

**Agnieszka Magdziak**

Zakład Mikrobiologii Klinicznej, Centrum Onkologii-Instytut im. Marii Skłodowskiej-Curie, Warszawa

# Możliwości diagnostyki laboratoryjnej w zakażeniach przewodu pokarmowego

## Possibilities of laboratory diagnostic in gastrointestinal infections

### STRESZCZENIE

Zakażenia przewodu pokarmowego są jedną z najczęściej występujących chorób u dzieci i osób dorosłych. Przyczyną mogą być czynniki bakteryjne, wirusowe czy pasożytnicze. Poznanie etiologii zakażenia i identyfikacja patogenu mają fundamentalne znaczenie dla podjęcia właściwego leczenia. Najlepszym rozwiązaniem diagnostyki zakażeń przewodu pokarmowego jest połączenie metod hodowlanych, serologicznych i molekularnych. Metody hodowlane znajdują zastosowanie głównie przy identyfikacji takich patogenów bakteryj-

nych, jak na przykład *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Plesiomonas* czy *Campylobacter*. Metody serologiczne są przydatne szczególnie w identyfikacji zakażeń rotawirusami, adenowirusami, norowirusami oraz w niektórych zakażeniach bakteryjnych, między innymi *Clostridium difficile*. Metody molekularne umożliwiają wykrycie w próbkach materiału klinicznego obecności kwasów nukleinowych patogenów, których często nie udaje się wyizolować konwencjonalnymi metodami.

**Gastroenterologia Kliniczna 2017, tom 9, nr 4, 106–113**

**Słowa kluczowe: infekcja, bakterie, wirusy, pasożyty**

### ABSTRACT

Gastrointestinal infections are one of the most common infections in older children and adults. Bacterial, viral or parasitic agent can be a cause. Understanding the etiology of infection and pathogen identification is fundamental to start a proper treatment. The best solution for diagnosis of infectious diseases in gastrointestinal tract is the combination of culturing, serological and molecular methods. The culture methods concern identification

of bacterial pathogens, including *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*, *Campylobacter*. Serological methods are particularly useful for detection of rotavirus, adenovirus and norovirus infections and some bacterial infection including *Clostridium difficile*. Molecular methods enable detection of nucleic acid of pathogens that are difficult to isolate with traditional methods.

**Gastroenterologia Kliniczna 2017, tom 9, nr 4, 106–113**

**Key words: infection, bacteria, viruses, parasites**

### WSTĘP

Od momentu narodzin człowieka przewód pokarmowy kolonizowany jest stopniowo florą bakteryjną, która po dwóch latach przypomina florę jelitową zdrowego, dorosłego człowieka, zawierając w każdym gramie treści jelitowej  $10^{11}$ – $10^{12}$  mikroorganizmów [1–3]. Flora bakteryjna przewodu pokarmowego u ludzi to zarówno drobnoustroje

korzystnie wpływające na zdrowie gospodarza, jak i niebezpieczne patogeny [4–6]. Dla pojawienia się klinicznych cech zakażenia lub zarażenia niezbędne jest spełnienie pewnych warunków: przekroczenie krytycznej liczby patogenów w miejscu ich zasiedlenia lub pojawienie się odpowiedniego stężenia toksyn uwalnianych przez te patogeny, osłabienie lub zniesienie ochronnej bariery kwasu solnego uwalnianego w żołądku lub

#### Adres do korespondencji:

Agnieszka Magdziak,  
Zakład Mikrobiologii Klinicznej,  
Centrum Onkologii-Instytut  
im. Marii Skłodowskiej-Curie,  
ul. Roentgena 5,  
02–781 Warszawa,  
tel.: 22 546 30 69,  
faks: 22 546 28 88,  
e-mail:  
agnieszka.magdziak@coi.pl

jelitowego mechanizmu eliminacji patogenów, zaburzenia czynności miejscowego i systemowego układu odpornościowego oraz odpowiedni czas [4–6]. Klasycznymi objawami ostrego/przewlekłego zakażenia lub zarażenia układu pokarmowego są: biegunka (wodnista lub z domieszką krwi), bóle brzucha, gorączka, wymioty. Laboratoryjne możliwości diagnozowania czynników etiologicznych biegunek są ogromne: od standardowych metod hodowlanych, poprzez metody serologiczne (w tym szybkie testy immunochromatograficzne [*rapid diagnostic tests*]) do najnowocześniejszych i najszybszych metod genetycznych. Stosowana jest również metoda mikroskopii, zwłaszcza w diagnostyce chorób pasożytniczych [7]. Pomimo istnienia szerokiego panelu badań laboratoryjnych, w około 1/3 przypadków zakażenia przewodu pokarmowego nie udaje się ustalić czynnika etiologicznego [8, 9]. Przyczyny tych niepowodzeń wynikają zarówno z biologicznej charakterystyki poszczególnych patogenów, jak i ograniczonego zakresu badań diagnostycznych zlecanych przez lekarzy oraz dostępności specjalistycznych badań w laboratoriach mikrobiologicznych.

