MED. DOŚW. MIKROBIOL., 2010, 62: 109 - 117

Waldemar Rastawicki[1], Natalia Rokosz[1], Marek Jagielski[1] , Ewa Namysł[2], Izabela Rosół[2], Jolanta Krszyna[3], Dorota Wągrocka- Roczniak [3]

PORÓWNANIE WYNIKÓW SEROLOGICZNYCH BADAŃ W KIERUNKU KRZTUŚCA RUTYNOWO PROWADZONYCH W TRZECH RÓŻNYCH LABORATORIACH W POLSCE

[1]Zakład Bakteriologii NIZP-PZH w Warszawie
Kierownik: prof. dr hab. *M. Jagielski*
[2]Laboratorium Bakteriologii SZOZ nad Matką i Dzieckiem w Gdańsku
Kierownik: dr *E. Namysł*
[3]Laboratorium WSSE w Warszawie
Kierownik: mgr *B. Pruss*

Przeanalizowano 2653 wyniki rutynowo wykonywanych badań serologicznych w kierunku krztuśca, przeprowadzonych w trzech różnych laboratoriach na terenie kraju. Wykazano dość istotne różnice w uzyskanych wynikach badań, zwłaszcza przy poszukiwaniu przeciwciał klasy IgA i IgM. Stwierdzono znamiennie częstsze występowanie przeciwciał dla antygenów pałeczek *B. pertussis* u pacjentów ambulatoryjnych w porównaniu do pacjentów hospitalizowanych.

Krztusiec jest szeroko rozpowszechnioną na świecie zakaźną chorobą wywoływaną przez pałeczki *Bordetella pertussis.* Zakażenia dotyczą zarówno dzieci, głównie do 4. roku życia, jak również młodzieży i osób dorosłych (1,2,5,8,11). W Polsce od 2007 roku obserwuje się wzrost liczby zachorowań na krztusiec. Tendencja ta jest szczególnie widoczna w starszych grupach wiekowych, zarówno w populacji osób szczepionych jak i nie szczepionych przeciw krztuścowi (5, 10, 18).

Ponieważ izolacja pałeczek *B. pertussis* z próbek materiału klinicznego obecnie jest Polsce rzadko wykonywana, laboratoryjna diagnostyka krztuśca opiera się na wynikach przeprowadzanych badań serologicznych, głównie przy użyciu komercyjnych testów immunoenzymatycznych (3,4, 9, 10,13).

W dostępnych na rynku testach ELISA wykorzystuje się jako swoisty antygen toksynę krztuścową (PT), włókienkową hemaglutyninę (FHA) oraz lipopolisacharyd ściany komórkowej (LPS) (2,6,9). Ze względu na zastosowany rodzaj antygenu, jego użytkowe stężenie jak również ustalony przez producenta poziom przeciwciał, który należy uznać za diagnostycznie znamienny (cut-off), testy te różnią się między sobą czułością i swoistością. Powoduje to, że wyniki serologicznych badań w kierunku krztuśca uzyskiwane w poszczególnych laboratoriach mogą różnić się od siebie dość istotnie. Konsekwencją tego

są trudności w określeniu rzetelności uzyskanych w różnych laboratoriach wyników i co za tym idzie, problemy z ustaleniem faktycznej częstości występowania krztuśca w Polsce.

Celem prezentowanej pracy było porównanie wyników serologicznych badań testem ELISA w kierunku krztuśca przeprowadzonych rutynowo w trzech różnych laboratoriach w Polsce w latach 2007-2009. Oczekiwano również, że analiza wyników badań przeprowadzonych na licznej grupie osób ze stanami zapalnymi układu oddechowego umożliwi wgląd w częstość występowania krztuśca w naszym kraju.

