

W ZOMR u noworodka często występują trudności z uzyskaniem odpowiedniej objętości materiału klinicznego do testów bakteriologicznych lub wynik ich hodowli jest ujemny. Wówczas pomocnym badaniem może być posiew pobranego od matki wymazu z pochwy w kierunku: *S. agalactiae*, *L. monocytogenes*, *E. coli* K1 [1,2].

Piśmiennictwo:

1. Tunkel AR. Bacterial meningitis, Cerebrospinal fluid examination. W: Mandell Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Eight ed. Philadelphia PA: Elsevier; 2015: 1119.
2. Murray PR. The clinician and the microbiology laboratory. W: Mandell Douglas and Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases. Eight ed. Philadelphia PA: Elsevier; 2015: 191-277.

15.8. Histopatologia przyżyciowa

Ma znaczenie pomocnicze w diagnostyce inwazyjnych zakażeń grzybiczych, rzadziej wirusowych, niekiedy także infestacji pasożytniczych różnych narządów i nie będzie tu szczegółowo omawiana.

Postawienie rozpoznania postępującej wieloogniskowej leukoencefalopatii (PML) powodowanej przez wirus JC wymaga uzyskania próbki tkanki mózgowej, w której histopatologicznie stwierdza się wieloogniskową demielinizację, obecność oligodendrocytów z typowymi inkluzjami śródjądrowymi oraz atypowe astrocyty. Antygeny lub DNA wirusa wykrywa się metodami immunohistochemicznymi lub badaniem hybrydyzacji kwasów nukleinowych. W praktyce rozpoznanie stawia się na podstawie obrazu klinicznego, obrazowania metodą rezonansu magnetycznego oraz wykrycia DNA wirusa JC w płynie mózgowo-rdzeniowym [1]. Z płuc badane są materiały uzyskane metodą wymazów szczoteczkowych oraz stosowana jest diagnostyka cytopatologiczna popłuczyn oskrzelowych i płwociny.

Tkanek pobranych do badań mikologicznych nie należy zalewać formaliną. Preparaty z tkanek często wykonuje się w pracowniach histopatologicznych, stosując barwienia metodą PAS, Giemzy oraz Gomoriego w modyfikacji Grocotta. W przypadku zakażeń grzybiczych ocenie podlega morfologia grzybni oraz reakcja tkanek otaczających z oceną nacieku komórek zapalnych [2,3]. Dostępne są dedykowane badania immunohistochemiczne pozwalające uwidocznić strzępki *Aspergillus* spp., *Candida* spp. oraz *Mucoromycota*, choć badania te nie są w pełni swoiste i niekiedy występują reakcje krzyżowe [4]. Rozpoznanie kryptokokozy płuc obliguje do dalszej diagnostyki obrazowej oraz badania płynu mózgowo-rdzeniowego, w celu wykluczenia zajęcia ośrodkowego układu nerwowego.

Piśmiennictwo:

1. Kodetová D, Jirásek A, Briner J, Fales E. [Progressive multifocal leukoencephalopathy: morphologic possibilities of diagnostic classification methods and in situ hybridization]. *Cesk Patol.* 1999;35: 5-9.
2. Sabino R, Wiederhold N. Diagnosis from Tissue: Histology and Identification. *J Fungi (Basel).* 2022 13;8: 505.
3. Howard-Jones AR, Sparks R, Pham D i wsp. Pulmonary Cryptococcosis. *J Fungi (Basel).* 2022; 8: 1156.
4. Lockhart SR, Bialek R i wsp. Molecular Techniques for Genus and Species Determination of Fungi From Fresh and Paraffin-Embedded Formalin-Fixed Tissue in the Revised EORTC/MSGERC Definitions of Invasive Fungal Infection, *Clinical Infectious Diseases*, 2021; 72: 109–113.

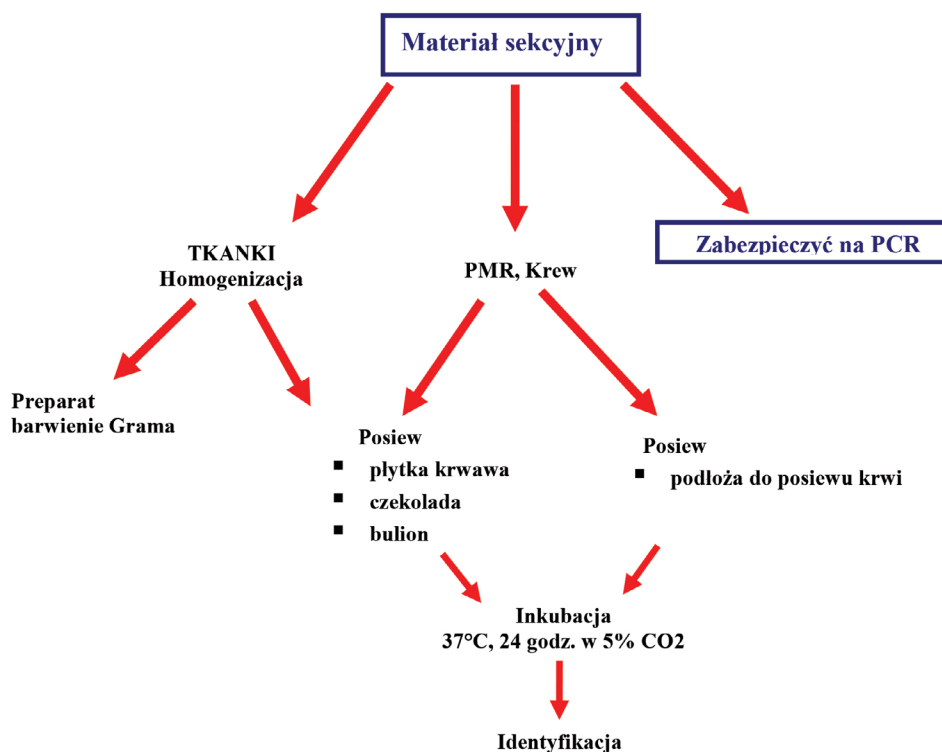
15.9. Badanie bakteriologiczne materiału pobranego post mortem

Jeśli przed ustaleniem etiologii zakażenie doprowadzi do zgonu pacjenta, należy pobrać materiały kliniczne śródsekcyjnie. Celem przeprowadzenia badania mikrobiologicznego materiału pochodzącego z autopsji jest między innymi potwierdzenie czynnika etiologicznego zakażenia, na które wskazywały objawy kliniczne, ocena prawidłowości postępowania terapeutycznego bądź wykrycie, jako przyczyny śmierci zakażenia, na które nie wskazywały objawy kliniczne. Badanie mikrobiologiczne stanowi jedynie część postępowania diagnostycznego, a jego wyniki mogą być jedynie rozpatrywane i analizowane wraz z objawami klinicznymi choroby, badaniami dodatkowymi oraz badaniami anatomopatologicznymi.

Identyfikacja rzeczywistych czynników etiologicznych ZOMR z materiałów śródsekcyjnych jest trudna i często kończy się niepowodzeniem z powodu kontaminacji próbek florą endogenną.

Pośmiertna translokacja bakteryjna jest zjawiskiem naturalnym, rozpoczynającym się w ciągu 8 godzin po śmierci i dotyczącym najczęściej endogennych komensalnych bakterii jelitowych, takich jak *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterococcus* spp., Clostridia i paciorkowce. Namnażanie bakterii oraz ich

migracja do krwi i tkanek zapoczątkowują zjawiska rozkładu gnilnego. Zjawiska te mogą zaburzać pośmiertną diagnostykę mikrobiologiczną, a interpretacja uzyskanych wyników wymaga ostrożności i współpracy interdyscyplinarnej lekarza patomorfologa, specjalisty mikrobiologa oraz lekarzy klinicystów [1-4]. Dodatkowym czynnikiem ryzyka wpływającym na jakość i wiarygodność uzyskanego wyniku badania mikrobiologicznego jest zakażenie w trakcie autopsji lub w okresie poprzedzającym autopsję. W związku z tym wynik dodatni badania mikrobiologicznego nie zawsze odpowiada przyczynie zgonu pacjenta, Podczas interpretacji otrzymanych wyników badań należy pamiętać, że wiarygodność uzyskanego wyniku badania jest największa wówczas, gdy próbki są pobierane prawidłowo, możliwie najszybciej po zgonie, i gdy badane materiały pochodzą, z co najmniej dwóch (lepiej więcej) różnych tkanek/narządów.



Ryc. 20. Schemat postępowania diagnostycznego z materiałami pobranymi post-mortem

Diagnostykę bakteriologiczną próbek krwi pobranych z komór serca należy przeprowadzić wg metodyki opisanej dla posiewów krwi pobranych przeżywczo (patrz powyżej). Próbki tkanek mogą być użyte do badań bakteriologicznych (w tym, w kierunku *M. tuberculosis*) i mikologicznych. Przed przystąpieniem do posiewów konieczna jest homogenizacja pobranego materiału, następnie posiew na podłoża diagnostyczne oraz wykonanie preparatu barwionego metodą Grama [5].

UWAGA!

Posianie materiałów klinicznych pobranych *post mortem* na podłoża mikrobiologiczne nie zwalnia od zabezpieczania próbek do ewentualnej identyfikacji czynnika etiologicznego z wykorzystaniem metod niehodowlanych.

Piśmiennictwo:

1. Finley SJ, Benbow ME, Javan GT. Microbial communities associated with human decomposition and their potential use as postmortem clocks. *Int J Legal Med.* 2015;129: 623–632.
2. Buchelo SR, Lynne AM. The microbiome of human decomposition. *Microbe Magazine.* 2016;11:165–71.
3. Burcham ZM, Hood JA, Pechal JL i wsp. Fluorescently labeled bacteria provide insight on post-mortem microbial transmigration. *Forensic Sci Int.* 2016;264: 63–9. 9.

4. Christofersen S. The importance of microbiological testing for establishing cause of death in 42 forensic autopsies. *Forensic Sci Int.* 2015;250: 27–32.
5. Investigation of tissues and biopsies from deep-seated sites and organs UK Standards for Microbiology Investigations, Public Health England 2018; B 17; Issue no: 6.3; 1-23. <https://www.rcpath.org/static/47722f8c-8c43-4ad2-be5785b454021795/UK-SMI-B-17163-Investigation-of-tissues-and-biopsies-from-deep-seated-sites-and-organs-January-2018.pdf>; dostęp 12.12.2023.

15.10. Postępowanie z drobnoustrojem tego samego gatunku izolowanym z różnych materiałów od tego samego pacjenta

Jeśli z krwi, wybroczyn na skórze pacjenta lub innego materiału wyizolowano ten sam drobnoustrój, co z PMR, badanie wrażliwości na leki i dalsze typowanie (np. serologiczne), należy wykonać jedynie dla patogenu wyhodowanego z jednego z materiałów (w pierwszej kolejności z PMR lub krwi). Szczepy bakteryjne wyhodowane z wszystkich materiałów inwazyjnych powinny być przesłane do KOROUN celem wykonania dalszego typowania, w tym molekularnego celem wykonania dalszego typowania, w tym molekularnego.

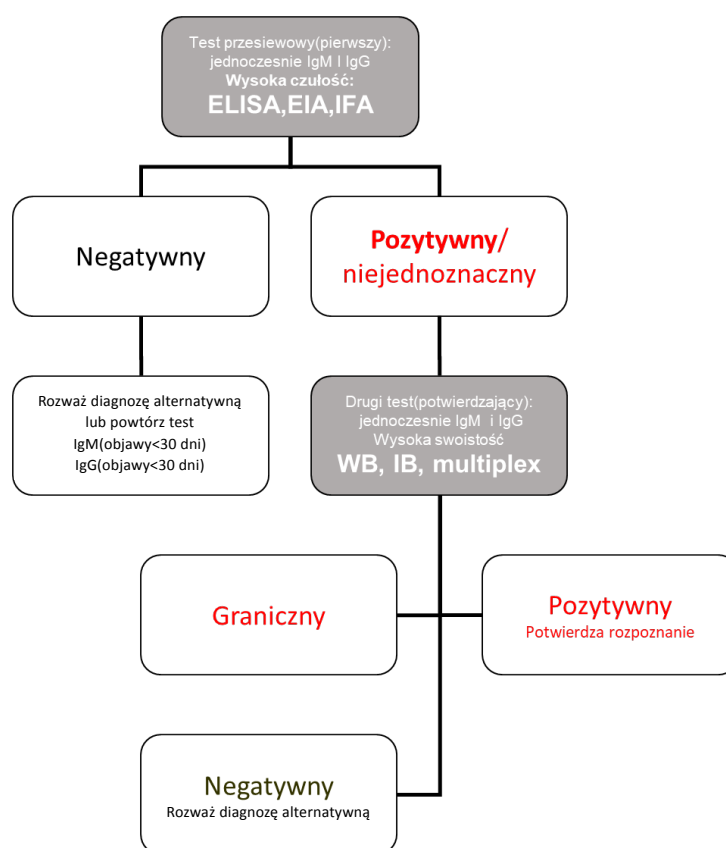
16. DIAGNOSTYKA BORELIOZY

Podejrzenie neuroboreliozy stawiane jest na podstawie obrazu klinicznego, danych anamnestycznych (obecność rumienia wędrującego (erythema migrans–EM), pokłucie przez kleszcza, ekspozycja na pokłucie, pora roku, czas trwania objawów) oraz wyników badań laboratoryjnych. Potwierdzenie stanu zapalnego w OUN wymaga wykonania nakłucia łądźwiowego, wykazania odczynu limfocytarnego (parametry zapalne w PMR) i pozytywnego AI (antibody index; rozpoznanie pewne). Rozpoznanie neuroboreliozy na podstawie badań serologicznych potwierdzających zakażenie *Borrelia burgdorferi*, bez badania PMR jest możliwe, ale mało prawdopodobne [1].