## METODY HODOWLANE

Postępowanie diagnostyczne w celu ustalenia etiologii biegunki na tle bakteryjnym najczęściej przebiega jako posiew kału/wymazu z odbytu. W laboratorium mikrobiologicznym próbki kału lub wymazy z odbytu są badane w kierunku obecności tlenowych pałeczek Gram-ujemnych tj. *Salmonella*, *Shigella*, *Yersinia*, *Aeromonas*, *Plesiomonas*. Identyfikacja tych drobnoustrojów (możliwa w ciągu 24–72 godzin) opiera się na ich wzroście na podłożach agarowych wybiórczo-różnicujących (na przykład MacConkey, SS — podłoże *Salmonella Shigella*, CIN — Cefsulodin-Irgasan-Novobiocin), podłożach namnażających SF (podłoże płynne z kwaśnym selenianem sodu) oraz zdolności do przeprowadzania reakcji biochemicznych, na przykład fermentacji glukozy, laktozy, ramnozy, dekarboksylacji aminokwasów (lizyna, arginina, kwas glutaminowy), wytwarzaniu siarkowodoru, indolu czy ureazy powodującej rozkład mocznika itp. [3, 6].

Biochemiczną aktywność drobnoustrojów można określać metodami klasycznymi lub też przy użyciu paneli diagnostycznych, na przykład: pasków Api E, ApiNE (bioMerieux), testów rapid ID One, rapid ID NF Plus (Argenta), systemów GN24 (Diagnostics) oraz nowoczesnych, zautomatyzowanych systemów, na przykład karty GN (Vitek Compact-bioMerieux), panele diagnostyczne Phoenix NID (Phoenix-Becton Dickinson), panele MicroScan NID2 (system MicroScan Walkaway — Beckman Coulter). Identyfikacja może być prowadzona również poprzez określenie unikatowego profilu białkowego będącego charakterystycznym i niepowtarzalnym dla gatunku „molekularnym odciskiem palca”, przy użyciu spektrometru masowego typu MALDI-TOF (*Matrix Assisted Laser Desorption/Ionization Time-of-Flight Mass Spectrometry*) (Bruker, bioMerieux). Zastosowanie tej techniki pozwala na identyfikację drobnoustroju w ciągu zaledwie kilku minut [10, 11]. Na podstawie właściwości biochemicznych oraz profilu białkowego ustala się przynależność gatunkową drobnoustrojów. W przypadku niektórych bakterii ważne jest również określenie grupy serologicznej. Na podstawie budowy antygenowej wyróżniono kilkadziesiąt grup serologicznych pałeczek *Yersinia enterocolitica*, spośród których chorobotwórcze dla człowieka są szczepy należące do serotypów: O:3, O:5,27, O:8, O:9. W postępowaniu diagnostycznym, w celu wykluczenia kolonizacji szczepami niechorobotwórczymi *Yersinia enterocolitica* niezbędne jest potwierdzenie grupy serologicznej (na przykład przy użyciu testów lateksowych) oraz patogenności wyhodowanego szczepu, na przykład przy użyciu podłoża CRMOX (Congo Red Magmesium Oxylate) lub metod genetycznych. W przypadku pałeczek *Salmonella* pełna identyfikacja szczepu wymaga ustalenia typu serologicznego i najczęściej przeprowadzana jest w stacjach sanitarno-epidemiologicznych [5, 6, 12].

Do bakteryjnych czynników zakażeń przewodu pokarmowego należą chorobotwórcze pałeczki *Escherichia coli*: enteropatogenne (EPEC, *enteropathogenic E. coli*), enterotoksynogenne (ETEC, *enterotoxigenic E. coli*), enterokrwotoczne (EHEC, *enterohemorrhagic E. coli*/STEC, *shiga-toxigenic*