MATERIAŁ I METODY

Retrospektywnej analizie poddano 2653 wyniki rutynowo wykonywanych w latach 2007–2009 badań serologicznych w kierunku krztuśca przeprowadzonych w trzech różnych laboratoriach serologicznych na terenie kraju; dwóch w Warszawie i jednym w Gdańsku. Na potrzeby niniejszej pracy laboratoria te oznaczono losowo trzema literami alfabetu: A, B i C. Próbki surowicy do badań pochodziły od osób chorych ze stanami zapalnymi układu oddechowego, podejrzanych w badaniu klinicznym o zakażenie pałeczkami *B. pertussis*. Tysiąc czterysta czterdzieści próbek uzyskano od kobiet natomiast 1213 próbek surowicy od mężczyzn. W laboratorium A badania wykonano komercyjnym odczynem ELISA NovaLisa Bordetella pertussis firmy NovaTec natomiast w laboratoriach B i C, odczynem ELISA Bordetella pertussis ELISA firmy Virotech. W przypadku poszukiwania przeciwciał klasy IgA i IgG obydwaj producenci zestawów diagnostycznych zastosowali jako antygen preparat będący mieszaniną toksyny krztuścowej oraz włókienkowej hemaglutyniny. Z kolei, w przypadku oznaczania przeciwciał klasy IgM w zestawie ELISA firmy NovaTec producent zastosował jako antygen lizat pałeczek *B. pertussis*, natomiast w zestawie firmy Virotech wykorzystano tylko toksynę krztuścową (6).

W badanych próbkach surowicy, zgodnie ze zleceniem lekarza prowadzącego, poszukiwano przeciwciał jednej, dwóch lub trzech klas immunoglobulin. Próbki surowicy dostarczane były wraz z kartami zlecenia, w których obok podstawowych danych identyfikacyjnych podawano najczęściej jedynie wiek osób chorych.

W celu przeanalizowania częstości występowania przeciwciał w zależności od wieku badanych osób, wydzielono 6 grup wiekowych. W pierwszej grupie znalazły się najmłodsze dzieci w wieku do 12 miesiąca życia. Do drugiej grupy celowo zakwalifikowano dzieci powyżej 1 roku życia ale nie starsze niż 5 lat, aby nie umieszczać w jednej grupie dzieci przed i po ostatnim szczepieniu, które jest wykonywane w 6 roku życia. Kolejne grupy wiekowe obejmowały osoby w wieku: 6-10 lat, 11-15 lat, 16-20 lat i powyżej 20 lat. Interpretację wyników obu testów ELISA przeprowadzano zgodnie ze wskazówkami producenta danego zestawu, przyjmując wynik poniżej 9 jednostek NTU (NovaTec – Units) lub VE (Virotech) jako ujemny, wynik pomiędzy 9-11 jako wątpliwy i powyżej 11 za dodatni. Istotność różnic w częstości wykrywania przeciwciał w próbkach surowicy uzyskanych od kobiet i mężczyzn oraz od pacjentów ambulatoryjnych i hospitalizowanych oceniano testem niezależności chi-kwadrat z zastosowaniem poprawki Yatesa. Za znamienne statystycznie przyjęto różnice, gdzie poziomy istotności p były mniejsze od 0,05 ($p<0,05$).

WYNIKI I ICH OMÓWIENIE

Analizie poddano wyniki badania 2653 próbek surowicy uzyskanych od osób z klinicznym podejrzeniem krztuśca. Wyniki kwalifikowano jako ujemne, wątpliwe bądź dodatnie. Zgodnie z zasadami przyjętymi podczas wykonywania badań serologicznych w kierunku krztuśca, w przypadku uzyskania wyniku wątpliwego w pierwszym oznaczeniu, konieczne jest badanie drugiej próbki surowicy w celu potwierdzenia lub wykluczenia zakażenia pałeczkami *B. pertussis*. Ponieważ w zdecydowanej większości próbki surowicy do badań pochodziły z jednego pobrania krwi w czasie trwania choroby, wyników wątpliwych nie uwzględniono w dalszej analizie.