Definicja przypadku neuroboreliozy: U dorosłych głównie zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych porażenie nerwów czaszkowych i/lub korzeni nerwów rdzeniowych; rzadko zapalenie mózgu, zapalenie rdzenia kręgowego; bardzo rzadko zapalenie naczyń mózgowych. U dzieci głównie zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych i porażenie nerwu twarzowego [2].

16.1. Diagnostyka serologiczna w surowicy

- Poszukiwanie swoistych przeciwciał przeciw *B. burgdorferi* jest dwuetapowe. Badaniem przesiewowym jest test immunoenzymatyczny ELISA (enzyme-linked immunosorbent assay). Jest to badanie ilościowe. Tylko w przypadku dodatniego wyniku w teście ELISA wykonuje się badanie potwierdzające, czyli WB (western blot), który jest testem jakościowym (poziomu IgM i/lub IgG oznaczany w zależności od etapu choroby), wskazującym czy test ELISA zawiera przeciwciała swoiste skierowane przeciwko *B. burgdorferi* (Ryc. 19).



Ryc. 21. Algorytm diagnostyczny badań serologicznych w boreliozie z Lyme

- Wykrycie przeciwciał w klasie IgM metodą ELISA potwierdza boreliozę tylko w okresie do 2 miesięcy od początkowych objawów, nie potwierdza późnej manifestacji boreliozy z Lyme. Brak serokonwersji klasy IgM do IgG świadczy o skutecznym leczeniu. Przeciwciała w klasie IgM mogą się długo utrzymywać, lub mogą świadczyć o innym procesie, zwykle autoimmunizacyjnym.

- U chorych z neuroboreliozą wyniki badań laboratoryjnych oceniających funkcjonowanie narządów, jak i białka ostrej fazy, zwykle pozostają w granicach normy.

Interpretacja wyników badań serologicznych w kierunku boreliozy:

- dodatni test serologiczny potwierdza rozpoznanie, gdy obecne są objawy spełniające kryteria definicji przypadku; 10-12% populacji polskiej ma dodatnie przeciwciała,
- test może być dodatni z innych powodów (autoagresja, inne stany predysponujące do nieprawidłowej reakcji immunologicznej; w tych przypadkach potrzebna weryfikacja metodą WB),
- test może być ujemny mimo choroby (immunosupresja - bardzo rzadko lub bardzo wczesne zakażenie),
- przeciwciała IgM – pojawiają się najwcześniej (po ok. 4 tygodniach, zależy od metody),
- jeśli objawy trwają dłużej niż 2 miesiące, znaczenie diagnostyczne mają przeciwciała tylko w klasie IgG,
- obecność izolowanych przeciwciał IgM nie powinna być podstawą rozpoznania późnej boreliozy,
- przeciwciała IgG pojawiają się około 6 tygodnia po zakażeniu i mogą się utrzymywać przez lata, po wyleczeniu boreliozy.

16.2. Badanie ogólne płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR)

Badanie PMR w postaci wczesnej jak i późnej wykazuje cechy zapalne pod postacią pleocytozy jednojądrzastej (zwykle do 300 kom., rzadko >1000 kom. /mm³). Białko może być miernie podwyższone, nie przekracza 100 mg%.

16.3. Wewnątrzoponowa synteza przeciwciał – wskaźnik przeciwciał swoistych dla boreliozy (AI)

U większości pacjentów z neuroboreliozą z Lyme podejrzenie rozpoznania klinicznego można potwierdzić wykrywając syntezę swoistych dla krętków *Borrelia* przeciwciał w surowicy i w płynie mózgowo-rdzeniowym. Wykrycie wytworzonych wewnątrzkanałowo swoistych przeciwciał (a nieprzenikających z surowicy) wykrywa się poprzez określenie wskaźnika syntezy wewnątrzoponowej (antibody index-AI) [2].

16.4. Chemokina CXCL13

Stężenie chemokiny CXCL13 znacznie wzrasta w płynie mózgowo-rdzeniowym u prawie wszystkich pacjentów z ostrą neuroboreliozą z Lyme – nawet przed wytworzeniem się swoistych przeciwciał, co wykorzystywane jest w diagnostyce. Jednak wzrost CXCL13 w PMR nie jest swoisty dla neuroboreliozy z Lyme; podwyższone wartości stwierdzano również w przypadku kiły OUN, gruźliczego ZOMR i chłoniaków OUN [1].

16.5. Metody detekcji *B. burgdorferi* metodą PCR

W wyjątkowych przypadkach (np. pacjenci z obniżoną odpornością i niewystarczającą produkcją przeciwciał z powodu pierwotnego niedoboru odporności lub wyczerpania limfocytów B) zakażenie *Borrelia* może być potwierdzone przez wykrycie materiału genetycznego patogenu w PMR. W miarę trwania zakażenia czułość tej metody obniża się z 30% do 5% [3].

UWAGA! [4]

Stosowane w niektórych laboratoriach badania kleszcza usuniętego ze skóry pacjenta (poszukiwanie w nim DNA *B. burgdorferi*) nie może być uznane za metodę diagnostyczną.

Zakażony kleszcz nie zawsze zdąży przed usunięciem go ze skóry, zakazić człowieka jak również nie zawsze obecność DNA krętków *B. burgdorferi* jest możliwa do wykrycia (czułość tego badania nie jest określona).

Oznacza to, że wynik badania kleszcza – dodatni nie świadczy o zakażeniu, a ujemny nie wyklucza zakażenia. Oznaczanie KKI, LTT, subpopulacji limfocytów CD56, nie jest zalecane.

Piśmiennictwo:

1. Auwaerter PG, Kobayashi T, Wormser GP i wsp. Guidelines for Lyme Disease Are Updated, *The American Journal of Medicine*, 2021; 134: 314-1316.
 2. Moniuszko-Malinowska A., Pancewicz S., Czupryna P. i wsp.: Zalecenia diagnostyki i leczenia boreliozy z Lyme Polskiego Towarzystwa Epidemiologów i Lekarzy Chorób Zakaźnych. *Med. Prakt.*, 2023; 11.
 3. Lantos PM, Rumbaugh J, Bockenstedt LK i wsp. Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America, American Academy of Neurology, and American College of Rheumatology: 2020 Guidelines for the Prevention, Diagnosis, and Treatment of Lyme Disease. *Neurology* 2021; 96: 262-273.
 4. Chmielewski R, Dunaj J, Gołąb E i wsp. Diagnostyka laboratoryjna chorób odkleszczowych. Rekomendacje Grupy Roboczej: Krajowa Izba Diagnostów Laboratoryjnych, Narodowy Instytut Zdrowia Publicznego-Państwowy Zakład Higieny, Konsultant Krajowy w dziedzinie chorób zakaźnych, Klinika Chorób Zakaźnych i Neuroinfekcji Uniwersytet Medyczny w Białymstoku, Polskie Towarzystwo Wirusologiczne; KIDL 2014.
-

17. DIAGNOSTYKA GRUŻLICY OUN

W przypadku podejrzenia gruźlicy OUN należy poszukiwać objawów, które wskazują na etiologię gruźliczą. Zdjęcia RTG oraz TK klatki piersiowej pokazuje zmiany przemawiające za gruźlicą, czynną lub przebytą, u połowy dorosłych i u większości dzieci. Odczyn tuberkulinowy jest zwykle dodatni, ale ujemny wynik testu nie wyklucza gruźlicy. U chorych z gruźliczym zapaleniem opon mózgowo-rdzeniowych w PMR stwierdza się zazwyczaj podwyższoną liczbę białych krwinek, zwykle około 100-500 na mm³, z przewagą granulocytów obojętnochłonnych w początkowym okresie choroby, później – limfocytów. Stężenie białek jest podwyższone, najczęściej do około 5 mg/dL. Często w płynie mózgowo-rdzeniowym stwierdza się niskie stężenie glukozy, jednak jej prawidłowe stężenie nie wyklucza zapalenia gruźliczego [1,2]. Jednoczesne prawidłowe stężenie białka, glukozy i prawidłowa liczba białych krwinek w płynie mózgowo-rdzeniowym przemawia przeciwko gruźlicy, z wyłączeniem osób zakażonych HIV. Zmiany w PMR u chorych na gruźlicę ZOMR utrzymują się przez 10-14 dni, pomimo leczenia i mogą się nawet początkowo nasilać. Płyn mózgowo-rdzeniowy jest materiałem ubogoprątkowym i rozmazy płynu są zwykle ujemne. Ponieważ na wyniki posiewów oczekuje się kilka tygodni, mają one ograniczone znaczenie we wstępnej diagnostyce. W rozpoznaniu podkreśla się rolę metod molekularnych, które niejednokrotnie pozwalają na szybką identyfikację prątków gruźlicy w płynie mózgowo-rdzeniowym np. testu Xpert MTB/RIF stosowanym do oznaczeń DNA prątków. Ważną rolę odgrywa również barwienie metodą Ziehl-Neelsena, testy typu IGRA oraz testy immunochromatograficzne [3]. W szczególnie trudnych przypadkach należy rozważyć wykonanie biopsji opon mózgowych lub mózgu.

Diagnostyka obrazowa

W postaci oponowej gruźlicy w obrazach TK i MR stwierdza się dyskretne, odcinkowe wzmocnienie opon podstawy mózgu z obecnością wysięku, jednak we wczesnych okresach najczęściej brak jest zmian w badaniach obrazowych [4]. Postać oponowa może przebiegać także, jako odcinkowe serowaciejące ZOMR – *tuberculomatosis*, najczęściej obejmujące okolicę wyspy. Zapalenie gruźlicze może zajmować również wyściółkę komór oraz sploty naczyniówkowe. W tych przypadkach dochodzi do nadprodukcji płynu mózgowo-rdzeniowego, co łącznie z zaburzeniami jego krążenia powoduje powstanie wodogłowia [5]. U około 40% chorych z gruźlicą OUN dochodzi do powstania ognisk niedokrwienych, najczęściej zlokalizowanych w jądrach podstawy i pniu mózgu. Ogniska te rozwijają się na skutek zmian o charakterze *arteritis* dotyczących gałęzi przesywających tętnicy środkowej mózgu [6].

Gruźliczaki mają w badaniach obrazowych zróżnicowaną budowę, co jest związane z ich morfologią i ewolucją. Osłabianie w TK oraz intensywność sygnału w MR zależą od stopnia serowacenia i upłynnienia mas gruźliczaka. W badaniach TK bez wzmocnienia kontrastowego mogą być hipo- lub hiperdensyjne. W obrazach T1-zależnych – izointensywne z istotą szarą, często z rąbkami hiperintensywnymi, ze względu na obecność związków paramagnetycznych produkowanych przez makrofagi. W obrazach T2-zależnych mogą być izo- lub hipointensywne (ze względu na gęste utkanie komórkowe oraz serowacenie). Gruźliczaki wzmacniają się dość silnie po podaniu środka kontrastowego, licie lub pierścieniowato, zarówno w badaniach TK jak i w MR. Efekt masy i strefa obrzęku są zwykle niewielkie lub nie występują [7]. W około 23% przypadków gruźliczaków można stwierdzić centralne zwapnienia, które są dobrze widoczne w badaniach TK, dając w efekcie tzw. objaw tarczy. Obraz ten jest objawem sugerującym rozpoznanie, jednakże nie patognomoniczny dla gruźliczaka. Ropnie gruźlicze w badaniach obrazowych nie mają szczególnych cech i wyglądają identycznie jak ropnie o etiologii bakteryjnej. Ropnie zawierają gęstą zawartość płynową i mają silnie wzmacniającą się po podaniu środka kontrastowego torebkę oraz strefę obrzęku. Mogą występować pojedynczo lub są mnogie, osiągają czasem duże rozmiary i są zazwyczaj większe od stosunkowo małych gruźliczaków.

Wśród zalecanych badań obrazowych najskuteczniejszym jest MR ze wzmocnieniem kontrastowym [8]. W przypadku zmian niedokrwienych wskazane jest poszerzenie badania o sekwencje dyfuzyjne (DWI) oraz angiografię MR. U chorych z gruźliczakami przydatna jest również tomografia komputerowa, która lepiej niż MR obrazuje obecność zwapnień. W rozpoznaniu różnicowym przydatna jest także spektroskopia MR – w widmach z części centralnej ropni gruźliczych stwierdza się pasma mleczanów i lipidów, nie występują natomiast pasma aminokwasów, typowe dla ropni bakteryjnych [9].

Postać oponową gruźlicy należy różnicować z ZOMR o innej etiologii (Tab. 30), neurosarkoidozą oraz z przerzutami do opon. Gruźliczaki wymagają różnicowania z pierwotnymi lub przerzutowymi nowotworami OUN.

Tabela 30. Diagnostyka różnicowa gruźlicy OUN.