*E. coli*/VTEC, *vero-toxigenic E. coli*), enteroinwazyjne (EIEC, *enteroinvasive E. coli*) oraz enteroagregacyjne (EAEC, *enteroaggregative E. coli*). O ile wyhodowanie *E. coli* na podłożach hodowlanych jest łatwe i możliwe w każdym medycznym laboratorium mikrobiologicznym, o tyle określić chorobotwórczość szczepu można wyłącznie przy zastosowaniu specjalistycznych podłoży, testów serologicznych lub też metod biologii molekularnej. Przykładowo, pałeczki *E. coli* O157 zaliczane do VTEC, charakteryzują się z reguły brakiem zdolności do fermentacji sorbitolu. Właściwość ta została wykorzystana do hodowli drobnoustroju na podłożu agarowym SMAC (MacConkey agar, w którym laktozę zastąpiono sorbitolem). Dalsza identyfikacja wymaga określenia chorobotwórczości wyhodowanego szczepu poprzez wykrycie werotoksyn (na przykład testem lateksowym) lub genów kodujących werotoksyny oraz intyminę metodą amplifikacji kwasów nukleinowego (NAAT, *nucleic acid associated techniques*) [5–7].

Metoda hodowlana jest również stosowana do poszukiwania w kale/wymazie z odbytu mikroaerofilnych Gram-ujemnych pałeczek z rodzaju *Campylobacter*, wywołujących u człowieka odzwierzęcą chorobę nazywaną kamylobakteriozą. Z danych epidemiologicznych wynika, że w Europie, a także w Ameryce Północnej, bakterie z rodzaju *Campylobacter*, w tym przede wszystkim *C. jejuni* i *C. coli*, są najczęściej izolowanymi patogenami w przebiegu zakażeń przewodu pokarmowego u ludzi [13, 14]. Hodowlę bakterii z rodzaju *Campylobacter* należy prowadzić przez 1–5 dni w atmosferze: 5% O<sub>2</sub>, 10% CO<sub>2</sub>, 85% N<sub>2</sub>, w temperaturze 42°C, stosując wzbogacone selektywne pożywki najczęściej z dodatkiem 5% krwi baraniej lub końskiej [5, 6, 13]. Po uzyskaniu wzrostu drobnoustrojów na pożywkach stałych przeprowadza się wstępne testy identyfikacyjne, takie jak: preparat przyżyciowy (pozwalający na sprawdzenie zdolności do ruchu), preparat barwiony metodą Grama (poszukujemy Gram-ujemnych, spiralnych lub sierpowatych komórek) oraz test na wytwarzanie oksydazy cytochromowej. Różnicowanie pałeczek *Campylobacter* do gatunku jest możliwe przy użyciu testów

biochemicznych (na przykład API Campy firmy bioMerieux) oraz spektrometru masowego [6, 11, 13].

## METODY SEROLOGICZNE

Badania serologiczne są powszechnie wykorzystywane w diagnostyce wielu chorób zakaźnych przewodu pokarmowego. Stosowane metody polegają zarówno na poszukiwaniu w próbkach materiału klinicznego antygenów, jak i swoistych przeciwciał. Badania serologiczne umożliwiają diagnostykę zakażeń wirusowych szczególnie, że wirusy odpowiedzialne za zakażenia przewodu pokarmowego słabo namnażają się w hodowli komórkowej. Rotawirusy, norowirusy, adenowirusy i astrowirusy mogą powodować poważne zakażenia u małych dzieci, osób starszych i osób z obniżoną odpornością, będąc często przyczyną wystąpienia ognisk epidemicznych. W rutynowej diagnostyce mikrobiologicznej, w kierunku zakażeń wywołanych przez rotawirusy, adenowirusy, norowirusy stosowane są komercyjne zestawy diagnostyczne, najczęściej szybkie testy immunochromatograficzne oraz immunoenzymatyczne, które wykrywają antygeny wirusa bezpośrednio w materiale klinicznym. Na rynku dostępne są testy, które umożliwiają równoczesne wykrywanie i różnicowanie rotawirusa i adenowirusa w pojedynczym ekstrakcie próbki kału oraz testy umożliwiające wykrycie norowirusów w próbce kału (tab. 1) [5, 15, 16].

Testy serologiczne są powszechnie wykorzystywane w diagnostyce zakażeń układu pokarmowego wywołanych przez *Clostridium difficile*. Wystąpienie biegunki o etiologii *C. difficile* można podejrzewać u pacjentów, u których stosowano antybiotykoterapię, inhibitory pompy protonowej oraz u pacjentów z nieswoistym zapaleniem jelit. Jedynym prawidłowym materiałem do przeprowadzenia diagnostyki jest kał biegunkowy pobrany od pacjentów oddających powyżej 3 stolców na dobę, z wyjątkiem podejrzenia niedrożności jelit [5, 7, 17]. W rutynowych badaniach stosowane są immunoenzymatyczne testy ELISA (*enzyme linked immunosorbent assay*) umożliwiające wykrycie w kale antygenów: dehydrogenazy