Przeprowadzona analiza wykazała dość istotne różnice w uzyskanych wynikach badań. W laboratorium A, wykonującym badania testem ELISA firmy NovaTec, przeciwciała dla toksyny krztuścowej w diagnostycznie znamiennym poziomie (powyżej 11 jednostek NTU) wykrywano: w klasie IgA w 11,0%, w klasie IgG w 52,7% i w klasie IgM w 27,4% próbek surowicy. W laboratoriach B i C, wykonujących badania testem ELISA firmy Virotech, przeciwciała klasy IgA wykryto odpowiednio w 22,2% i 40,1%, przeciwciała klasy IgG w 46,8% i 66,4% a przeciwciała klasy IgM zaledwie w 8,7% i 4,8% próbek surowicy (Tabela I). O ile, w przypadku oznaczania przeciwciał klasy IgG, odsetek wyników dodatnich był zbliżony we wszystkich trzech laboratoriach, to w przypadku pozostałych dwóch klas immunoglobulin widzimy znaczące różnice w częstości ich wykrywania w badanych

Tabela I. Wyniki badań testem ELISA w kierunku zakażeń wywoływanych przez *Bordetella pertussis* wykonanych w trzech różnych pracowniach serologicznych na terenie kraju.

Laboratorium / pacjenci		Liczba próbek surowicy	IgA		IgG		IgM	
			Liczba zbadanych próbek	Liczba (%) wyników dodatnich	Liczba zbadanych próbek	Liczba (%) wyników dodatnich	Liczba zbadanych próbek	Liczba (%) wyników dodatnich
A	Szpit.	481	470	42 (8,9)	465	239 (51,4)	468	120 (25,6)
	Amb.	55	48	15 (31,3)	51	33 (64,7)	50	22 (44,0)
	Razem	536	518	57 (11,0)	516	272 (52,7)	518	142 (27,4)
B	Szpit.	717	679	134 (19,7)	516	230 (44,6)	670	57 (8,5)
	Amb.	165	139	48 (34,5)	112	64 (57,1)	130	13 (10,0)
	Razem	882	818	182 (22,2)	628	294 (46,8)	800	70 (8,7)
C	Szpit.	246	226	66 (29,2)	158	91 (57,6)	82	3 (3,7)
	Amb.	989	895	383 (42,8)	566	390 (68,9)	170	9 (5,3)
	Razem	1235	1121	449 (40,1)	724	481 (66,4)	252	12 (4,8)

próbkach surowicy. Zaobserwowane różnice w częstości wykrywania przeciwciał klasy IgA i IgM pomiędzy laboratorium A a laboratoriami B i C mogły wynikać z użycia różnych zestawów testów komercyjnych. Nie mniej jednak, znaczące różnice uzyskano również w dwóch laboratoriach wykonujących badania serologiczne tym samym testem ELISA firmy Virotech. Poszukując przyczyn tych rozbieżności przeanalizowano wszystkie skierowania lekarskie dołączone do przysłanych do badań próbek surowicy. Okazało się, że w przypadku laboratorium A i B zdecydowanie częściej przysyłano do badań próbki surowicy uzyskane od pacjentów szpitalnych, natomiast w przypadku laboratorium C od pacjentów ambulatoryjnych. Analiza wyników, przeprowadzona osobno dla pacjentów hospitalizowanych i ambulatoryjnych, wykazała we wszystkich trzech laboratoriach, statystycznie istotne różnice ($p<0,05$) w częstości wykrywania przeciwciał klasy IgA, IgG i IgM (Tabela I). Znacznie częstsze występowanie przeciwciał dla toksyny krztuścowej w próbkach surowicy uzyskanych od pacjentów ambulatoryjnych w porównaniu do pacjentów szpitalnych, wynika zapewne z faktu, że krztusiec, zwłaszcza u młodzieży i osób dorosłych, przebiega na ogół w łagodnej postaci, nie wymagającej hospitalizacji (2). Dodatkowo, próbki surowicy do badań diagnostycznych są pobierane od pacjentów hospitalizowanych z reguły w późniejszym okresie choroby niż od pacjentów ambulatoryjnych. Może to powodować, że poziom przeciwciał klasy IgA i IgM, który osiąga najwyższą wartość w 2-4 tygodniu od początku objawów klinicznych, jest u pacjentów trafiających do szpitala już obniżony.