Inne zakażenia różnicowane z gruźlicą OUN
Grzybicze zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (<i>cryptococcosis, histoplasmosis, blastomycosis, coccidioidomycosis</i>)
Wirusowe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (Herpes simplex, świnka)
Zakażenia okołooponowe (sphenoid sinusitis, brain abscess, spinal epidural abscess)
Częściowo leczone bakteryjne zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych
Kiła OUN
Nowotworowe zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych (lymphoma, carcinoma)
Neurosarkoidoza
Neurobrucelloza

Piśmiennictwo

1. Pasco PM. Diagnostic features of tuberculous meningitis: a cross-sectional study. *BMC Res Notes* 2012;5: 49.
2. Galimi R. Extrapulmonary tuberculosis: tuberculous meningitis new developments. *Eur Rev Med Pharmacol Sci* 2011; 15: 365-86.
3. Thwaites GE. Advances in the diagnosis and treatment of tuberculous meningitis. *Curr Opin Neurol* 2013; 26: 295-300.
4. Leonard JM, Des Prez RM. Tuberculous meningitis. *Infect Dis Clin North Am* 1990; 4(4): 769-87.
5. Chatterjee S. Brain tuberculomas, tubercular meningitis, and post-tubercular hydrocephalus in children. *J Pediatr Neurosci* 2011; 6(supl. 1): 96-100.
6. Chan KH, Cheung RT, Lee R i wsp. Cerebral infarcts complicating tuberculous meningitis. *Cerebrovasc Dis* 2005; 19: 391-5.
7. Salgado P, Del Brutto OH, Talamás O, et al. Intracranial tuberculoma: MR imaging. *Neuroradiology* 1989; 31: 299-302.
8. Sanei Taheri M, Karimi MA, Haghightakhah H i wsp. Central nervous system tuberculosis: an imaging-focused review of a reemerging disease. *Radiol Res Pract* 2015; 202806.
9. Dusak A, Hakyemez B, Kocaeli H i wsp. Magnetic resonance spectroscopy findings of pyogenic, tuberculous, and Cryptococcus intracranial abscesses. *Neurochem Res* 2012; 37: 233-7.

18. DIAGNOSTYKA TRĄDU

Podejrzanie trądu należy uwzględnić zawsze u osób pochodzących z krajów tropikalnych (zwłaszcza z grupy państw hiperendemicznych dla trądu), przy obecności:

- niejasnego pochodzenia zmian skórnych niereagujących na leczenie,
- zaburzeń czucia powierzchownego (przemijających lub trwałych, parestezji lub drętwienia).

18.1. Badanie histopatologiczne i bakteriologiczne

Każda podejrzana zmiana na skórze powinna być zbadana histopatologicznie. Potwierdzeniem rozpoznania jest wykrycie prątków trądu w wycinkach skóry i błon śluzowych (szczególnie nosogardzieli), bioptatach zmienionych tkanek (nerwów obwodowych) lub zeszkrobinach ze zmienionych miejsc.

18.2. Badanie elektrofizjologiczne

Badania elektrofizjologiczne bywają pomocne, zwłaszcza w postaci nerwowej (tuberkuloidowej). Elektroneurografia wykazuje ogniskową lub wieloogniskową neuropatię włókien czuciowych. Do badania polecany jest szczególnie w tym celu nerw promieniowy. W trądzie lepromatycznym neuropatia czuciowa ma charakter raczej rozlany.

18.3. Testy skórne i serologiczne

Mniejszą wartość mają testy skórne i badania serologiczne. Skórne testy z leprominą (antygenem z zabitych prątków trądu), odczytywane, jako reakcja wczesna (Fernandeza) po 48 h lub odpowiedź późna (Mitsudy) – po 4-5 tygodniach mają ograniczone znaczenie – zwykle są dodatnie u chorych z postacią tuberkuloidową, natomiast często wypadają ujemnie w postaci lepromatycznej.

Odczyny serologiczne, których podstawą jest reakcja swoistych przeciwciał klasy IgM badanej surowicy z antygenem fenylo-glikolipidowym *Mycobacterium leprae*, mają jeszcze mniejsze znaczenie diagnostyczne. Wyniki dodatnie występują u części chorych z postacią lepromatyczną i u niektórych osób zakażonych, bez zmian chorobowych. Znacznie rzadziej reakcja dodatnia pojawia się u chorych z postacią tuberkuloidową.

18.4. Inne badania

We krwi nie stwierdza się żadnych typowych zmian, czasami występuje przyspieszony odczyn opadania krwinek i niewielka niedokrwistość, a w postaci lepromatycznej stwierdza się zwiększoną liczbę limfocytów supresorowych (CD8+), które można swoiście aktywować antygenem prątka trądu. U 1/3 chorych występują fałszywie dodatnie odczyny kiłowe. Płyn mózgowodzeniowy zwykle nie wykazuje odchyień, w niektórych przypadkach stwierdza się nieznaczny wzrost stężenia białka.

Piśmiennictwo:

1. Zajkowska J, Drozdowski W. Choroby wywołane przez krętki. W: Stępień A (red.) Neurologia. Tom 2, Warszawa, Medical Tribune Polska, 2020: 53–75.

19. DIAGNOSTYKA KIŁY OUN

Podstawę diagnostyki kiły układu nerwowego, poza charakterystycznym dla wielu postaci obrazem klinicznym, stanowią badania ogólne PMR oraz testy potwierdzające zakażenie układu nerwowego krętkiem bladym (ocena odczynów serologicznych w równocześnie pobranej próbce osocza i płynu mózgowo-rdzeniowego).

19.1. Testy serologiczne

Izolacja krętka jest trudna i nieprzydatna w praktyce klinicznej, dlatego diagnostyka laboratoryjna kiły opiera się na odczynach serologicznych dwojakiego rodzaju:

- **klasycznych (nieswoistych)**, w których głównym antygenem jest fosfolipid kardiolipina; charakteryzują się one niską swoistością i są stosowane jako testy przesiewowe – odczyn Wassermana, VDRL,USR (unheated serum reagin test),
- **krętkowych (swoistych)**, opartych na antygenach krętkowych (odczyn Nelsona-Mayera, odczyn immunofluorescencji i jego modyfikacje (FTA – fluorescent treponemal antibody, FTA-ABS – fluorescent treponemal antibody-absorbed test), odczyn hemaglutynacji (TPHA – treponema pallidum hemagglutination test). Żaden pojedynczy test nie pozwala na pewne rozpoznanie kiły układu nerwowego.

19.2. Badanie płynu mózgowo-rdzeniowego

Bardzo ważnym elementem diagnostyki kiły układu nerwowego pozostaje badanie płynu mózgowo-rdzeniowego w kierunku zmian zapalnych oraz kiłowych odczynów serologicznych.

19.3. Badania neuroobrazowe

Badania neuroobrazowe (TK i MR) mają znaczenie uzupełniające. Mogą wykazać:

- akcentację opon mózgowo-rdzeniowych w ich zapaleniu,
- zmiany guzowate o różnej lokalizacji i wielkości odpowiadających kilakom,
- ogniska zawałowe w kile naczyniowej lub oponowo-naczyniowej.

19.4. Diagnostyka różnicowa kiły OUN

W diagnostyce różnicowej należy uwzględnić przede wszystkim zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych o innej etiologii, zwłaszcza z odczynem limfocytarnym, takie jak neuroboreliozę, zakażenia wirusowe, grzybicze lub pasożytnicze. Rozstrzygające znaczenie mają inne objawy kliniczne towarzyszące kile oraz odczyn VDRL w płynie mózgowo-rdzeniowym.

W diagnozowaniu kiły oponowo-naczyniowej mózgu i rdzenia należy rozważyć wszystkie inne sytuacje kliniczne, które prowadzą do udarów niedokrwiennych. U wielu chorych występują w tej postaci objawy prodromalne, takie jak bóle głowy, senność i zmiany osobowości. Rozpoznanie potwierdzają zmiany zapalne w płynie mózgowo-rdzeniowym i dodatni odczyn VDRL. Kiła mięszowa (zarówno porażenie postępujące, jak i wiąd rdzenia) obecnie występuje bardzo rzadko. O rozpoznaniu decyduje wywiad, charakterystyczny bogaty obraz kliniczny oraz wyniki badania płynu mózgowo-rdzeniowego [1].

Piśmiennictwo:

1. Zajkowska J, Drozdowski W. Choroby wywołane przez krętka. W: Stępień A (red.) Neurologia. Tom 2, Warszawa, Medical Tribune Polska, 2020: 53–75.

20. DIAGNOSTYKA WIRUSOWYCH NEUROINFEKcji

Obok metod obrazowych i badań laboratoryjnych, w tym badań biochemicznych i cytologicznych płynu mózgowo-rdzeniowego, w diagnostyce wirusowych zakażeń OUN, w szczególności w potwierdzaniu etiologii zakażenia, powszechnie wykorzystywane są metody amplifikacji kwasów nukleinowych (NAAT, nucleic acid amplification tests) oraz metody serologiczne. Aktualnie w rutynowej diagnostyce zakażeń, metody izolacji wirusów w hodowlach komórkowych mają ograniczone znaczenie, m.in. z uwagi na ich czasochłonność i niższą czułość w porównaniu do metod molekularnych [1–4].

20.1. Metody amplifikacji kwasów nukleinowych

Ze względu na wysoką czułość i swoistość NAAT, wykrywanie wirusowego materiału genetycznego (DNA lub RNA) przy użyciu PCR i/lub RT-PCR (reverse transcriptase-polymerase chain reaction) stanowi metodę z wyboru w diagnostyce zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych o etiologii herpeswirusowej (w tym: HSV-1/2 i VZV) oraz enterowirusowej (EV) [5,6]. Podstawowym materiałem klinicznym do badań w kierunku zakażeń HSV-1/2 jest PMR. Dodatkowo, w przypadku zakażeń przebiegających z wysypką, szczególnie u noworodków, należy pobrać wymaz ze zmian skórnych (materiał z pęcherzyków) i krew [4]. W przypadku podejrzenia zakażenia o etiologii HSV-1/2 i ujemnego wyniku badania PCR, należy rozważyć powtórne oznaczenie HSV DNA w PMR pobranym po upływie 7-72 godzin [6,7]. Występowanie fałszywie-ujemnych wyników obserwuje się w pierwszych 1-3 dniach od pojawienia się objawów neurologicznych [8,9]. W przypadku podejrzenia neuroinfekcji enterowirusowej, oprócz wykrywania EV RNA w PMR metodą RT-PCR, pomocne jest wykonanie dodatkowych badań w innych materiałach klinicznych (kał, surowica lub wymaz z nosogardła), szczególnie, gdy objawy neuroinfekcji utrzymują się dłużej niż 48 godzin [2,5,10]. W przebiegu enterowirusowego zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, wynik oznaczenia EV RNA w próbce kału może być dodatni nawet do 3. tygodni od zakażenia [11]. W przypadku neuroinfekcji o etiologii TBEV, metody molekularne umożliwiają wykrycie RNA wirusa we krwi i w PMR, jedynie w pierwszej fazie zakażenia, z tego powodu nie mają one znaczenia w diagnostyce wykonywanej w drugiej, neurologicznej fazie choroby [12].

Metody multipleks PCR mogą być pomocne w ustaleniu etiologii zakażeń u osób z grup ryzyka oraz w przypadku rzadziej występujących neuroinfekcji wywoływanych przez ludzkiego parechowirusa 3 (hPeV-3), adenowirusy lub pozostałe herpeswirusy (EBV, CMV HHV-6A/B). Tzw. panele neurologiczne (multipleks PCR) umożliwiają kompleksowe i jakościowe oznaczenie wirusowych (w niektórych przypadkach, również bakteryjnych i grzybiczych) czynników etiologicznych zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych i mózgu. W przypadku stosowania metod multipleks wynik ujemny panelu nie wyklucza neuroinfekcji (w tym zakażenia patogenem niewykrywalnym panelu). Ponadto, co do zasady, metody multipleks mają niższą czułość w porównaniu z metodami dedykowanymi do wykrywania pojedynczych czynników etiologicznych (tzw. singleplex PCR). Stąd też, w przypadku dużego prawdopodobieństwa *a priori* zakażenia o etiologii HSV, lepszą opcją diagnostyczną jest oznaczenie DNA HSV-1/2 metodą PCR [13]. W przypadku cytomegalii wrodzonej przebiegającej z zajęciem OUN, standardem diagnostycznym jest wykrywanie CMV DNA w moczu pobranym w pierwszych 21. dniach życia. Natomiast oznaczenie CMV DNA w PMR lub we krwi charakteryzuje się niską czułością. Dodatni wynik CMV DNA w PMR potwierdza neuroinfekcję i koreluje ze złym rokowaniem [14]. W przypadku HHV-6A/B i EBV w diagnostyce neuroinfekcji należy uwzględnić możliwość wykrycia latentnej formy wirusa w komórkach krwi i PMR lub reaktywacji zakażenia np. w przebiegu zakażenia o innej etiologii. Dlatego, przed ustaleniem końcowego rozpoznania, należy wykluczyć inne przyczyny objawów neurologicznych. Dodatkowo, przydatne mogą być oznaczenia ilościowe metodą qPCR (quantitative PCR, z wykorzystaniem PCR w czasie rzeczywistym – real-time PCR) i porównanie wartości mian wirusowego DNA we krwi i w PMR [4–6]. W 30-40% przypadków zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych oraz w ok. 50% przypadków zapalenia mózgu, nie udaje się ustalić czynnika etiologicznego neuroinfekcji [15,16]. Czułość metod NAAT (w tym PCR) może być niższa, gdy: (1) badanie jest wykonane w próbkach pobranych we wczesnej fazie zakażenia; (2) objawy neurologiczne występują w późniejszym okresie po zakażeniu, gdy materiał genetyczny wirusa nie jest już obecny w PMR lub we krwi; (3) miano wirusa w PMR jest niskie.