**Tabela 1.** Komercyjne testy immunoenzymatyczne i immunochromatograficzne wykorzystywane w diagnostyce zakażeń przewodu pokarmowego

Czynnik etiologiczny	Komercyjne zestawy	Czułość*	Swoistość*	Pozom wykrywalności*	Metoda diagnostyczna
<i>Campylobacter</i>	ProSpecT <i>Campylobacter</i> (Remel)	100%	99,1%		Test immunoenzymatyczny
	ImmunoCardSTATiCampy (Meridian)	98,1%	95,9%		Test immunochromatograficzny
<i>E. coli</i> VTEC	NADAL® <i>Campylobacter</i> Test (nal von minden)	> 99%	> 98%		Test immunochromatograficzny
	VTEC-RPLA Toxin Detection kits (Oxoid)	1 do 2 ng/ml			Test lateksowy
	PREMIER EHEC (Meridian)	78,9% / 100%	95,8% / 97,9%		Test immunoenzymatyczny
	ImmunoCardSTATiEHEC (Meridian)	93,8–100%	99,6–99,7%		Test immunochromatograficzny
	C.DIFF Quick Check (TechLab)	92,8%	92,6%	≥ 0,4 ng/ml	Test immunoenzymatyczny wykrywający GDH
<i>Clostridium difficile</i>	C.DIFF Chek-60 (TechLab)	70,5%	91,2%	≥ 0,8 ng/ml	Test immunoenzymatyczny wykrywający GDH
	NADAL® <i>Clostridium difficile</i> GDH (nal van minden)	> 99%	> 99%		Test immunochromatograficzny wykrywający GDH
	CoproELISA <i>C. difficile</i> GDH (Savyon)	96,9%	92,9%	GDH ≥ 1 ng/well	Test immunoenzymatyczny wykrywający GDH
	<i>C. difficile</i> Tox A/B II (TechLab)	92,2%	100%	A ≥ 0,8 ng/ml B ≥ 2,5ng/ml	Test immunoenzymatyczny wykrywający toksyny A i B
	ProSpecT <i>C. difficile</i> Toxin A/B (Remel)	90,3%,	96,2%	A ≥ 0,20 ng/ml B ≥ 0,61 ng/ml	Test immunoenzymatyczny wykrywający toksyny A i B
	X/pect® <i>Clostridium difficile</i> Toxin A/B (Remel)	86,3%,	96,2%	A ≥ 6,25 ng/ml (1,12 ng/test) B ≥ 40 ng/ml (0,76 ng/test)	Test immunochromatograficzny wykrywający toksyny A i B
	NADAL® <i>C. difficile</i> Toxins A&B (nal von minden)	> 99%	> 99%		Test immunochromatograficzny wykrywający toksyny A i B
	C.diff Quick Check Complete (TechLab)	90,5%	93,1%	GDH ≥ 0,8 ng/ml A ≥ 0,63 ng/ml B ≥ 0,16ng/ml	Test immunochromatograficzny wykrywający GDH i toksyny A/B
	CoproStrip <i>C. difficile</i> GDH + ToxA + ToxB (Savyon)	> 99%	> 99%	GDH ≥ 0,38 ng/ml A ≥ 0,5 ng/ml B ≥ 0,78 ng/ml	Test immunochromatograficzny typu combo wykrywający GDH i wolne toksyny A/B



**Tabela 1. cd.** Komercyjne testy immunoenzymatyczne i immunochromatograficzne wykorzystywane w diagnostyce zakażeń przewodu pokarmowego

Czynnik etyologiczny	Komercyjne zestawy	Czułość*	Swoistość*	Pozom wykrywalności*	Metoda diagnostyczna
Rotawirus/ adenowirus	bioNexia® Rota-Adeno (bioMerieux)	dla rotawirusa			Test immunochromatograficzny
		89,9%	97,3%		
		dla adenowirusa			
		80,7%	100%		
	NADAL® Rota-Adenovirus Test (nal von minden)	dla rotawirusa			Test immunochromatograficzny
		> 96,3%	> 99,9%		
		dla adenowirusa			
		> 98,8%	> 99,9%		
Norowirus	X/pect Rotavirus (Remel)	100%	100%		Test immunochromatograficzny
		> 99%	> 99%		Test immunochromatograficzny
		92%	98,3%		Test immunochromatograficzny
		96,4%	98,3%		Test immunoenzyma-tyczny
Cryptosporidium	NADAL® Cryptosporidien Test	> 99%	> 99%		Test immunochromatograficzny
		97%	96%		Test immunoenzymatyczny
		100%	100%		Test immunoenzymatyczny
		98%	100%		Test immunoenzymatyczny
Gardia lamblia	CoproELISA Gardia(Savyon)	98%	100%		Test immunoenzymatyczny
		98%	98%		Test immunoenzymatyczny
		98%	98%		Test immunoenzymatyczny
		99,1%	99,6%		Test immunoenzymatyczny
	NADAL® Gardia/Crypto Test	dla Cryptosporidium			Test immunochromatograficzny
		> 99%	> 99,9%		
		dla Gardia lamblia			
		97%	> 99%		
Entamoeba histolytica	ProSpecT Entamoeba histolytica (Remel)	87%	99%		Test immunoenzymatyczny
	CoproELISA Entamoeba(Savyon)	87,7%	95,3%		Test immunoenzymatyczny