Przeprowadzona analiza uzyskanych wyników badania próbek surowicy nie wykazała statystycznie istotnych różnic pomiędzy częstością występowania przeciwciał klasy IgA i IgG dla antygenów pałeczek *B. pertussis* u kobiet i mężczyzn ($p>0,05$) (Tabela II). Przeciwciała klasy IgM w mianie diagnostycznie znamiennym występowały natomiast statystycznie istotnie częściej ($p<0,05$) w próbkach surowicy kobiet niż mężczyzn (odpowiednio 35,3% i 18,9%) badanych w laboratorium A. Częstsze, aczkolwiek nie statystycznie

Tabela II. Wyniki badań testem ELISA w kierunku zakażeń wywoływanych przez *Bordetella pertussis* wykonanych w trzech różnych pracowniach serologicznych na terenie kraju w zależności od płci badanych osób.

Laboratorium / pacjenci		Liczba próbek surowicy	IgA		IgG		IgM	
			Liczba zbadanych próbek	Liczba (%) wyników dodatnich	Liczba zbadanych próbek	Liczba (%) wyników dodatnich	Liczba zbadanych próbek	Liczba (%) wyników dodatnich
A	K	278	267	34 (12,7)	266	150 (56,4)	269	95 (35,3)
	M	258	251	23 (9,2)	250	122 (48,8)	249	47 (18,9)
B	K	455	413	89 (21,5)	326	153 (46,9)	406	41 (10,1)
	M	427	405	93 (23,0)	302	141 (46,7)	394	29 (7,4)
C	K	707	642	253 (39,4)	403	261 (64,8)	136	9 (6,6)
	M	528	479	197 (41,1)	321	221 (68,8)	116	3 (2,6)

istotnie, występowanie przeciwciał IgM u kobiet niż u mężczyzn zaobserwowano również w pozostałych dwóch laboratoriach Spostrzeżenie to jest o tyle istotne, iż zgodnie z danymi opublikowanymi przez Zakład Epidemiologii NIZP-PZH w 2007 roku w Polsce zapadalność na krztusiec wśród kobiet była znamiennie wyższa niż wśród mężczyzn (18).

W tabeli III przeanalizowano wzajemne relacje w występowaniu przeciwciał dla antygenów krztuścowych w próbkach surowicy badanych w trzech różnych laboratoriach. Z podanego zestawienia wynika, że podwyższony poziom przeciwciał, jednocześnie we wszystkich trzech klasach immunoglobulin, diagnozowany jest w przebiegu krztuśca bardzo rzadko. Najczęściej stwierdza się przeciwciała klasy IgG, znacznie rzadziej jednocześnie IgG i IgA lub IgG i IgM. Na uwagę zasługuje fakt, że u kilku procent badanych próbek surowicy stwierdza się wyłącznie przeciwciała klasy IgM. Podobna analiza, ale przeprowadzona wyłącznie na wynikach uzyskanych podczas równoczesnego badania przeciwciał klasy IgA i IgG (Tabela IV) wykazała jeszcze dobitniej, że przeciwciała wyłącznie klasy IgA stwierdzane są w badanych próbkach jedynie sporadycznie.

Tabela III. Wzajemne relacje w występowaniu przeciwciał IgA, IgG i IgM dla pałeczek *B. pertussis* w próbkach surowicy badanych w trzech różnych pracowniach serologicznych na terenie kraju.

Laboratorium	Liczba badanych próbek surowicy w klasach IgA, IgG i IgM	Liczba (%) wyników dodatnich w klasach Ig A+G+M	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasie IgA	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasie IgG	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasie IgM	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasach IgA+M	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasach IgA+G	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasach IgG+M
A	497	32 (6,4)	-	120 (24,1)	24 (4,8)	1 (0,2)	16 (3,2)	68 (13,7)
B	543	8 (1,5)	7 (1,3)	122 (22,5)	19 (3,5)	1 (0,2)	89 (16,4)	11 (2,0)
C	99	4 (4,0)	1 (1,0)	3 (3,0)	2 (2,0)	-	4 (4,0)	-