20.2. Diagnostyka serologiczna

W diagnostyce wirusowych zakażeń OUN użyteczne może być oznaczanie swoistych przeciwciał w surowicy krwi i w PMR [6]. Metody serologiczne stanowią standard diagnostyczny w neuroinfekcjach o etiologii TBEV. Wykrywanie przeciwciał anti-TBEV w klasie IgM w surowicy i w PMR umożliwia ustalenie rozpoznania [17]. Ze względu na małą swoistość, oznaczenie przeciwciał anti-VZV w klasie IgM ma ograniczone znaczenie w potwierdzaniu neuroinfekcji w przebiegu

półpaśca [5]. Z uwagi na to, że objawy neuroinfekcji mogą wystąpić kilka tygodni po reaktywacji zakażenia VZV, w przypadku ujemnego wyniku badania VZV DNA PCR, rozpoznanie opiera się na stwierdzeniu wewnątrzoponowej syntezy przeciwciał anty-VZV klasy IgG poprzez oznaczenie indeksu VZV IgG PMR: surowica. Oznaczenie indeksu VZV IgG PMR: surowica wymaga jednoczesowego oznaczenia miana swoistych przeciwciał IgG w PMR i surowicy wraz z oznaczeniem stężenia całkowitych IgG oraz albuminy w PMR i surowicy. Przyjmuje się, że wartości indeksu $\geq 1,5$ wskazują na wewnątrzoponową syntezę przeciwciał [5]. W przypadku diagnostyki zakażeń OUN o etiologii CMV, EBV, HSV-1/2 metody serologiczne mają ograniczoną przydatność ze względu na wysoką seroprewalencję w populacji osób dorosłych. Z tego powodu, w tych przypadkach, do potwierdzenia etiologii, wymagane jest oznaczenie surowic parzystych i wykazanie serokonwersji lub istotnego (min. 4-krotnego) wzrostu miana swoistych przeciwciał w klasie IgG.

Piśmiennictwo:

1. Tunkel AR, Glaser CA, Bloch KC i wsp. IDSA Guidelines for Management of Encephalitis The Management of Encephalitis: Clinical Practice Guidelines by the Infectious Diseases Society of America. 2008; 303.
2. Harvala H, Broberg E, Benschop K i wsp. Recommendations for enterovirus diagnostics and characterisation within and beyond Europe. *J Clin Virol.* 2018;101: 11–17.
3. Tomatis Souverbielle C, Erdem G, Sánchez PJ. Update on nonpolio enterovirus and parechovirus infections in neonates and young infants. *Curr Opin Pediatr.* 2023;35: 380–389.
4. Gutierrez M, Emmanuel PJ. Expanding Molecular Diagnostics for Central Nervous System Infections. *Adv Pediatr.* 2018;65: 209–227.
5. Krett JD, Beckham JD, Tyler KL i wsp. Neurology of Acute Viral Infections. *Neurohospitalist.* 2022;12: 632–646.
6. Peigue-Lafeuille H, Reigel P. Central nervous system infections W: Cornaglia G, Courcol R, Herrmann J-L, Kahlmeter G, Peigue-Lafeuille H, Vila J (red.). *European Manual of Clinical Microbiology.* 1st ed. ESCMID/SFM; 2012, 130-31.
7. Stahl JP. Update on HSV and VZV infections of the brain. *Rev Neurol (Paris).* 2019;175: 442–444.
8. Weil AA, Glaser CA, Amad Z i wsp. Patients with suspected herpes simplex encephalitis: Rethinking an initial negative polymerase chain reaction result. *Clin Infect Dis.* 2002;34: 1154–1157.
9. Studahl M, Lindquist L, Eriksson BM i wsp.. Acute viral infections of the central nervous system in immunocompetent adults: Diagnosis and management. *Drugs.* 2013;73: 131–158.
10. Kupila L, Vuorinen T, Vainionpää R i wsp. Diagnosis of enteroviral meningitis by use of polymerase chain reaction of cerebrospinal fluid, stool, and serum specimens. *Clin Infect Dis.* 2005;40: 982–987.
11. McGill F, Griffiths MJ, Solomon T. Viral meningitis: current issues in diagnosis and treatment. *Curr Opin Infect Dis.* 2017;30: 248–256.
12. Saksida A, Duh D, Lotrič-Furlan S i wsp. The importance of tick-borne encephalitis virus RNA detection for early differential diagnosis of tick-borne encephalitis. *J Clin Virol.* 2005;33: 331–335.
13. Vetter P, Schibler M, Herrmann JL i wsp. Narrative review Diagnostic challenges of central nervous system infection: extensive multiplex panels versus stepwise guided approach. 2020 [cited 20 Dec 2023].
14. Niezgoda A, Czech-kowalska J, Gruszfeld D. Recommendations on the Diagnosis and Treatment of Cmv Infections . Polish Society of Epidemiology and Infectious Diseases Rekomendacje Postępowania W Zakażeniach Wirusem Cytomegalii (CMV). *Zalecenia Polskiego.* 2016;70: 297–310.
15. McGill F, Tokarz R, Thomson EC i wsp. Viral capture sequencing detects unexpected viruses in the cerebrospinal fluid of adults with meningitis. *J Infect.* 2022;84: 499–510.
16. Melhuish A, McGill F. Viral meningitis and encephalitis. *Medicine (Baltimore).* 2021;49: 675–680.
17. Reusken C, Boonstra M, Rugebregt S i wsp. An evaluation of serological methods to diagnose tick-borne encephalitis from serum and cerebrospinal fluid. *J Clin Virol.* 2019;120: 78–83.

21. DIAGNOSTYKA MYKOLOGICZNA NEUROINFEKCJI

Diagnostyka mykologiczna zakażeń OUN obejmuje:

- badania obrazowe: tomografia komputerowa (ang. computed tomography, CT), rezonans magnetyczny (ang. magnetic resonance imaging, MRI),
- badania histopatologiczne: barwienie metodą PAS (ang. periodic acid-Schiff), Gomoriego w modyfikacji Grocotta (ang. Grocott-Gomori methenamine-silver stain) lub Giemzy,
- badania mykologiczne (bakterioskopia, hodowla, oznaczenie lekowrażliwości po identyfikacji patogenu),
- badania serologiczne: wykrywanie antygenów i przeciwciał,
- badania genetyczne.

Materiał do badań mykologicznych w neuroinfekcji należy pobrać z miejsca toczącego się zakażenia, przed rozpoczęciem leczenia przeciwgrzybiczego lub przed podaniem kolejnej dawki leku. Transport próbki klinicznej powinien odbyć się jak najszybciej [1,2].

21.1. Badania obrazowe

W rozpoznaniu neuroinfekcji mogą być przydatne badania radiologiczne i badania obrazowe (tomografia komputerowa, rezonans magnetyczny). Badania tomografii komputerowej mają wysoką wartość diagnostyczną. Mogą one być skorelowane z badaniami histopatologicznymi oraz rezonansu magnetycznego. W przypadku zajęcia OUN lub oczodołu dobre wyniki uzyskuje się metodą MR [1-3].

21.2. Bakterioskopia

Ocena mikroskopowa preparatów bezpośrednich ma szczególne znaczenie w neuroinfekcji. Badanie preparatu bezpośredniego jest szybką i dostępną metodą stosowaną w diagnostyce inwazyjnych zakażeń grzybiczych i jest pierwszym etapem diagnostycznym [2]. Technika ta umożliwia szybką ocenę czynnika etiologicznego zakażenia i pozwala często oznaczyć rodzaj grzybów zwłaszcza pleśniowych a tym samym przyspiesza właściwą terapię przeciwgrzybiczą. W przypadku podejrzenia neuroinfekcji o etiologii *Cryptococcus neoformans* należy wykonać preparat tuszowy. Jest to barwienie negatywne preparatów mikroskopowych tuszem chińskim w celu wykrywania form otoczkowych [2]. Przygotowanie preparatu z bioptatu w 10% wodorotlenku potasu (KOH) i ocena pod mikroskopem pod kątem obecności strzępek grzybni pozwala na szybką identyfikację grzybów z rodzaju *Aspergillus* i *Mucormycoses* [1,2]. Inną metodą mikroskopową stosowaną w diagnostyce grzybic jest barwienie metodą Grama. W badaniu histopatologicznym do barwienia preparatu bezpośredniego można zastosować barwienie metodą PAS (ang. periodic acid-Schiff), Gomoriego w modyfikacji Grocotta (ang. Grocott-Gomori methenamine-silver stain) lub Giemzy. Dodatni wynik histopatologiczny jest pewnym potwierdzeniem infekcji grzybiczej [2-7]. W diagnostyce aspergilozy można również zastosować barwienie fluorescencyjne [1].

21.3. Hodowla i identyfikacja zakażeń grzybiczych w OUN

Do hodowli grzybów stosuje się podłoże Sabourauda. Wynik hodowli stanowi „złoty standard” w diagnostyce mykologicznej i jest pewnym potwierdzeniem neuroinfekcji. Wymaga jednak zawsze skorelowania ze stanem klinicznym pacjenta [1,2].

Techniką zalecaną do identyfikacji grzybów jest MALDI-TOF-MS (ang. Matrix-Assisted Laser Desorption/Ionization Time of Flight – desorpcja i jonizacja laserowa z użyciem matrycy). System umożliwia szybką i skuteczną identyfikację grzybów drożdżopodobnych i pleśniowych poprzez wykorzystanie charakterystycznych wzorców białek do zidentyfikowania danego drobnoustroju poprzez dopasowanie stosownego wzorca w obszernej bazie biblioteki referencyjnej. Wzorce przechowywane są w bibliotece widm, jako Main Spectra (MSP) a ich stale aktualizowana liczba określa możliwości identyfikacyjne systemu [8,9]. Dostępne są różne analizatory oparte na tej technice, różniące się bazą danych systemu, a więc i możliwością identyfikacji gatunków rzadko spotykanych w neuroinfekcji. Posiadając odpowiednią bazę profili

białkowych można zidentyfikować tą metodą do poziomu gatunku *Candida auris*, *Candida haemulonii*, *Candida nivariensis*, *Candida bracarensis*, *Candida guilliermondii*, *Candida lipolytica* (różne profile lekooporności) lub gatunki należące do kompleksów grzybiczych [8-11]. Według zaleceń CDC (ang. Centers for Disease Control and Prevention) w algorytmie indentyfikacyjnym gatunku *Candida auris* metodą zalecaną jest metoda Bruker Biotyper MALDI-TOF lub bioMérieux VITEK MS MALDI-TOF [10]. Szybkie zidentyfikowanie (w ciągu kilku minut) czynnika etiologicznego neuroinfekcji z hodowli ma szczególne znaczenie w diagnostyce inwazyjnych zakażeń grzybiczych u pacjentów z głębokimi zaburzeniami odporności [8-10].

21.4. Ocena lekowrażliwości badanego szczepu wyizolowanego z OUN

Metodą najbardziej wiarygodną i powtarzalną stosowaną w diagnostyce mykologicznej, jest metoda rozcieńczeniowa. Można zastosować metodę zarówno probówkową, jak i płytkową, wykonując seryjne rozcieńczenia leku (podłoże płynne lub stałe). Wartość MIC (MIC ang. minimal inhibitory concentration) wyrażana jest liczbowo w mg/l lub µg/ml. Wartości graniczne MIC dla leków przeciwgrzybiczych zostały przedstawione w tabelach EUCAST (ang. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) i dotyczą grzybów z rodzaju *Candida*, *Aspergillus*, *Cryptococcus* [1,2,12].

21.5. Badania serologiczne

Mimo postępu w zakresie stosowania różnych technik laboratoryjnych, duże znaczenie w diagnostyce zakażeń grzybiczych mają badania serologiczne w kierunku wykrywania antygenów jak i przeciwciał w surowicy krwi [2,13,14]. Jest to badanie pomocnicze, które ma zastosowanie w neuroinfekcji przy transmisji krwiopochodnej. Zaletą wykonywania badań serologicznych jest szybkość uzyskiwania wyników, w odróżnieniu od metod hodowlanych, a także nieinwazyjny charakter próbki. U pacjentów z obniżoną odpornością odpowiedź przeciwciał może być niższa, co może również ograniczać użyteczność testu. Brak antygenemii nie wyklucza inwazyjnego zakażenia grzybiczego i wymaga dalszych badań przy podejrzeniu neuroinfekcji [2,13,14].

Do wykrywania rozpuszczalnego antygeny mannanowego grzybów z rodzaju *Candida* w surowicy krwi stosuje się testy lateksowe i immunoenzymatyczne. Testy lateksowe umożliwiają szybkie uzyskanie wyniku, swoistość metody wynosi 86 – 100%, wielocukier mannan wykrywany jest w ilości 2,5 ng/ml. Dużo czulszy jest test immunoenzymatyczny, przy użyciu którego można wykryć mannan w ilości 0,5 ng/ml. Do wykrywania antygeny krążącego grzybów z rodzaju *Aspergillus* stosuje się galaktomannany, które są dobrym markerem aspergillozy. Odczyn lateksowy wykrywa galaktomannan w ilości 15 ng/ml, natomiast test immunoenzymatyczny, <1 ng/ml. Czulość tej metody jest, więc zdecydowanie większa [2,13].

Zakażenia wywoływane przez *Cryptococcus neoformans* są częste w neuroinfekcji. Przez wiele lat diagnostyka inwazyjnej kryptokokozy opierała się jedynie na hodowli i bakterioskopii. Stosując metodę aglutynacji lateksowej można wykryć krążące antygeny polisacharydowe zawarte w ścianie komórkowej grzyba w ilości 7,6 ng/ml zaś test immunoenzymatyczny wykrywa go w ilości 0,63 ng/ml [2,13].

Obniżenie się stężenia antygeny mannanowego, galaktomannanowego, glukuronoksylomannanu jest pomyślnym rokowaniem dla pacjenta [2,13].

Wykrycie przeciwciał w klasach IgM i/lub IgG może świadczyć o aktualnym oraz przeżytym zakażeniu. Pojedyncze oznaczenie przeciwciał IgG anti-*Candida* ma niską wartość diagnostyczną. Dodatni wynik testu jest częsty a przeciwciała w tej klasie powyżej 70 IU/ml występują w surowicy około 90% pacjentów. Wynik pojedynczego oznaczenia przeciwciał bez dodatkowych badań mykologicznych (hodowla, wykrywanie antygenów), diagnostyki obrazowej oraz oceny stanu klinicznego pacjenta nie różnicuje kolonizacji od inwazyjnego zakażenia grzybiczego. Nagły wzrost stężenia przeciwciał, zwłaszcza w klasie Ig M jest wynikiem aktywnego rozwoju zakażenia. Monitorowanie próbek surowic po wdrożeniu leczenia przeciwgrzybiczego pozwala ocenić prawdopodobieństwo odpowiedzi na terapię i/lub konieczność zastosowania innego leczenia przeciwgrzybiczego. Nie wykonuje się badań serologicznych w klasach IgM i IgG przy podejrzeniu kryptokokozy ze względu na powszechne występowanie grzybów z rodzaju *Cryptococcus* w środowisku. Przeciwciała pojawiają się w płynach ustrojowych w początkowym okresie zakażenia, lecz ich występowanie może być również skutkiem kontaktu z antygenami *Cryptococcus* obecnymi we wdychanym powietrzu [13].