\*dane producenta

glutaminianowej (GDH, *glutamate dehydrogenase*) wytwarzanej przez toksynotwórcze i nietoksynotwórcze szczepy *C. difficile*, uwolnionych toksyn *C. difficile* oraz testy podwójne, umożliwiające wykrycie antygenów GDH i uwolnionych toksyn *C. difficile*. Poziom wykrywalności antygenów w testach przedstawiono w tabeli 1 [18–20].

Serologiczne badania są pomocne w rozpoznawaniu zakażeń pałeczkami *Campylobacter*. Poszukiwanie antygeny bezpośrednio w kale jest możliwe dzięki testom immunoenzymatycznym oraz immunochromatograficznym (tab. 1). Ze względu na możliwość uzyskania nieswoistego wyniku badania, dodatni wynik szybkiego testu należy jednak potwierdzić hodowlą. Również oznaczenie poziomu swoistych przeciwciał w surowicy (badanie wykonywane w przypadku wystąpienia powikłań, takich jak przewlekła biegunka, zespół Guillaina-Barrego i zespół Reitera) należy traktować jako badanie uzupełniające diagnostykę bakteriologiczną i/lub genetyczną [5, 13, 21].

W odpowiedzi na zakażenie pałeczkami *Yersinia* diagnostyka serologiczna (testy ELISA, metoda western-blot) opiera się na wykryciu w surowicy przeciwciał w klasach IgM, IgG oraz IgA i podobnie jak w przypadku zakażeń *Campylobacter*, jest prowadzona najczęściej w przypadku wystąpienia powikłań (na przykład rumień guzowaty, reaktywne zapalenia stawów). Badanie należy wykonać dwukrotnie, w odstępie dwutygodniowym, w celu oceny dynamiki poziomu przeciwciał [5, 12, 13, 22].

Choroby pasożytnicze przewodu pokarmowego zwykle kojarzą się z krajami tropikalnymi (zwłaszcza zarażenia pierwotniakami), niemniej jednak niektóre, na przykład: giardioza, kryptosporidioza czy ameboza występują również w Polsce. Taką etiologię należy podejrzewać u pacjentów z obniżoną odpornością oraz powracających z krajów rozwijających się. Zazwyczaj diagnostyka tych chorób jest prowadzona przez specjalistyczne laboratoria. Podstawowym materiałem do badań parazytologicznych jest kał, a w przypadku *Gardia lamblia* oraz *Cryptosporidium* także treść dwunastnicza. Współczesna parazytologia dysponuje wieloma metodami diagnostycznymi, jednak

w przypadku rozpoznawania pasożytów jelitowych nie wypracowano dotychczas „złotego standardu”. Poszukuje się pasożytów (oocyst, cyst, trofozoitów) bezpośrednio w próbkach materiału klinicznego metodą mikroskopii, do wykrywania koproantygenu stosuje się testy immunochromatograficzne, metody immunoenzymatyczne i immunofluorescencyjne oraz wykrywa DNA pasożyta (tab. 1) [5, 9, 17, 23].