Częstość występowania przeciwciał w poszczególnych klasach immunoglobulin u osób chorych zaliczonych do różnych grup wieku w próbkach surowicy badanych w trzech różnych laboratoriach przedstawiono na rycinie 1. Przeciwciała klasy IgA najczęściej wykrywano, we wszystkich trzech laboratoriach, u osób w wieku 16-20 lat. U dzieci poniżej 10 roku życia przeciwciała te występowały zaledwie w około 10% próbek surowicy. Fakt rzadkiego występowania przeciwciał klasy IgA u małych dzieci może mieć istotne znaczenie diagnostyczne. Wiadomo jest, że u szczepionych dzieci, z powodu podwyższonego poziomu poszczepiennych przeciwciał klasy IgM i IgG, najlepszym swoistym markerem aktualnego zakażenia pałeczką *B. pertussis* jest wykazanie znamiennie diagnostycznego poziomu immunoglobulin klasy A (4,9). Niestety, słaba produkcja przeciwciał klasy IgA u dzieci poniżej 10 roku życia może być przyczyną niskiej czułości badań serologicznych przy poszukiwaniu tej klasy immunoglobulin (14, 17).

Przeciwciała klasy IgM występowały zdecydowanie najczęściej w próbkach surowicy osób w wieku 11-20 lat badanych odczynem ELISA firmy NovaTec (laboratorium A). W przeprowadzonej analizie zwraca uwagę olbrzymia dysproporcja pomiędzy częstością wykrywania przeciwciał klasy IgM i pozostałych dwóch klas immunoglobulin testem ELISA

Tabela IV. Wzajemne relacje w występowaniu przeciwciał IgA i IgG dla pałeczek *B. pertussis* w próbkach surowicy badanych w trzech różnych pracowniach serologicznych na terenie kraju

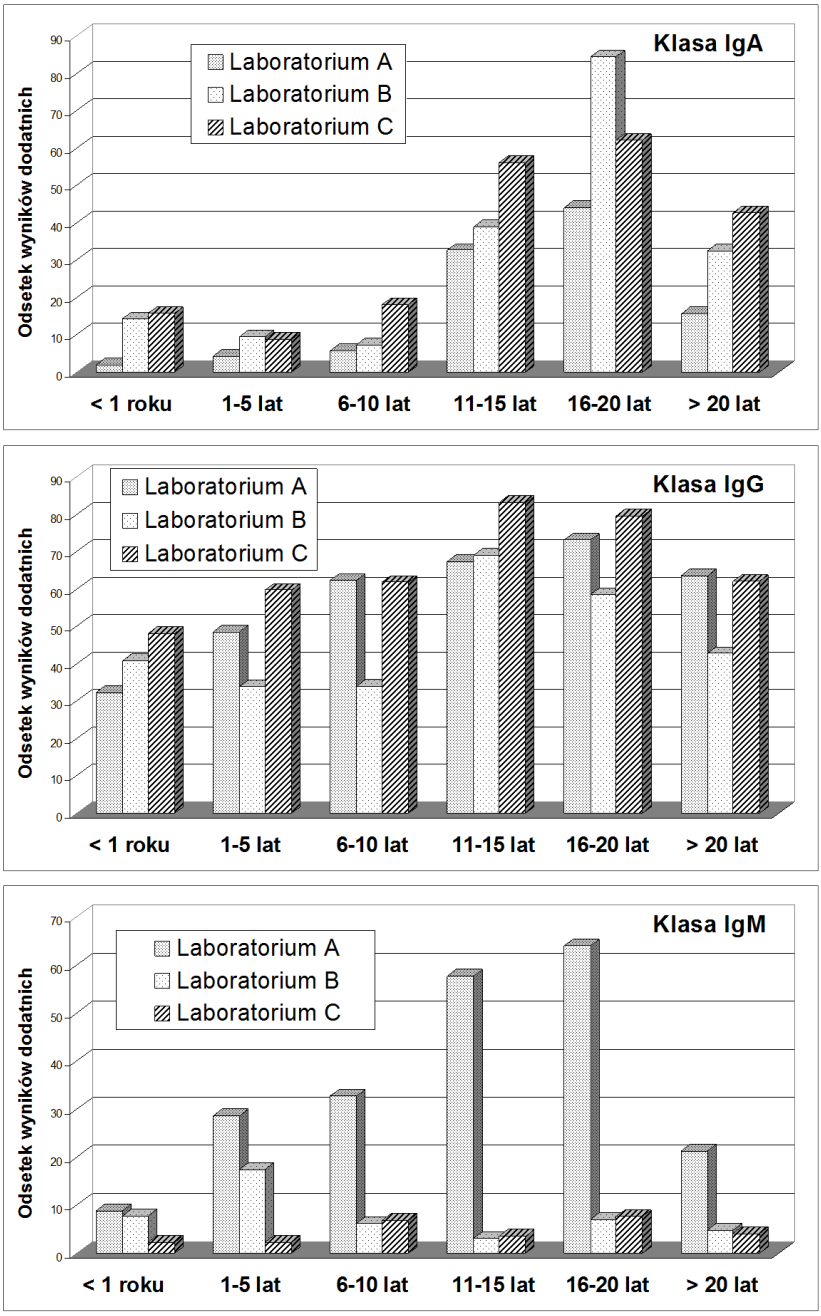
Laboratorium	Liczba badanych próbek surowicy w klasach IgA i IgG	Liczba (%) wyników dodatnich w klasach Ig A+G	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasie IgA	Liczba (%) wyników dodatnich tylko w klasie IgG
A	506	52 (10,3)	2 (0,4)	209 (41,3)
B	586	117 (20,0)	9 (1,5)	149 (25,4)
C	639	215 (33,6)	3 (0,5)	37 (5,8)