21.6. Badania genetyczne

Metoda PCR (ang. polymerase chain reaction) jest powszechnie stosowaną techniką molekularną. Zastosowanie testów molekularnych do wykrywania lub identyfikacji *mucormycetes* i innych grzybów pleśniowych można polecić, jako narzędzie dodatkowe, uzupełniające konwencjonalne procedury diagnostycznej. Zaawansowane testy, systemy multipleksowe o wysokich wskaźnikach precyzji i dokładności mogą stanowić podstawę nowoczesnej diagnostyki mykologicznej. Włączenie i umieszczenie nowych testów opracowanych w algorytmach diagnostycznych wymaga większej ilości danych walidacyjnych na większych kohortach pacjentów w drodze dobrze zaprojektowanych badań wieloośrodkowych [15-21].

Piśmiennictwo:

1. Sulik-Tyszka B., Wróblewska M. Aspergiloza- diagnostyka laboratoryjna i leczenie. Forum Zakażeń 2021;12: 123-131..
2. Sulik-Tyszka B., Wróblewska M Przegląd metod laboratoryjnych stosowanych w diagnostyce inwazyjnych zakażeń grzybiczych. Diagn Lab 2015; 51: 147-152.
3. Ullmann AJ, Aguado JM, Arikian-Akdagli S i wsp.. Diagnosis and management of Aspergillus diseases: executive summary of the 2017 ESCMID-ECMM-ERS guideline. Clin Microbiol Infect 2018;24:e1-e38.
4. Malhotra S, Sharma S, Bhatia NJK i wsp.. Recent diagnostic techniques in myco-logy. J Med Microb Diagn 2014; 3: 3.
5. Haque A. Special stains use in fungal infections. Connection 2010; 187-194.9.
6. Guarner J, Brandt ME. Histopathologic diagnosis of fungal infections in the 21st century. Clin Microbiol Rev 2011; 24: 247-280.
7. Krzyściak P, Skóra M, Macura AB. Atlas grzybów chorobotwórczych człowieka, 2011.
8. Dingle TC, Butler-Wu SM. Maldi-tof mass spectrometry for microorganism identification. Clin Lab Med. 2013; 33: 589-609.
9. Croxatto A, Prod'hom G, Greub G. Applications of MALDI-TOF mass spectrometry in clinical diagnostic microbiology. FEMS Microbiol Rev. 2012;36: 380-407.
10. Identification of Candida auris Last Updated: Dec 2022 <https://www.cdc.gov/fungal/candida-auris/identification.htm>; dostęp 12.12.2023.
11. Tortorano AM, Prigitano A, Morroni G i wsp. Candidemia: Evolution of Drug Resistance and Novel Therapeutic Approaches. Infect Drug Resist. 2021 19;14: 5543-5553.
12. Arendrup MC, Friberg N, Mares M i wsp. How to interpret MICs of antifungal compounds according to the revised clinical breakpoints v. 10.0 European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). Clin Microbiol Infect 2020;26: 1464–1472.
13. Tomasz Dzieciatkowski T., Sulowska A., Przybylski M. Diagnostyka serologiczna i molekularna grzybic inwazyjnych. Post. Mikrobiol.,2015, 54, 3, 291–297.
14. Sendid B., Poirot J.L., Tabouret M. i wsp Combined detection of mannanaemia and antimannan antibodies as a strategy for the diagnosis of systemic infection caused by pathogenic Candida species. J. Med.Microbiol. 2002;51, 433–442.
15. Wu J, Cheng M, Zhu X i wsp. Diagnosis of invasive fungal infections: challenges and recent developments. J Biomed Sci. 2023 Jun19;30: 42.
16. Jenks JD, White PL, Kidd SE i wsp. An update on current and novel molecular diagnostics for the diagnosis of invasive fungal infections. Expert Rev Mol Diagn. 2023;23: 1135-1152.
17. Ponnaiyan D, Anitha CM, Prakash PSG i wsp.Mucormycosis diagnosis revisited: Current and emerging diagnostic methodologies for the invasive fungal infection (Review).Exp Ther Med. 2022 5;25: 47.
18. Imbert S, Portejoie L, Pfister E i wsp. A Multiplex PCR and DNA-Sequencing Workflow on Serum for the Diagnosis and Species Identification for Invasive Aspergillosis and Mucormycosis. J Clin Microbiol. 2023 26;61:e0140922.
19. Skiada A, Lass-Floerl C, Klimko N i wsp. Challenges in the diagnosis and treatment of mucormycosis. Med Mycol. 2018;56: 93-101.
20. Wróblewska M, Sulik-Tyszka B, Figiel W i wsp. Invasive aspergillosis in transplant recipients. InTechOpen 2019. www.intechopen.com.
21. Atoui A, El Khoury A. PCR-RFLP for Aspergillus Species. Methods Mol Biol. 2017;1542:313-320.

22. DIAGNOSTYKA PARAZYTOZ OUN

22.1. *Acanthamoeba castellanii*

22.1.1. Diagnostyka GAE (ziarniniakowe amebiczne zapalenie mózgu) polega na:

- wykrywaniu trofozoitów i cyst w osadzie płynu mózgowo-rdzeniowego, rzadziej w bioptatach (*post mortem*),
- badaniu preparatów bezpośrednich (mikroskop kontrastowo-fazowy),
- badaniu preparatów trwałych barwionych Giemzą, metodą Wright'a lub trichromem,
- zakładaniu hodowli na podłożu agarowym z dodatkiem bakterii,
- zastosowaniu metod immunologicznych,
- zastosowaniu metod biologii molekularnej (PCR, RT-PCR, FISH).

22.1.2. Metody biologii molekularnej w diagnostyce *Acanthamoeba*

Metoda PCR-RFLP (analiza polimorfizmu długości fragmentów restrykcyjnych DNA jądrowego) – była stosowana w latach 90. ubiegłego wieku. Technika ta pozwalała na wykrycie polimorfizmu genetycznego w obrębie amplifikowanej sekwencji, ale nie pozwalała odróżnić od siebie niektórych szczepów.

Metoda PCR-RAPD (opiera się na losowej amplifikacji fragmentów DNA o zróżnicowanych masach molekularnych), jest niedoskonała, ponieważ z powodu tzw. łagodnych warunków amplifikacji charakteryzuje się małą powtarzalnością i dużym błędem.

Reakcja PCR w czasie rzeczywistym (RT-PCR) wykorzystująca techniki fluorescencyjne umożliwia amplifikację oraz monitorowanie ilości produktu w każdym cyklu reakcji, ale pozwala wykrywać jedynie niektóre genotypy pełzaków z rodzaju *Acanthamoeba*.

Najbardziej polecaną metodą jest sekwencjonowanie fragmentów genomowego DNA, a w ostatnich latach sekwencjonowanie fragmentu genu kodującego 18S rRNA. Początkowo podział pełzaków z rodzaju *Acanthamoeba* wyróżniał 14 typów sekwencji genu, którym nadano nazwy od T1 do T14, aktualnie jest 20 genotypów. Stothard i wsp. wyizolowali genotyp T4 u chorych na pełzakowe zapalenie rogówki (AK), natomiast Booton i wsp. zidentyfikowali szczepy o genotypie T4, T1, T10 oraz T12 jako przyczynę inwazji mózgu, skóry, zatok, płuc i jamy nosowej [1,2].

22.2. *Naegleria fowleri*

Metodą coraz częściej stosowaną w diagnostyce tej parazytozy jest analiza antygenów z użyciem immunoelektroforezy, immunofluorescencji pośredniej i przeciwciał znakowanych peroksydazą. W diagnostyce wykorzystuje się badanie płynu mózgowo-rdzeniowego, biopsję i badanie histopatologiczne oraz tomografię komputerową.

Rozpoznanie zarażenia *N. fowleri* można postawić na podstawie badania mikroskopowego świeżego, niezamrożonego, nieschłodzonego płynu mózgowo-rdzeniowego (PMR). Mokry osad świeżo odwirowanego PMR może wykazywać aktywnie poruszające się trofozoity. *N. fowleri* (trofozoit 15–30 µm) porusza się szybko (~1 µm/s) za pomocą erupcyjnych pseudopodów i porusza się kręto do przodu.

Ponadto *Naegleria* można zidentyfikować w rozmazach lub hodowlach płynu mózgowo-rdzeniowego przy użyciu hematoksyliny i eozyny (H+E), barwienia kwasem nadjodowym-Schiffa (PAS), trichromu, Giemsy lub Wrighta-Giemsy. Należy unikać barwienia Grama, ponieważ ameby mogą zostać zniszczone podczas utrwalania termicznego. Zabarwiony rozmaz płynu mózgowo-rdzeniowego będzie wykazywał trofozoity ameboidalne o morfologii typowej dla *Naegleria* (tj. jądro z dużym, centralnie położonym i gęsto wybarwiającym się jąderkiem). Jeżeli w płynie mózgowo-rdzeniowym wykryje się pełzaki, rozpoznanie PAM należy następnie potwierdzić za pomocą reakcji łańcuchowej polimerazy (PCR).

Rozpoznanie można również postawić na podstawie badania mikroskopowego wymazów z biopsji mózgu lub próbek z autopsji barwionych kwasem nadjodowym, kwasem Schiffa, trichromem, metodą Giemsy lub Wrighta-Giemsy, które mogą wykazać trofozoity o morfologii typowej dla *Naegleria fowleri*. Trofozoity ameboidalne mierzą 10–35 µm, ale po zaokrągleniu mają zwykle średnicę 10–15 µm. Cytoplazma jest ziarnista i zawiera wiele wakuoli. Pojedyncze jądro jest duże i ma duży, gęsty kariosom. *N. fowleri* nie tworzy cyst w tkankach ludzkich. W barwieniu immunohistochemicznym (IHC) i pośrednim barwieniu immunofluorescencyjnym (IIF) wykorzystuje się przeciwciała specyficzne dla *N. fowleri*, a następnie wykonuje się badanie mikroskopowe w celu identyfikacji *N. fowleri* w tkance utrwalonej w formalinie [3,4,5].

Testy serologiczne w kierunku wykrycia *N. fowleri* przy użyciu pośredniego przeciwciała immunofluorescencyjnego (IFA) do pomiaru miana przeciwciał w surowicy pacjentów mają niewielką wartość diagnostyczną, ponieważ większość pacjentów z PAM umiera, zanim pojawi się odpowiedź immunologiczna. Jednakże osoba, która przeżyła PAM w Kalifornii, wykazała odpowiedź serologiczną.

Specyficzne narzędzia molekularne mogą amplifikować DNA pełzaków w płynie mózgowo-rdzeniowym lub tkance, aby konkretnie określić, czy pełzaki są obecne. DNA zostało pomyślnie amplifikowane z próbek płynu mózgowo-rdzeniowego i nieutrwalonych próbek tkanek. Można przeprowadzić typowanie izolatów, ale niewiele wiadomo na temat naturalnych populacji, aby umieścić te dane w kontekście biologicznym. Opisano wiele technik opartych na PCR (konwencjonalnych i RT-PCR) do wykrywania i identyfikacji wolno żyjących inwazji pełzakowych w próbkach klinicznych, ale są one dostępne tylko w wybranych referencyjnych laboratoriach diagnostycznych.

W CDC opracowano metodę PCR w czasie rzeczywistym w celu jakościowej oceny *Naegleria fowleri*, *Acanthamoeba spp.* oraz *Balamuthia mandrillaris* w próbkach klinicznych. W teście tym wykorzystuje się różne startery i sondy TaqMan do jednoczesnej identyfikacji wszystkich trzech wolno żyjących ameb. Można przyjrzeć się szczepom lub podtypom *N. fowleri*, ale niewiele wiadomo na temat naturalnych populacji występujących w środowisku, co utrudnia interpretację wyników. Niemniej jednak podtypy mogą pomóc w określeniu narażenia środowiskowego *N. fowleri* u pacjentów z PAM. Ostatnio sekwencjonowanie nowej generacji zastosowano również w diagnostyce przypadku PAM [6,7].

Procedurę hodowli można zastosować do identyfikacji wolno żyjących ameb w próbkach klinicznych i środowiskowych. Obejmuje zaszczepianie kultur komórek ssaków i monitorowanie cytopatogenności lub wzrostu *E. coli*. W przypadku hodowli z bakteriami *E. coli* próbkę umieszcza się na płytce wzrostowej pokrytej bakteriami, która może służyć jako źródło pożywienia dla *N. fowleri*. Wstępne badanie przesiewowe przeprowadza się poprzez inkubację płytki w wyższej temperaturze (42°C), która zabija większość wolno żyjących pełzaków, wybierając jednocześnie pełzaki ciepłolubne, takie jak *N. fowleri* lub inne ameby. Ten ekran początkowy przedstawia ślady pozostawione przez amebę poruszającą się po talerzu, zjadającą bakterie. Jeżeli na płytce hodowanej w wyższej temperaturze nie ma ameb, oznacza to, że *N. fowleri* nie występuje. Jeżeli na płytce hodowanej w wyższej temperaturze obecne są pełzaki termofilne, wówczas pełzaki te poddaje się dalszym szczegółowym badaniom w celu ustalenia, czy występuje *N. fowleri*, ponieważ należy przeprowadzić badanie innych pełzaków ciepłolubnych wolnożyjących [7-11].