## METODY GENETYCZNE

Badania molekularne oparte na amplifikacji kwasów nukleinowych odgrywają coraz większą rolę w diagnostyce chorób zakaźnych, chociaż wykrycie materiału genetycznego drobnoustroju chorobotwórczego nie zawsze jest równoznaczne z wystąpieniem choroby. Ogromny postęp w tej dziedzinie spowodował znaczne skrócenie czasu oczekiwania na wynik oraz umożliwił szybsze zastosowanie właściwego postępowania terapeutycznego i wdrożenia nadzoru epidemiologicznego [24, 25]. Obecnie istnieje wiele komercyjnych systemów służących do poszukiwania materiału genetycznego drobnoustrojów odpowiedzialnych za zakażenia przewodu pokarmowego. W testach molekularnych wykorzystuje się technikę RT-PCR (*real-time polymerase chain reaction*). Jeden z systemów — GeneXpert (Cepheid) umożliwia diagnostykę w kierunku *Clostridium difficile* (wykrycie genów kodujących toksynę B i toksynę binarną oraz oznaczenie szczepu hiperepidemicznego; test o czułości 100% i swoistości 93%) oraz norowirusów (test o czułości 100% i swoistości 99,5%) w ciągu około godziny [25, 26]; kompaktowy system Cobas Liat (Roche) umożliwia wykrycie genu kodującego toksynę B *C. difficile* w ciągu 20 minut — czułość testu wynosi 93,1%, swoistość 95,1% [27], a także system FilmArray (BioFire) [26, 28], który dzięki panelom multipleksowym umożliwia jednocześnie wykrywanie i rozpoznawanie kwasów nukleinowych bakterii, wirusów oraz pasożytów. Panel gastrologiczny (GI, *gastrointestinal*) pozwala wykryć materiał genetyczny 22 patogenów, które mogą być związane z zakażeniem lub zarażeniem przewodu pokarmowego: *Campylobacter* (*C. jejuni*/

*C. coli/C upsaliensis*), *Clostridium difficile* — toksyna A/B, *Plesiomonas shigelloides*, *Salmonella*, *Vibrio* (*V. parahaemolyticus*/*V. vulnificus*/*V. cholerae*), *Yersinia enterocolitica*, szczepy *Escherichia coli*: EAEC, EPEC, ETEC, STEC (łącznie z dokładnym identyfikatorem serogrupy *E. coli* O157), EIEC, *Shigella*, *Cryptosporidium*, *Cyclospora cayetanensis*, *Entamoeba histolytica*, *Gardia lamblia*, adenowirus F 40/41, astrowirus, norowirus GI/GII, rotawirus A, sapowirus (genogrupa I, II, IV, V). Zaletą multipleksowego panelu GI jest możliwość wykrycia zakażeń mieszanych, ponadto dzięki wysokiej ujemnej wartości predykcyjnej może być wykorzystywany do badań przesiewowych, szczególnie w przypadku epidemii. Możliwa jest również identyfikacja patogenów (*Aeromonas*, *Plesiomonas*) [24, 26, 28], które w polskiej strefie klimatycznej są bardzo rzadko izolowane z kału chorych lub niespotykane (*Vibrio*), ale można się ich spodziewać u osób z biegunką powracających z Azji, Afryki lub Ameryki Łacińskiej, a także chorych niepodróżujących wcześniej, lecz podających w wywiadzie spożycie surowych potraw z tak zwanych owoców morza [6]. Testy GI stosuje się stosunkowo rzadko, głównie ze względu na wysoki koszt badania pojedynczej próbki (ok. 800 zł). Dokładna analiza wykazuje jednak, że koszt pojedynczej próbki w kierunku różnych patogenów metodami konwencjonalnym jest porównywalny lub nawet wyższy.

Najlepszym rozwiązaniem w diagnostyce chorób infekcyjnych przewodu pokarmowego jest połączenie metod hodowlanych, serologicznych i molekularnych. Przykładowo, w zakażeniach wywołanych przez *Clostridium difficile* optymalnym rozwiązaniem jest wykonanie w pierwszej kolejności badania przesiewowego wysokoczułym testem immunoenzymatycznym na obecność w próbkach kału GDA lub NAAT na obecność genów kodujących toksyny oraz potwierdzenie każdego pozytywnego wyniku oznaczeniem uwolnionych toksyn w kale wysoce swoistymi metodami serologicznymi. Można w ten sposób uniknąć wyników fałszywie dodatnich związanych z kolonizacją *C. difficile*, a tym samym niepotrzebnej antybiotykoterapii. W przypadku uzyskania

dodatniego wyniku na obecność GDH lub NAAT i braku w kale toksyny należy poszerzyć diagnostykę o metodę hodowlaną z jednoczesnym potwierdzeniem toksynotwórczości szczepu. Wyhodowanie drobnoustroju umożliwia ponadto oznaczenie wrażliwości na antybiotyki oraz wykonanie rybotypowania — badań istotnych do celów epidemiologicznych [5, 17, 18, 20, 25].