firmy Virotech u osób we wszystkich grupach wieku. Jest to o tyle dziwne, że przeciwciała klasy IgM produkowane są zarówno w wyniku naturalnego zakażenia jak i po podaniu szczepionki przeciwkrztuścowej (3,11,14). Z powodu trudności w rozróżnianiu pierwotnej przyczyny stymulacji przeciwciał klasy IgM, w niektórych laboratoriach wykonujących rutynowe badania w kierunku zakażenia pałeczkami *B. pertussis* całkowicie zrezygnowano z oznaczania tej klasy immunoglobulin. Nie mniej jednak, ponieważ ostatnią dawkę szczepionki podaje się w szóstym roku życia a odporność po szczepieniu trwa maksymalnie 12 lat, wykrycie tych przeciwciał u młodzieży i osób dorosłych powinna świadczyć o ostrej fazie choroby (5, 14). Wydaje się więc, że wysoka częstość wykrywania przeciwciał klasy IgM w teście ELISA firmy Novatec wynika z zastosowania w tym odczynie jako antygenu lizatu pałeczek krztuśca zawierającego endotoksynę, która jest silnym immunogenem stymulującym produkcję przeciwciał klasy IgM.

W przypadku oznaczania przeciwciał klasy IgG nie stwierdzono już tak istotnych różnic w zależności od wieku badanych osób, choć immunoglobuliny te dominowały, podobnie jak przeciwciała klasy IgA, u starszych dzieci i osób dorosłych. Niestety, wysoka częstość występowania przeciwciał klasy IgG dla toksyny krztuścowej u osób zdrowych powoduje, że oznaczanie tej klasy immunoglobulin u osób podejrzanych w badaniu klinicznym o krztusiec jest mało przydatne (11, 12, 13).

Ogółem, analizując 2653 wyniki uzyskane we wszystkich trzech laboratoriach, przeciwciała klasy IgA dla antygenów pałeczek *B. pertussis* wykazano w 28,0%, przeciwciała klasy IgG w 56,0% i przeciwciała klasy IgM w 14,3% próbek surowicy osób ze stanami zapalnymi układu oddechowego. Wysoki poziom przeciwciał u starszej młodzieży i osób dorosłych potwierdza obserwacje kliniczne co do częstego występowania krztuśca u osób z tych grupach wiekowych.