22.3. *Trypanosoma brucei gambiense*, *Trypanosoma brucei rhodesiense*

Rozpoznanie opiera się na wykryciu trypanosom w badaniu mikroskopowym płynu wrzodowego, aspiratów z węzłów chłonnych, krwi, szpiku kostnego lub w późnych stadiach inwazji z płynu mózgowo-rdzeniowego. Mokry preparat należy zbadać pod kątem ruchliwych trypanosom, a dodatkowo utrwalić rozmaz krwi (cienki lub gruby), wybarwić go metodą Giemsy i zbadać. Przed badaniem mikroskopowym można zastosować techniki zagęszczania. W przypadku próbek krwi obejmuje to wirowanie, a następnie badanie kożuszka leukocytarnego. W przypadku innych próbek, takich jak płyn mózgowo-rdzeniowy, techniki zagęszczania obejmują wirowanie, a następnie badanie osadu. Izolacja pasożyta poprzez zaszczepienie szczurów lub myszy jest metodą czułą, ale jej zastosowanie ogranicza się do *T. b. rhodesiense*. Wykonuje się również badanie histopatologiczne [12].

Szybkie testy na *T. b. gambiense* stosuje się do badań przesiewowych krwi pełnej. Wydajność jest zmienna w zależności od endemiczności. Zestawy wykorzystujące metodę aglutynacji są dostępne na rynku. Jednakże w przypadku *T. b. rhodesiense* serokonwersja następuje po wystąpieniu objawów klinicznych, dlatego wykrywanie przeciwciał ma ograniczone zastosowanie.

Żadne testy oparte na kwasach nukleinowych nie zostały zatwierdzone do diagnostyki trypanosomatozy afrykańskiej, a skuteczność diagnostyczna tych testów znacznie się różni.

22.4. *Trypanosoma cruzi*

Inwazję *T. cruzi* potwierdza obecność postaci trypomastigota w grubej kropli lub w rozmazach krwi barwionych metodą Giemsy. Badania serologiczne (hemaglutynacja pośrednia, immunofluorescencja pośrednia, ELISA) są wykorzystywane do wykrywania p/ciał, natomiast do wczesnego wykrywania ostrej fazy zarażenia stosuje się techniki biologii molekularnej (PCR). Może być również stosowana ksenodiagnostyka i hodowla *in vitro*.

22.5. *Toxoplasma gondii*

Diagnostując zarażenie *T. gondii* stosuje się metody bezpośrednie (izolacja pasożyta, jego antygeny lub DNA) oraz metody pośrednie – serologiczne. Wykonuje się badania serologiczne wykrywające w surowicy krwi i płynach ustrojowych przeciwciała skierowane przeciwko temu pasożytowi w klasach IgM, IgG, IgA oraz określając awidność przeciwciał. Rozpoznanie wrodzonej toksoplazmozy opiera się na wykryciu DNA *T. gondii* w płynie owodniowym za pomocą metod biologii molekularnej (PCR). Metody hodowli *in vitro* i próby biologiczne są rzadko stosowane ze względu na długi okres oczekiwania na wynik. W wykrywaniu tachyzoitów w materiale biopsyjnym i płynach ustrojowych pomocne są różne metody barwienia (H+E, Giemsa), FIA i metody immunohistochemiczne.

W diagnostyce toksoplazmozy wykorzystuje się badania obrazowe (TK, MR) i badanie płynu mózgowo-rdzeniowego (pleocytoza jednojądrzasta, wysokie stężenie białka). Duże znaczenie ma wykrycie krążącego, rozpuszczalnego antygeny *T. gondii* we krwi i płynach ustrojowych (płyn mózgowo-rdzeniowy, wewnątrzgałkowy). W celu potwierdzenia zarażenia ciężarnej wykorzystywane są swoiste badania serologiczne i ocena awidności IgG. Diagnostyka pourodzeniowa obejmuje badanie serologiczne krwi pępowinowej na obecność swoistych p/ciał IgM i IgG oraz porównanie profilu p/ciał w surowicy krwi matki i noworodka metodą Western Blot lub ELIFA. Diagnostyka toksoplazmozy wrodzonej u noworodka opiera się na wykrywaniu pierwotniaka, jego antygeny lub kwasów nukleinowych we krwi pępowinowej, płynie owodniowym, łożysku i/lub płynach ustrojowych. Badania obrazowe płodu (USG, TK, RM) stosuje się w zależności od stanu klinicznego ciężarnej zarażonej *T. gondii* [13,14].

22.6. *Entamoeba histolytica*

Materiałem do badań jest treść pobrana z ropni i sporządzone preparaty histopatologiczne (barwione H+E). W celu wykrycia i różnicowania *E. histolytica* zakłada się hodowle na podłożach sztucznych (Robinsona i Myjaka). W diagnostyce serologicznej wykorzystuje się testy IHA i ELISA. Do odróżnienia inwazji *E. histolytica* od innych morfologicznie identycznych gatunków (*E. dispar*, *E. moshkovski*) wykorzystuje się techniki biologii molekularnej (n-PCR, rt-PCR, LC-PCR). W przypadku pełzakowicy pozajelitowej (narządowej) wykorzystuje się metody diagnostyki obrazowej (USG, TK, MR).

22.7. Neurocysticerkoza (wągryca mózgu) wywoływana przez *Taenia solium*

Rozpoznanie wągrycy ośrodkowego układu nerwowego opiera się głównie na badaniach obrazowych: tomografii komputerowej lub magnetycznym rezonansie jądrowym. Najbardziej charakterystyczne są **mnogie hipodensyjne** zmiany o charakterze drobnych torbieli, z otaczającą je strefą odczynu zapalnego, nieulegające wzmocnieniu po podaniu kontrastu. Spotyka się także zwapnienia śródmózgowe. Badania serologiczne mają ograniczone znaczenie, stosuje się testy ELISA i immunoblot. Większą wartość diagnostyczną ma znalezienie swoistych przeciwciał w płynie mózgowo-rdzeniowym. W większości aktywnych przypadków wągrycy badanie ogólne płynu mózgowo-rdzeniowego wykazuje umiarkowaną pleocytozę jednojądrową wraz z podwyższonym stężeniem białka i najczęściej prawidłowym stężeniem glukozy.

- Wągry w mięśniach są wykrywane w czasie badań rentgenowskich, w postaci mnogich zwapnień.
- Pasożyty w oku wykrywa się badaniem oftalmoskopowym.
- Wągryca tkanki podskórnej daje możliwość histopatologicznego i parazytologicznego potwierdzenia zarażenia.

22.8. *Taenia multiceps*

Kryteriami pozwalającymi na rozpoznanie bąblowicy są swoiste przeciwciała wykrywane testami serologicznymi (ELISA, Western Blot) i typowe zmiany narządowe w badaniach obrazowych (USG, TK, MR). Obecność protoskoleksów, haków lub DNA tasiemca w biopsjach lub w treści torbieli uzyskanej za pomocą biopsji cienkoigłowej potwierdza inwazję *E. granulosus*. Ryzyko uwolnienia protoskoleksów oraz wystąpienia wstrząsu anafilaktycznego podczas biopsji torbieli ogranicza stosowanie tej metody [15].

22.9. Bąblowica OUN wywoływana przez *Echinococcus multilocularis*

W diagnostyce stosuje się testy serologiczne, które weryfikuje się z badaniami obrazowymi (USG jamy brzusznej, TK, MR). Zastosowanie testu ELISA z antygenem Em2+ pozwala na potwierdzenie inwazji *E. multilocularis*. Rozpoznanie alweokokozy opiera się na wyniku badania śródoperacyjnego lub autopsyjnego. Potwierdzeniem rozpoznania może być zastosowanie metod biologii molekularnej (PCR) [16].

22.10. *Toxocara canis*

Badania koproscopowe wykonywane są tylko u psów. U ludzi wykonuje się badania serologiczne, w których poszukuje się swoistych przeciwciał stosując metody ELISA lub Western Blot z wydalniczo-wydzielniczym antygenem larw *T. canis*. Za pomocą technik biologii molekularnej (PCR, RFLP) można wykryć DNA pasożyta w materiale biopsyjnym. Stosowane są również badania obrazowe (RTG, TK, MR), badania krwi (leukocytoza, eozynofilia, niedokrwistość niedobarwliwa, hipergammaglobulinemia, podwyższone stężenie aminotransferaz).

Piśmiennictwo:

1. Stothard DR, Schroeder-Diedrich JM, Awwad MH. i wsp. The evolutionary history of the genus *Acanthamoeba* and the identification of eight new 18S rRNA gene sequence types. *J Euk Microb*, 1998, 45:45-54.
2. Booton GC, Visvesvara GS, Byers TJ i wsp. Identification and distribution of *Acanthamoeba* species genotypes associated with nonkeratitis infectious. *J Clin Microb*, 2005, 43:1689-93.
3. Kim JH, Jung SY, Lee YJ i wsp. Effects of therapeutic chemicals in vitro and on experimental meningitis caused by *Naegleria fowleri*. *Chemother*. 2008;52:4010-16.
4. Vargas-Zepeda J, Gomez-Alcala AV, Vasquez-Morales JA. i wsp. Successful treatment of *Naegleria* PAM with intravenous amphotericin B, fluconazole and rifampicin. *Arch Med Res*. 2005;36:83-6.
5. Sottów SM, Brenner GM. Synergistic effects of azithromycin and amphotericin B against *Naegleria fowleri* in vitro and in a mouse model of primary amebic meningitis. *Chemother*. 2007; 51:23-7.
6. Goswick SM, Brenner GM. Activity of azithromycin and amphotericin B against *Naegleria fowleri* in vitro and mouse model of primary amebic meningitis. *Chemother*. 2003;47:524-8.
7. Yoder JS, Eddy BA, Visvesvara GS. I wsp. Epidemiology of primary amebic meningitis in the United States, 1962-2008. *Epidemiol Infect*. 2010;138:968-75.
8. Aichelburg AC, Walochnik J, Assadian O. i wsp. Successful treatment of disseminated *Acanthamoeba* infection with miltefosine. *Emerg Infect Dis*. 2008;14:1743-6.
9. Seidel J, Harmatz P, Visvesvara GS. i wsp. Successful treatment of primary amoebic meningitis. *New Engl J Med* 1982;306:346-8.
10. Visvesvara GS, Moura H, Schuster FL. Pathogenic and opportunistic free-living amoebae: *Acanthamoeba*, *Balamuthia mandrillaris*, *Naegleria fowleri* and *Sappinia diploidea*. *FEMS Immunol Med Microbiol*. 2007;50:1-26.
11. Linam WM, Ahmed M, Cope JR. I wsp. Successful treatment of an adolescent with *Naegleria fowleri* primary amoebic meningitis. *Pediatrics*. 2015; 135: E744-8.
12. Błaszowska J, Ferenc T, Kurnatowski P. *Zarys parazytologii medycznej*. EDRA Urban & Partner, Wrocław, 2017. 1-141
13. Pawłowski ZS, Stefaniak J. red. *Parazytologia kliniczna w ujęciu wielodyscyplinarnym*. Wydawnictwo Lekarskie PZWL, Wyd. I. Warszawa 2004.

-
14. Remington JS, McLeod R, Wilson CB. I wsp. Toxoplasmosis. In: Remington JS, Klein JO, editors. *Infectious Diseases of the Fetus and Newborn Infant*. 7th ed. Philadelphia, PA: The WB Saunders Co.; 2011. 918-1041.
 15. Brunetti, E., Kern, P., Vuitton i wsp., 2010. Expert consensus for the diagnosis and treatment of cystic and alveolar echinococcosis in humans. *Acta Tropica*, 114(1), 1–16.
 16. Vuitton, D.A., Demonmerot, F., Knapp, J. i wsp. Clinical epidemiology of human AE in Europe. *Veterinary parasitology*, 2015, 213(3–4), 110–120.
-

23. OZNACZANIE WRAŻLIWOŚCI NA ANTYBIOTYKI CZYNNIKÓW ETIOLOGICZNYCH ZAKAŻEŃ OUN

W przypadku izolacji i identyfikacji czynnika etiologicznego zakażeń OUN, kolejnym etapem diagnostycznym jest określenie wrażliwości izolatu na antybiotyki/chemioterapeutyki stosowane w terapii. Wszystkie laboratoria mikrobiologiczne w Polsce wykonujące oznaczenia lekowrażliwości są zobowiązane od dnia 1 kwietnia 2011 roku do stosowania zaleceń przeprowadzania oznaczenia lekowrażliwości drobnoustrojów oraz interpretacji uzyskanych wyników wg. Rekomendacji Europejskiego Komitetu ds. Oznaczania Lekowrażliwości EUCAST (*ang.* European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing).

W interpretacji wyników testów oznaczania lekowrażliwości niezwykle istotne jest korzystanie z aktualnych tablic EUCAST (<http://www.eucast.org/>), dostępnych również w języku polskim na stronie internetowej KORLD (<https://korld.nil.gov.pl/>). Kolejnym ważnym dokumentem jest Stanowisko Zespołu Roboczego ds. oznaczania lekowrażliwości zgodnie z zaleceniami EUCAST, dostępne również na stronie KORLD.

Dla izolatów wyhodowanych z materiałów klinicznych od pacjentów z OUN bezwzględnie należy oznaczać wartość MIC, nie należy wykonywać badania metodą dyfuzyjno-krążkową.