## PODSUMOWANIE

Odpowiedni materiał kliniczny oraz zastosowane metody diagnostyczne mają istotny wpływ na identyfikację czynnika etiologicznego w chorobach infekcyjnych przewodu pokarmowego. Niezwykle ważna jest także współpraca klinicysty z mikrobiologiem w zakresie informacji o dostępności, jak również doborze najbardziej optymalnej metody diagnostycznej. Poszukiwanie nowych rozwiązań, szczególnie łączenie różnych metod diagnostycznych stanowi optymalne rozwiązanie w identyfikacji czynnika etiologicznego, tym samym wdrożenia właściwego postępowania terapeutycznego, skrócenia czasu hospitalizacji, zmniejszenia kosztów związanych z opieką medyczną.

## Piśmiennictwo:

1. Górka S, Jarzab A, Gamian A. Bakterie probiotyczne w przewodzie pokarmowym człowieka jako czynnik stymulujący układ odpornościowy. *Post. Hig. Med. Doś.* 2009; 63: 653–667.
2. Krakowiak O, Nowak R. Mikroflora przewodu pokarmowego człowieka - znaczenie i rozwój modyfikacje. *Post. Fitot.* 2015; 3: 193–200.
3. Jarzab A, Górka-Frączek S, Rybka J, et al. Enterobacteriaceae infection — diagnosis, antibiotic resistance and prevention. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej.* 2011; 65: 55–72, doi: [10.5604/17322693.933273](https://doi.org/10.5604/17322693.933273).
4. Zaborowski P. Postępowanie w zakażeniach i zarażeniach układu trawiennego. *Klinika Now.* 2007; 14(9-10).
5. Podsiadły E, Demkow U. Diagnostyka mikrobiologiczna, immunologiczna i molekularna najczęstszych zakażeń pokarmowych u dzieci. *Med. Prak. Pediat.* 2018; 1: 105–121.
6. Szych J., Rekomendacje laboratoryjnej diagnostyki zakażeń przewodu pokarmowego bakteriami rosnącymi w warunkach tlenowych oraz mikroaerofilnych. [www.kidl.org.pl/rekomendacje](http://www.kidl.org.pl/rekomendacje).