Podobne wyniki uzyskali także inni autorzy. Według *Senzilet* i wsp. (15) do 32% przypadków przewlekłego kaszlu u osób dorosłych może być spowodowane zakażeniem pałeczkami *B. pertussis*. *Kapaskelis* i wsp. (7) przeciwciała klasy IgM dla toksyny krztuścowej wykryli u 10,6%, a przeciwciała klasy IgG u 71,3% dorosłych osób z objawami kaszlu trwającego ponad 3 tygodnie. Z kolei *Melker* i wsp. (12) w badaniach prowadzonych na wybranej populacji osób zamieszkałych w Holandii wykazali podwyższony poziom przeciwciał klasy IgG dla toksyny krztuścowej aż w 60% próbek surowicy uzyskanych od osób bez klinicznych objawów choroby. Tak wysoki odsetek wyników dodatnich, według *Melker* i wsp., spowodowany jest częstym występowaniem krztuśca w łagodnej, atypowej lub wręcz bezobjawowej formie. Tak więc, o ostrej fazie infekcji krztuścowej świadczy jedynie wykazanie przeciwciał klasy IgG w stężeniu co najmniej 100 IU/ml (12).



Rycina 1. Częstość występowania przeciwciał klasy IgA, IgG i IgM dla pałeczek *B. pertussis* w próbkach surowicy osób z poszczególnych grup wieku badanych w trzech różnych pracowniach serologicznych na terenie kraju.

Podsumowując, przeprowadzona analiza wykazała dość istotne rozbieżności w wynikach serologicznych badań rutynowo przeprowadzanych w kierunku krztuśca w różnych laboratoriach. Podobne różnice stwierdzono również podczas przeprowadzania międzylaboratoryjnych badań porównawczych wykonywanych przy użyciu tych samych, kontrolnych próbek surowicy (dane nieopublikowane). Wydaje się, że jednym z głównych przyczyn tych rozbieżności jest zastosowanie w zestawach ELISA różnych preparatów antygenowych oraz wyznaczenie różnych poziomów odcięcia (cut-off). Nie bez znaczenia może być także sama metodyka wykonywania badań w danym laboratorium. Tak więc, istnieje potrzeba wystandaryzowania testów serologicznych wykorzystywanych zarówno do serologicznej diagnostyki krztuśca jak i do badania humoralnej odpowiedzi u dzieci po podaniu szczepionki przeciwkrztuścowej. Wychodząc na przeciw temu zapotrzebowaniu opracowano, przy współpracy z WHO, międzynarodowy standard, będący ludzką surowicą zawierającą ściśle określone stężenie przeciwciał klasy IgA i IgG dla toksyny krztuścowej, włókienkowej hemaglutyniny i białka pertaktyny (16). Standard ten, pod nazwą Pertussis Antiserum (human) 1st IS – WHO international Standard (Product number 06/140) rozprowadzany jest przez NIBSC (Centre of the Health Protection Agency).

W. Rastawicki, N. Rokosz, M. Jagielski, E. Namysł, I. Rosół, J. Krszyna, D. Wągrocka- Roczniak

COMPARISON OF ROUTINE SEROLOGICAL INVESTIGATIONS PERFORMED IN THREE DIFFERENT LABORATORIES IN POLAND FOR THE DIAGNOSIS OF PERTUSSIS

ABSTRACT

We compared the 2.653 results of routine serological investigations performed in three different laboratories in Poland for the diagnosis of pertussis. One of the laboratories used the NovaLisa Bordetella pertussis kit produced by NovaTec GmbH and the two others used Bordetella pertussis ELISA kit produced by Genzyme Virotech GmbH. In first laboratory the diagnostic level of IgA antibodies to the pertussis toxin was observed in 11,0%, IgG in 52,7% and IgM in 27,4% serum samples. In the second and third laboratory the diagnostic level of IgA antibodies were found respectively in 22,2% and 40,1%, IgG in 46,8% and 66,4% and IgM only in 8,7% and 4,8% serum samples. In total, IgA antibodies were found in 28,0%, IgG antibodies in 56,0% and IgM antibodies in 14,3% serum samples obtained from patients suspected in clinical investigation for pertussis. We have observed that the frequency of detection of the antibodies in children and adolescents increased with age reaching its peak among individuals with age range between 11 – 20 years. We also found statistical significant higher frequency of IgA, IgG and IgM antibodies to *B. pertussis* in outpatients than in hospital patients.