23.1. Oznaczanie lekowrażliwości drobnoustrojów metodami automatycznymi

Oznaczanie lekowrażliwości drobnoustroju, będącego czynnikiem etiologicznym zakażenia, jest ostatnim elementem badania mikrobiologicznego, ale pod wieloma względami najważniejszym. W aspekcie indywidualnym umożliwia wybór najodpowiedniejszej dla danego pacjenta i postaci zakażenia terapii antybiotykowej. W kontekście epidemiologicznym, analiza profili lekowrażliwości pomaga śledzić trendy w oporności na antybiotyki wśród patogenów, monitorować rozprzestrzenianie się i pojawianie się nowych mechanizmów oporności, tworzyć schematy empirycznej antybiotykoterapii i prowadzić nadzór nad zakażeniami szpitalnymi [1].

Najstarsze i najbardziej rozpowszechnione są fenotypowe manualne metody oznaczania lekowrażliwości, w których drobnoustroje inkubowane są na specjalnych podłożach mikrobiologicznych w obecności badanego antybiotyku. Zahamowanie wzrostu mikroorganizmu świadczy o skuteczności *in vitro* danego leku wobec badanego szczepu. Metody te można podzielić na jakościowe (met. dyfuzji z krążka nasączonego antybiotykiem) oraz ilościowe (met. seryjnych rozcieńczeń antybiotyku w bulionie lub agarze oraz met. dyfuzji z paska nasączonego gradientem stężeń antybiotyku) [3]. Techniki jakościowe pozwalają jedynie na zakwalifikowanie drobnoustroju do kategorii wrażliwy lub oporny na badany lek. Metody ilościowe pozwalają na określenie minimalnego stężenia antybiotyku hamującego (MIC) wzrost drobnoustroju, które najlepiej określa stopień prawdopodobieństwa sukcesu terapeutycznego.

Na potrzeby ujednoczenia sposobu wykonania i odczytu oznaczeń lekowrażliwości oraz reguł interpretacji wyników, powstały rekomendacje towarzystw naukowych, m.in. CLSI (Clinical and Laboratory Standards Institute) oraz obowiązujące w Polsce – EUCAST.

Metody manualne są szeroko rozpowszechnione i część z nich jest stosowana w większości diagnostycznych laboratoriów mikrobiologicznych na świecie. Ich główną zaletą jest łatwość wykonania i stosunkowo niski koszt oznaczenia. Niestety są czasochłonne, wynik można uzyskać po 18-24 godzinach inkubacji, a odczyt testów jest subiektywny. Potrzeba szybszego uzyskiwania informacji o skutecznych opcjach terapeutycznych wymusiła stworzenie automatycznych systemów do oznaczania lekowrażliwości. Są to nadal metody fenotypowe do półilościowego lub ilościowego określania wrażliwości bakterii i grzybów na antybiotyki, wykorzystujące technikę mikrorozcieńczeń antybiotyku w podłożu płynnym [2].

W polskich laboratoriach najczęściej wykorzystuje się systemy:

- Vitek 2 (bioMérieux) – oznaczenie przebiega na małych, szczelnych kartach z 64 dołkami zawierającymi zliofilizowane antybiotyki w rozcieńczeniach. Czynności manualne użytkownika ograniczają się do wykonania zawiesziny drobnoustroju i umieszczenia jej wraz z kartą w aparacie; napełnienie karty następuje automatycznie. Wyniki dostępne są po 4-8 godzinach. W ofercie producenta są odczynniki do oznaczania lekowrażliwości bakterii Gram-dodatnich, Gram-ujemnych i grzybów drożdżopodobnych.

- Phoenix (Becton Dickinson) – panel do oznaczenia lekowrażliwości zawiera 136 studzienek reakcyjnych, w których znajdują się różne stężenia antybiotyków w podwójnych powtórzeniach. Napełnianie panelu zawieszoną drobnoustroju odbywa się manualnie, a wyniki uzyskuje się po 6-16 godzinach. Dostępne są panele do oznaczania lekowrażliwości bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.
- MicroScan Walk Away (Beckman Coulter) – 40-96 dołkowa tacka do badania lekowrażliwości wymaga manualnego uwodnienia, a następnie inokulacji. Inkubacja i odczyt wyników zajmuje 4,5-18 godzin. System pozwala na badanie większości szybko rosnących bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych.

Systemy te redukują liczbę czynności manualnych przy przygotowywaniu badania, co przekłada się na mniejszą liczbę błędów ludzkich. Inkubacja i odczyt odbywa się na pokładzie aparatu, a najczulsze systemy detekcji drobnoustrojów są w stanie wykryć najmniejsze różnice we wzroście drobnoustroju. Interpretacja wyników odbywa się automatycznie, użytkownik dostaje gotowy wynik zawierający wartość lub zakres stężeń hamujących dla każdego oznaczonego antybiotyku oraz interpretację wrażliwości, zgodną z rekomendacjami EUCAST. Zintegrowane z aparatami systemy komputerowe wyposażone są w programy eksperckie, które analizują wyniki pod kątem wykrycia nietypowych fenotypów oporności. Standardowo oprócz określenia wrażliwości badanego szczepu na antybiotyki, automatyczne systemy wykrywają najczęściej spotykane mechanizmy oporności (np. MRSA, VRE, ESBL, CRE) na podstawie algorytmów. Potwierdzenie wykrytego mechanizmu powinno być wykonane metodą rekomendowaną przez EUCAST, a nietypowe wyniki dla poszczególnych antybiotyków powtórzone metodą manualną. Dla każdego oznaczanego antybiotyku przeprowadzana jest wewnętrzna kontrola jakości wzrostu drobnoustroju, jak również każdy z producentów określa zasady zewnętrznej kontroli jakości przeprowadzanych testów. Należy pamiętać, że podawana przez wyżej wymienione systemy wartość MIC nie jest wartością MIC rzeczywistego, lecz wyliczonego przez oprogramowanie na podstawie wzorca wzrostu badanego drobnoustroju w studzienkach zawierających tylko kilka rozcieńczeń antybiotyku [2,3]. Do oznaczenia rzeczywistej wartości MIC konieczna jest seria, co najmniej pięciu kolejnych dwukrotnych rozcieńczeń.

Nie na każdy antybiotyk można oznaczyć wrażliwość metodą automatyczną, ze względu na przeszkody techniczne lub ograniczenia związane z samą cząsteczką antybiotyku. Ważne jest, by użytkownik aparatu do oznaczania lekowrażliwości na bieżąco śledził i przestrzegał informacji producenta testów o ograniczeniach dotyczących wiarygodności wyników podawanych przez system, jak również ostrzeżeń wydawanych przez EUCAST. Przykładowo, od roku 2016 obowiązuje ostrzeżenie dotyczące badania wrażliwości na kolistynę. Ze względu na wielkość cząsteczki i problemy z jej dyfuzją, jedyną wiarygodną metodą oznaczania wrażliwości na kolistynę jest metoda mikrorozcieńczeń w bulionie. Wyniki oznaczenia kolistyny podawane przez automatyczne systemy nie mogą być umieszczane na wyniku badania mikrobiologicznego.

Systemem zaprojektowanym do oznaczania rzeczywistych wartości MIC dostępnym w Polsce jest Sensititre ARIS HiQ (Thermo Fisher). Zautomatyzował on metodę mikrorozcieńczeń w podłożu płynnym na płytkach titracyjnych (inokulację płytki, inkubację i odczyt) tak, że referencyjna metoda oznaczania MIC stała się przyjazna dla medycznych laboratoriów diagnostycznych. Dodatkową zaletą systemu jest możliwość samodzielnego projektowania składu antybiotyków na płytce zgodnie z lokalnymi potrzebami. Przy użyciu aparatu można wykonać oznaczenie lekowrażliwości większości bakterii tlenowych, beztlenowych oraz grzybów.

Sytuacją kliniczną, która szczególnie wymaga szybkiego wyniku badania mikrobiologicznego jest sepsa. Niedawno na rynku polskim pojawiły się dwa systemy, które umożliwiają wykonanie lekowrażliwości bezpośrednio z butelki z dodatnim posiewem krwi. Pierwszy z nich, Vitek Reveal (bioMérieux) pozwala na razie na oznaczenie wrażliwości wyłącznie bakterii Gram-ujemnych na 23 antybiotyki w średnio 5,5 godz [7]. Aparat wykorzystuje bardzo czułe detektory wzrostu drobnoustrojów i monitoruje wartości MIC w czasie rzeczywistym. Drugi system, dRast (QuantaMatrix) posiada panele do oznaczania lekowrażliwości najczęściej izolowanych z posiewów krwi bakterii Gram-dodatnich i Gram-ujemnych [4]. Wyniki dostępne są po ok. 6 godzinach i prezentowane są jako MIC wraz z interpretacją zgodną z rekomendacjami EUCAST. W obu aparatach praca manualna użytkownika zredukowana jest do minimum, a uzyskane wyniki uznaje się za ostateczne, w związku z czym nie ma potrzeby powtarzania ich po uzyskaniu wzrostu bakterii na podłożach stałych.

Doskonałym uzupełnieniem automatycznych metod badania lekowrażliwości są techniki oparte na biologii molekularnej. Wykrywanie genów oporności, czy to w wyhodowanym mikroorganizmie, czy też bezpośrednio w materiale klinicznym pobranym od pacjenta, nie zastępuje antybiogramu, ale pomaga dobrać najbardziej odpowiednią terapię empiryczną oraz stanowi ważny element kontroli zakażeń szpitalnych. Oznaczenia można wykonać w systemach otwartych lub zamkniętych; niewątpliwą zaletą systemów zamkniętych jest uproszczenie etapu przygotowania próbki do badania (ograniczające się

zazwyczaj do dodania materiału klinicznego do zamkniętego kartridża testowego) oraz brak wymogu posiadania pomieszczeń o klasie czystości/bezpieczeństwa właściwej dla laboratorium molekularnego. Wyniki w systemach zamkniętych dostępne są już po ok. 1 godz. Niektóre z analizatorów oferują testy wykrywające jednocześnie kilkanaście patogenów oraz geny warunkujące mechanizmy oporności bezpośrednio w materiałach klinicznych pobranych od pacjentów z sepsą, zakażeniem ośrodkowego układu nerwowego, przewodu pokarmowego, układu oddechowego lub stawów. W innych analizatorach testy skierowane są na wykrycie jednego patogenu wraz z jego ewentualnymi mechanizmami oporności na antybiotyki. Wybór na rynku jest bardzo duży, ograniczeniem jest zazwyczaj koszt aparatu i pojedynczego badania. Oczywiście zawsze trzeba mieć na uwadze fakt, że wykrycie genu oporności nie musi mieć przełożenia na fenotypową ekspresję oporności. Zgodnie z wytycznymi EUCAST [6] rekomendowanymi metodami potwierdzania ekspresji oporności są te, oparte głównie na technice dyfuzyjno-krażkowej. Metody PCR bez konieczności weryfikacji można wykorzystać jedynie do wykrywania MRSA i VRE.

Mówiąc o technikach PCR, warto wspomnieć o systemie reprezentującym bardzo nowoczesne podejście do diagnostyki mikrobiologicznej. Połączenie reakcji PCR z rezonansem magnetycznym w systemie T2 (Biosystems) umożliwia wykonanie badania z pełnej krwi pacjenta z bakteriami/fungemiami bez konieczności wcześniejszego uzyskania dodatniego posiewu krwi [5]. Trwające 4-6 godzin badanie nie tylko identyfikuje drobnoustroje (bakterie i grzyby) najczęściej odpowiedzialne za sepsę szpitalną, ale również wykrywa najgroźniejsze mechanizmy oporności, co ma przełożenie na terapię empiryczną i skuteczne leczenie. Poza tym niejednokrotnie jest czulsze od posiewu krwi, ale nie może go zastąpić, ze względu na ograniczenia takie jak stosunkowo niewielka liczba wykrywanych patogenów i brak pełnego antybiogramu. Tym niemniej stanowi bardzo cenne uzupełnienie diagnostyki klasycznej.

Od wprowadzenia do rutynowego stosowania pierwszych manualnych technik oznaczania lekowrażliwości minęło niespełna 60 lat. Obecnie istniejące automatyczne metody z pewnością przyspieszyły i uprościły proces diagnostyki mikrobiologicznej, lecz nie były w stanie wyprzeć z laboratoriów diagnostycznych metody dyfuzyjno-krażkowej. Konieczne są dalsze prace nad systemami, które zapewnią jeszcze szybsze i w pełni wiarygodne wyniki lekowrażliwości. Trendy w technikach laboratoryjnych od kilku lat kierują mikrobiologię w stronę metod opartych o amplifikację materiału genetycznego (głównie PCR), proteomikę i sekwencjonowanie całego genomu.

Piśmiennictwo:

1. Salam MA, Al-Amin MY, Pawar JS, Akhter N, Lucy IB (2023) Conventional methods and future trends in antimicrobial susceptibility testing. *Saudi J Biol Sci* 30(3):103582. doi: 10.1016/j.sjbs.2013.103582.
2. Gajic I., Kabic J., Kekic D., Jovicevic M., Milenkovic M., Mitic Culafic D., Trudic A., Ranin L., Opavski N. Antimicrobial Susceptibility Testing: A Comprehensive Review of Currently Used Methods. *Antibiotics*. 2022;11:427. doi: 10.3390/antibiotics11040427.
3. Jorgensen JH, Ferraro MJ. Antimicrobial susceptibility testing: a review of general principles and contemporary practices. *Clin Infect Dis*. 2009;49(11):1749–55.
4. Wong AYW, Johnsson ATA, Özenci V. Performance of dRAST on Prospective Clinical Blood Culture Samples in a Simulated Clinical Setting and on Multidrug-Resistant Bacteria. *Microbiol Spectr*. 2022 Apr 27;10(2):e0210721.
5. Giacobbe DR, Crea F, Morici P, Magnasco L, Di Pilato V, Briano F, Willison E, Pincino R, Dettori S, Tutino S, Esposito S, Coppo E, Dentone C, Portunato F, Mikulska M, Robba C, Vena A, Battaglini D, Brunetti I, Ball L, Pelosi P, Marchese A, Bassetti M. T2Bacteria and T2Resistance Assays in Critically Ill Patients with Sepsis or Septic Shock: A Descriptive Experience. *Antibiotics (Basel)*. 2022 Dec 15;11(12):1823.
6. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Version 2.0. July 2017.
7. Rottman M, Rhodes PA, Singh P, Herrmann JL, Jeannot K, Cattoir V, Carbonnelle E, Plesiat P, Williams A, Dortet L. Clinical evaluation of the SPECIFIC REVEAL™ Rapid AST System with Gram-negative bacteremia samples in 6 hospitals in France and England. Poster presented at: 32nd European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (ECCMID); 2022 May; Lisbon, Portugal.