7. Shane AL, Mody RK, Crump JA, et al. 2017 Infectious Diseases Society of America Clinical Practice Guidelines for the Diagnosis and Management of Infectious Diarrhea. *Clin Infect Dis*. 2017; 65(12): e45–e80, doi: [10.1093/cid/cix669](https://doi.org/10.1093/cid/cix669), indexed in Pubmed: [29053792](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29053792/).
8. Ravikumara M. Investigation of chronic diarrhoea. *Paediatrics and Child Health*. 2008; 18(10): 441–447, doi: [10.1016/j.paed.2008.07.009](https://doi.org/10.1016/j.paed.2008.07.009).
9. White AC, Kang G. Multiplex molecular diagnostic tests and the management of diarrhea: the wave of the future? *Curr Opin Infect Dis*. 2017; 30(5): 471–472, doi: [10.1097/QCO.0000000000000399](https://doi.org/10.1097/QCO.0000000000000399), indexed in Pubmed: [28873080](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28873080/).
10. Kosikowska U, Stępień-Pyśniak D, Pietras-Ożga D. Zastosowanie spektrometrii masowej MALDI-TOF MS w identyfikacji bakterii izolowanych z materiałów klinicznych od ludzi i zwierząt. *Diagn. Lab*. 2015; 51(1): 23–30.
11. Azarko J, Wendt U. Identyfikacja drobnoustrojów – porównanie metody biochemicznej i spektrometrii masowej *Diagn. Lab*. 2011; 47(4): 409–417.
12. Mielczarek P, Bałgaj M. Jersinioza-rzadko rozpoznawana choroba układu pokarmowego. *Gastro Pol*. 2004; 11(1): 69–74.
13. Rokosz N, Rastawicki W, Wołkowicz T. Microbiological diagnosis of infections caused by *Campylobacter jejuni* and *Campylobacter coli* in humans. *Postępy Higieny i Medycyny Doświadczalnej*. 2014; 68: 48–56, doi: [10.5604/17322693.1086079](https://doi.org/10.5604/17322693.1086079).
14. Szczepańska B, Andrzejewska M, Śpica D, Klawe J. *Campylobacter* spp. - niedoceniony w Polsce czynnik etiologiczny zakażeń przewodu pokarmowego *Probl. Hig Epidemiol*. 2014; 95(3): 574–579.
15. Roviđa F, Campanini G, Sarasini A, et al. Comparison of immunologic and molecular assays for the diagnosis of gastrointestinal viral infections. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2013; 75(1): 110–111, doi: [10.1016/j.diagmicrobio.2012.09.016](https://doi.org/10.1016/j.diagmicrobio.2012.09.016), indexed in Pubmed: [23107316](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23107316/).
16. Feeney SA, Armstrong VJ, Mitchell SJ, et al. Development and clinical validation of multiplex TaqMan® assays for rapid diagnosis of viral gastroenteritis. *J Med Virol*. 2011; 83(9): 1650–1656, doi: [10.1002/jmv.22162](https://doi.org/10.1002/jmv.22162), indexed in Pubmed: [21739458](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/21739458/).
17. Baron EJo, Miller JM, Weinstein MP, et al. A guide to utilization of the microbiology laboratory for diagnosis of infectious diseases: 2013 recommendations by the Infectious Diseases Society of America (IDSA) and the American Society for Microbiology (ASM)(a). *Clin Infect Dis*. 2013; 57(4): e22–e2e121, doi: [10.1093/cid/cit278](https://doi.org/10.1093/cid/cit278), indexed in Pubmed: [23845951](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/23845951/).
18. Crobach M, Planche T, Eckert C, et al. European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases: update of the diagnostic guidance document for *Clostridium difficile* infection. *Clinical Microbiology and Infection*. 2016; 22: S63–S81, doi: [10.1016/j.cmi.2016.03.010](https://doi.org/10.1016/j.cmi.2016.03.010).
19. Planche T, Davies K, Coen P, et al. Differences in outcome according to *Clostridium difficile* testing method: a prospective multicentre diagnostic validation study of *C. difficile* infection. *The Lancet Infectious Diseases*. 2013; 13(11): 936–945, doi: [10.1016/s1473-3099\(13\)70200-7](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(13)70200-7).
20. Martirosian G. Zakażenia *Clostridium difficile* – aktualny punkt widzenia. *Aktualności Narodowego Programu Ochrony Antybiotyków*. 2015(4).
21. Rokosz N, Rastawicki W, Jagielski M, et al. Wykrywanie przeciwciał dla pałeczek *Campylobacter jejuni* u dzieci z zespołem Guillain-Barré przy zastosowaniu różnych preparatów antygenowych. *Med Dośw Mikrobiol*. 2011; 63: 255–261.
22. Rastawicki W. Humoralna odpowiedź na wybrane antygeny pałeczek *Yersinia enterocolitica* i *Yersinia pseudotuberculosis* w przebiegu jersiniozy u ludzi. I. Występowanie i poziom przeciwciał dla somatycznych antygenów pałeczek *Yersinia* oraz wydzielniczych białek Yop wykrytych odczynem ELISA. *Med. Dośw Mikrobiol*. 2006; 58: 303–328.
23. Korzeniowski K. Choroby pasożytnicze przewodu pokarmowego w Polsce. *Forum Medycyny Rodzinnej*. 2016; 10(1): 10–18.
24. Binnicker MJ. Multiplex Molecular Panels for Diagnosis of Gastrointestinal Infection: Performance, Result Interpretation, and Cost-Effectiveness. *J Clin Microbiol*. 2015; 53(12): 3723–3728, doi: [10.1128/JCM.02103-15](https://doi.org/10.1128/JCM.02103-15), indexed in Pubmed: [26311866](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26311866/).
25. Platts-Mills JA, Operario DJ, Houpt ER. Molecular diagnosis of diarrhea: current status and future potential. *Curr Infect Dis Rep*. 2012; 14(1): 41–46, doi: [10.1007/s11908-011-0223-7](https://doi.org/10.1007/s11908-011-0223-7), indexed in Pubmed: [22116640](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/22116640/).
26. Zhang H, Morrison S, Tang YW. Multiplex polymerase chain reaction tests for detection of pathogens associated with gastroenteritis. *Clin Lab Med*. 2015; 35(2): 461–486, doi: [10.1016/j.cll.2015.02.006](https://doi.org/10.1016/j.cll.2015.02.006), indexed in Pubmed: [26004652](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/26004652/).
27. Garg SK, Lu K, Duncan J, et al. Equivalent Performance of the Cobas Clifff Test for Use on the Cobas Liat System and the Cobas 4800 System. *Eur J Microbiol Immunol (Bp)*. 2017; 7(4): 310–318, doi: [10.1556/1886.2017.00034](https://doi.org/10.1556/1886.2017.00034), indexed in Pubmed: [29403660](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/29403660/).
28. Piralla A, Lunghi G, Ardissino G, et al. FilmArray™ GI panel performance for the diagnosis of acute gastroenteritis or hemorrhagic diarrhea. *BMC Microbiol*. 2017; 17(1): 111, doi: [10.1186/s12866-017-1018-2](https://doi.org/10.1186/s12866-017-1018-2), indexed in Pubmed: [28494766](https://pubmed.ncbi.nlm.nih.gov/28494766/).