PIŚMIENNICTWO

1. *Bamberger E, Srugo I*. What is new in pertussis? Eur J Pediatr, 2008;167:133-139.
2. *Branski D, Kerem E*. Clinical manifestations of *Bordetella pertussis* infection in immunized children and young adults. Chest 1999; 115:1254-8.

3. *Friedman R*. Pertussis: The disease and new diagnostic methods. Clin Microbiol Rev 1988; 1: 365-76.
4. Granström G, Wretlind B, Salenstedt CR, Granström M. Evaluation of serologic assay for diagnosis of whooping cough. *J Clin Microbiol* 1988; 26: 1818-23.
5. *Gzyl A, Augustynowicz E, Rabczenko D* i inni. Pertussis in Poland. Int J Epidemiol 2004; 33: 358-65.
6. http://www.novatec-id.com/fileadmin/user_upload/Flyers/Bordetella_pertussis.pdf. (strona producenta testu)
7. *Kapaskelis AM*, *Vouloumanou EK, Rafailidis PI* i wsp. High prevalence of antibody titers against *Bordetella pertussis* in adult population with prolonged cough. Resp Med 2008; 102: 1586-91.
8. *Konda T, Kamachi K, Iwaki M, Matsunaga Y.* Distribution of pertussis antibodies among different age groups in Japan. Vaccine 2002; 20: 1711-17.
9. *Kösters K, Riffelmann M, Dohrn B* i inni. Comparison of five commercial enzyme – linked immunosorbent assays for detection of antibodies to *Bordetella pertussis.* Clin Diag Lab Immunol 2000; 7: 422-6.
10. *Łętkowska I, Grzesiowski P, Walory J*. Nowe trendy w epidemiologii i immunoprofilaktyce krztuśca. Nowa Medycyna 1999; 9: 13-6.
11. *Mattoo S, Cherry J*. Molecular pathogenesis, epidemiology and clinical manifestations of respiratory infections due to *Bordetella pertussis* and other *Bordetella* species. Clin Microbiol Rev 2005; 18: 326-82.
12. *Melker HE, Versteegh FGA, Conyn-van Spaendonck* i inni. Specificity and sensitivity of high levels of immunoglobulin G antibodies against pertussis toxin in a single serum sample for diagnosis of infection with *Bordetella pertussis*. J Clin Microbiol 2000; 38: 800-6.
13. *Mertens P, Stals F, Steyerberg E, Richardus J*. Sensitivity and specificity of single IgA and IgG antibody concentration for early diagnosis of pertussis in adults: an evaluation for outbreak management in public health practice. BMC Infect Dis 2007; 7:53.
14. *Rastawicki W, Rokosz N, Jagielski M*. Częstość wykrywania przeciwciał klasy IgA, IgG i IgM dla toksyny krztuścowej w rutynowo prowadzonej serodiagnostyce krztuśca u osób ze stanami zapalnymi układu oddechowego w Polsce. Przegl Epidemiol 2009; 63: 513-18.
15. *Senzilet LD, Halperin SA, Spika JS*. Pertussis is a frequent cause of prolonged cough illness in adults and adolescents. Clin Infect Dis 2001; 32: 1691-7.
16. *Xing D, König C, Newland P* i inni. Characterization of reference materials for human antiserum to pertussis antigens by an international collaborative study. Clin Vac Immunol 2009; 16: 303-11.
17. *Yaari E, Yafe- Zimerman Y, Schwartz SB* i inni. Pertussis antibody levels in infants immunized with an acellular pertussis component vaccine, measured using whole-cell pertussis ELISA. Immunol Cell Biol 2000; 78: 254-8.
18. *Zieliński A*. Krztusiec w Polsce w 2007 roku. Przegl Epidemiol 2009; 63: 191-3.

Otrzymano: 12 V 2010 r.

Adres Autora: 00-791 Warszawa, ul. Chocimska 24. Zakład Bakteriologii NIZP-PZH