24. BEZPOŚREDNIE WYKRYWANIE DNA CZYNNIKÓW ETIOLOGICZNYCH NEUROINFEKCJI W MATERIALE KLINICZNYM

Od wielu lat rozwijane są metody pozwalające na identyfikację czynnika etiologicznego również wtedy, gdy niemożliwe jest uzyskanie dodatniego wyniku hodowli drobnoustroju np. na skutek rozpoczętej antybiotykoterapii. Adaptacja metod biologii molekularnej, a zwłaszcza łańcuchowej reakcji polimerazy (PCR) i jej odmiany (Real-time PCR), do identyfikacji drobnoustrojów pozwoliła na częstsze wykrywanie głównych czynników etiologicznych zakażeń. Technika ta opiera się na wykrywaniu w materiale klinicznym pobranym od pacjenta specyficznego, dla poszczególnych gatunków, grup i typów drobnoustrojów materiału genetycznego. Metoda jest stosunkowo prosta i bardzo czuła, do badania wystarczy mała objętość materiału, ponieważ PCR umożliwia powielanie materiału genetycznego obecnego w badanej próbce. Wykorzystując metodę PCR i specyficzne startery otrzymujemy jednoznaczny wynik w postaci produktu amplifikacji o odpowiedniej wielkości. Wynik taki jest powtarzalny i łatwy do interpretacji **pod warunkiem dostarczenia do laboratorium prawidłowo zabezpieczonej oraz prawidłowo pobranej próbki klinicznej.**

Zaletą metod wykorzystujących PCR jest fakt, że potrafi ona dać dodatnie wyniki dla próbek pobranych nawet do 72 godzin od wdrożenia u pacjenta leczenia przeciwdrobnoustrojowego (wykrywany jest materiał pochodzący z zabitych komórek). Metoda PCR sprawdza się również wtedy, gdy do badań pobrano bardzo małą objętość próbki materiału klinicznego, (co nierzadko ma miejsce u dzieci) lub też materiał biologiczny zawiera bardzo małą liczbę drobnoustrojów.

Jeśli w pracowni nie jest możliwe szybkie wykonanie takiego badania, to materiały kliniczne należy niezwłocznie po pobraniu zabezpieczyć, a następnie zbadać w późniejszym czasie na miejscu lub wysłać do ośrodka, który takie badania wykonuje (patrz poniżej).

W KOROUN stosuje się metodę PCR do potwierdzania etiologii ZOMR, wywołwanego przez najczęstsze bakteryjne czynniki etiologiczne: *N. meningitidis*, *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *L. monocytogenes*, *S. agalactiae* i *E. coli*. Dla szczepów otoczkowych *H. influenzae*, oprócz identyfikacji gatunku, istnieje również możliwość określania typów serologicznych, a w przypadku *N. meningitidis* najczęstszych grup serologicznych A, B, C, Y i W. Dla pneumokoków możliwa jest identyfikacja gatunku i wybranych typów serologicznych. Materiałem klinicznym przydatnym w diagnostyce molekularnej są: krew, surowica krwi, PMR oraz materiały kliniczne pobrane *post mortem* (krew z komór serca, wycinki śledziony, nerki, płuc, wątroby oraz fragmenty zmienionej krwotocznie skóry (wybroczyny).

24.1. Zabezpieczenie materiału do reakcji PCR

24.1.1. Krew

Najlepsze wyniki w diagnostyce niehodowlanej uzyskuje się dla pełnej krwi pobranej na EDTA, ale badana może być również krew pobrana na heparynę lub cytrynian. Optymalna objętość krwi, którą należy pobrać do badań metodą PCR to 2–3 ml od osób dorosłych i 0,5–1 ml od noworodków. Do momentu wysłania próbki krwi do badania molekularnego można ją przechowywać do tygodnia w temperaturze lodówki. Próbkę w kierunku diagnostyki należy przesyłać do laboratorium prowadzącego diagnostykę niehodowaną (np. KOROUN) kurierem w temp. pokojowej, w jałowej, szczelnie zamkniętej i dokładnie opisanej probówce o odpowiedniej wielkości w stosunku do objętości próbki. Powyżej tygodnia próbkę krwi należy zamrozić w -20°C (najlepiej w -70°C) i przesać do badania najlepiej na suchym lodzie lub z wkładem chłodzącym.

24.1.2. Surowica

W przypadkach potwierdzonej choroby inwazyjnej czułość reakcji PCR na bazie surowicy jest nieco mniejsza niż dla krwi. Minimalna objętość materiału do badań PCR to 2 ml. Warunki przechowywania i transportu surowicy są takie same jak dla krwi.

24.1.3. PMR

Wymagana minimalna objętość PMR do badania PCR to 200 μl , ale większa objętość umożliwia powtórzenie lub rozszerzenie badań, w razie potrzeby. Warunki przechowywania i transportu PMR są takie same jak dla krwi i surowicy.

UWAGA!

Próbki materiałów klinicznych muszą być pobrane od pacjenta możliwie najszybciej, ale nie później niż w ciągu 72 godzin od włączenia antybiotykoterapii. KOROUN lub inne laboratorium prowadzące diagnostykę niehodowlaną zastrzega sobie prawo do odmowy wykonania badania, gdy próbki materiału pobrano później lub zostały źle zabezpieczone.

24.1.4. Materiały kliniczne pobrane *post mortem*

Jeśli przed ustaleniem etiologii zakażenie doprowadzi do zgonu pacjenta, do badania molekularnego należy wysłać materiały kliniczne pobrane śródsekcyjnie. Najlepszym materiałem do badań jest krew z komór serca (2 ml) i PMR (2 ml). Jeśli nie ma możliwości uzyskania próbki krwi należy przestać wycinki śledziony, płuc, wątroby czy nerki (0,5 x 0,5 x 0,5 cm), a w przypadku wybroczyn, również fragmenty zmienionej skóry. W celu otrzymania wiarygodnego wyniku najlepiej przeprowadzać badanie, na co najmniej dwóch materiałach pobranych od pacjenta, ponieważ identyfikacja rzeczywistych bakteryjnych czynników etiologicznych ZOMR z materiałów śródsekcyjnych jest trudna z powodu kontaminacji próbek florą endogenną (pośmiertne namnażanie i przemieszczanie się flory endogennej). Pobrane próbki materiału (krew, PMR, fragmenty tkanek) należy do 2 dni przechowywać w lodówce. Powyżej 2 dni próbki należy zamrozić w -20°C (najlepiej w -70°C) i przestać wraz z wypełnioną ankietą na suchym lodzie lub z wkładem chłodzącym, po wcześniejszym telefonicznym uzgodnieniu z laboratorium prowadzącym diagnostykę niehodowlaną (np. KOROUN).

UWAGA!

Wszystkie czynności związane z opracowywaniem próbek z autopsji powinny być wykonywane w boksie laminarnym. Konieczny jest ubiór ochronny (fartuch i rękawiczki).

Piśmiennictwo:

1. Molecular technique W: Leber AL, Burnham CAD. Clinical Microbiology, Procedures Handbookm 2023, Fifth Edition, Volum 4; 14.0.1.

24.2. Panele syndromiczne w diagnostyce zakażeń OUN

Rutynowe badania laboratoryjne, jak ogólne badanie płynu mózgowo-rdzeniowego, pomagają w szybkim różnicowaniu infekcji bakteryjnych i wirusowych, ale nie pozwalają na szczegółową identyfikację czynnika etiologicznego zakażenia. Złotym standardem w diagnostyce zakażeń OUN pozostają klasyczne metody mikrobiologiczne (tj. preparat bezpośredni i posiew), które jednak charakteryzują się ograniczoną czułością, którą w przypadku posiewu dodatkowo obniża wcześniejsza antybiotykoterapia. Poza tym hodowla jest czasochłonna, co opóźnia moment włączenia leczenia celowanego.

Nowe możliwości w postaci szybkiego i precyzyjnego badania otwiera zastosowanie multipleksowych paneli mPCR o szerokim spektrum, które jednoznacznie wskazują na czynnik etiologiczny i pozwalają na szybkie włączenie terapii celowanej (np. zastosowanie acyklowiru w zakażeniu wirusem HSV) lub odstąpienia od leczenia empirycznego wykorzystującego antybiotykoterapię.

Rozwój technologii w dziedzinie metod molekularnych prowadzi do coraz nowszych rozwiązań w diagnostyce mikrobiologicznej infekcji układu nerwowego. Należą do nich multipleksowe panele molekularne (tzw. panele syndromiczne) pozwalające na identyfikację dużej liczby patogenów w jednej próbce oraz określenie ich mechanizmów oporności [1]. Nowatorskie podejście do szybkiej multipleksowej diagnostyki etiologicznej w neuroinfekcji OUN w PMR może znacznie usprawnić i przyspieszyć proces podejmowania decyzji klinicznych oraz zoptymalizować samą antybiotykoterapię.

Aktualnie zastosowanie mają nowoczesne panele multiplex PCR (mPCR), tzw. „Syndromic Testing”, skracając znacznie czas do uzyskania wyniku. Multiplex PCR zastosowany w panelach pozwala na kompleksową identyfikację prawdopodobnych grup patogenów mogących wywoływać dane objawy chorobowe w jednym szybkim teście [1]. Panel syndromiczny, inaczej objawowy wybieramy w zależności od prezentowanych objawów, np. panel patogenów bakteryjnych, wirusowych najczęściej wywołujących ZOMR, zapalenie mózgu.

Metoda ma wysoką czułość i swoistość. Jednak wykrycie materiału genetycznego nie musi świadczyć o aktywnym zakażeniu – jego obecność może utrzymywać się przez pewien czas po wyzdrowieniu (czas przetrwania DNA/RNA po ustąpieniu zakażenia w poszczególnych materiałach klinicznych dla wielu patogenów nie został jasno określony). Istotną wadą paneli syndromicznych jest także dość wysoki koszt. Diagnostyka infekcji OUN za pomocą paneli syndromicznych stanowi dużą szansę na szybkie i trafne rozpoznanie. Infekcje OUN, w tym zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych, zapalenie mózgu i rdzenia kręgowego, są powodowane różnymi czynnikami zakaźnymi (bakteryjnymi, wirusowymi, grzybiczymi, rzadziej pasożytniczymi), których część jest niewykrywalna przy zastosowaniu metod klasycznych. Szacuje się, że do 50% przypadków zapalenia mózgu i ok. 60% zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych ma nieznaną etiologię.

Obecnie, w zależności od producenta, dostępne są panele o szerokim profilu etiologicznym lub skierowane na określone grupy drobnoustrojów, np. wirusowe, bakteryjne lub łączone. Niektóre pracownie diagnostyczne oferują indywidualnie złożony panel np. z dodatkową możliwością wykrycia materiału genetycznego określonego patogenu (np. wirusa JC).

Panel syndromiczny obejmujący grupę wirusów DNA (m.in. wirus HSV-1, HSV-2, VZV, EBV, CMV, HHV-6) posiadających zdolność latencji jest szczególnie użyteczny w sytuacjach, gdy cechy infekcji układu nerwowego są niecharakterystyczne, a status immunologiczny jak immunosupresja, leczenie onkologiczne mogą sprzyjać reaktywacji wirusa. Zastosowana w badaniu metoda Real Time – PCR pozwala na wykrywanie materiału genetycznego wirusa z wyjątkowo wysoką czułością i swoistością. Panele syndromiczne mają zastosowanie, gdy występują cechy zakażenia OUN (szeroki panel PCR) lub kliniczne podejrzenie zapalenia autoimmunologicznego (wybrany panel przeciwciał).

Multipleksowe panele syndromiczne mPCR umożliwiają:

- szybką identyfikację wielu patogenów z pojedynczej próbki, a odpowiednio zastosowany i zinterpretowany panel pozwala na sprawne podjęcie decyzji dotyczącej dalszego postępowania z pacjentem,
- zrationalizowanie antybiotykoterapii – szybsze włączenie leczenia celowanego lub ograniczenie/odstąpienie od niepotrzebnej terapii empirycznej, co z kolei ma wpływ na rokowanie i ograniczenie kosztów innych badań.

Obecnie istnieje wiele systemów różnych firm umożliwiających szybką i precyzyjną diagnostykę wykorzystującą multiplex PCR, co pozwala na dobór odpowiedniego rodzaju panelu w oparciu o przesłanki kliniczne.

Łączenie w panele jest możliwe także w detekcji przeciwciał, co wykorzystywane jest w diagnostyce autoimmunologicznych schorzeń ukierunkowanych na grupę przeciwciał często np. w technice immunoblot. W diagnostyce autoimmunologicznych zapaleń mózgu wykrywa się przeciwciała przeciw receptorom powierzchniowym i kanałom jonowym (anty NMDA, AMPA, GABA, LGI1, CASPR2). Możliwa jest także detekcja przeciwciał onkoneuronalnych (jak np. anty HU, Yo, Ri, Ma2/Ta, amfifizynie, akwaporynie, GAD).

Piśmennictwo:

1. Słabisz S. Diagnostyka syndromiczna w wybranych zakażeniach układowych, Forum Zakażeń 2022;13: 173–180.



ISBN 978-83-949636-8-2
