

Clostridium difficile nustatymas vaikų išmatų ėminiuose: metodų palyginimas

E. Gorbikova, A. Eidukaitė

Vaikų ligoninė, Vilniaus universiteto ligoninės Santaros klinikų filialas; Inovatyvios medicinos centras

Tikslas

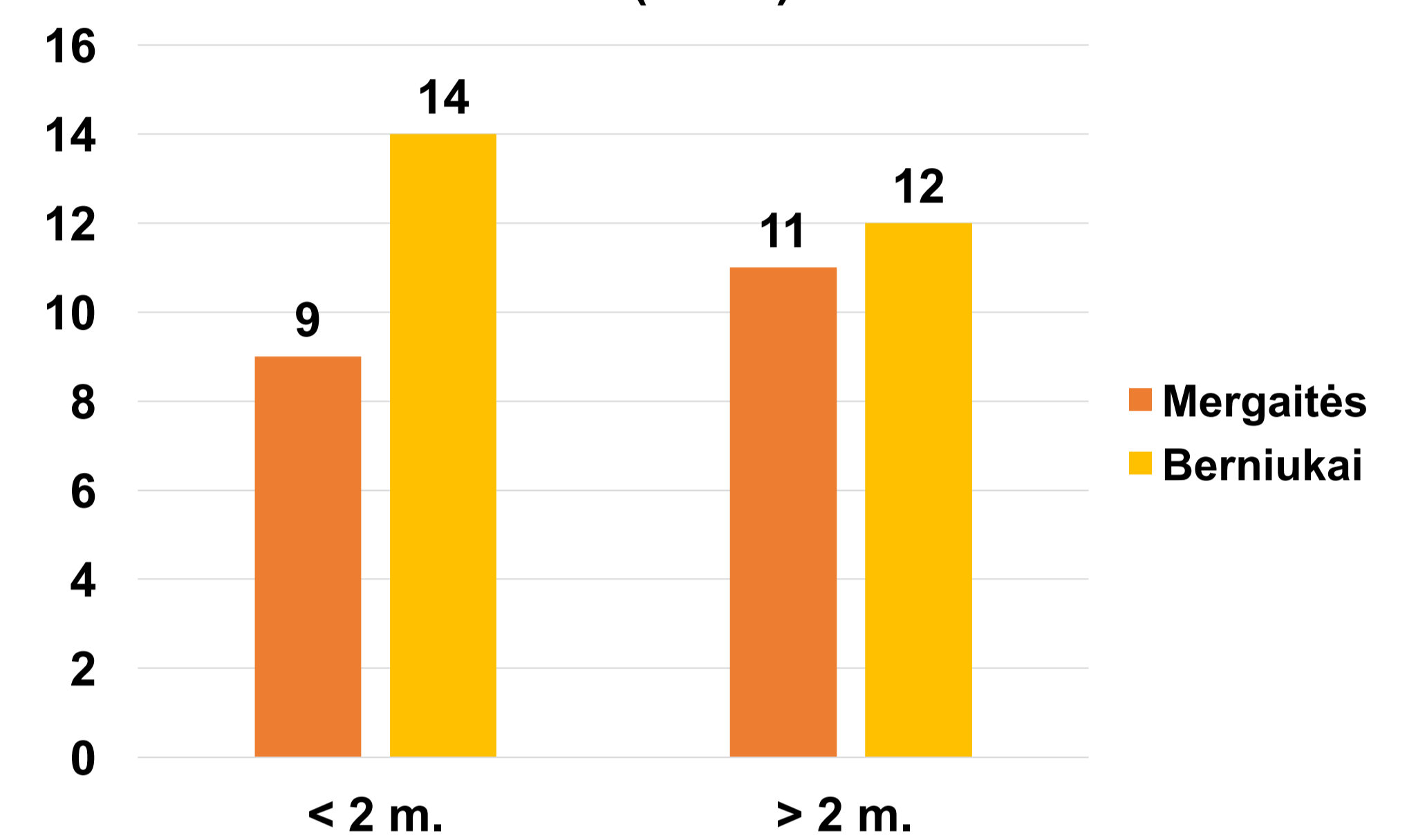
Clostridium difficile infekcija (CDI) yra viena pagrindinių su antibiotikų vartojimu susijusių viduriavimų priežasčių. Kadangi nėra vieno universalios metodo CDI diagnostikai, Europos klinikinės mikrobiologijos ir infekcinių ligų draugija (*angl.* ESCMID) **rekomenduoja atlikti du tyrimus:** GDH nustatymą ir molekulinį *C. difficile* toksinų patvirtinimą. Visi naudojami metodai turi būti tikslūs, t.y. didelio jautrumo ir specifiškumo.

Darbo tikslas buvo palyginti munochromatografinį (greitą testą), imunofermentinį-fluorescencinį (*angl.* ELFA) ir kilpine izotermine amplifikacija paremtą molekulinį (*angl.* LAMP) metodus, nustatant fermentą GDH ir *C. difficile* toksinus vaikų išmatose.

Tyrimo metodai

Naujagimių ir vaikų iki 18 metų (1 pav.), kuriems buvo įtariama CDI, išmatų ėminiai (n=46) surinkti VŠĮ Vilniaus universiteto Santaros klinikų Vaikų ligoninėje. GDH buvo nustatomas dviem metodais: atliekant greitą testą (Simple GDH/2A-Bdiff, Operon S.A) ir ELFA (VIDAS CDAB, Biomérieux), o *C. difficile* toksinai – trimis: atliekant greitą testą, ELFA ir molekulinį tyrimą (Illumigene, Meridian Bioscience Inc.).

Lyčių pasiskirstymas amžiaus grupėse (n=46)



1 pav. Tiriamųjų amžiaus grupės

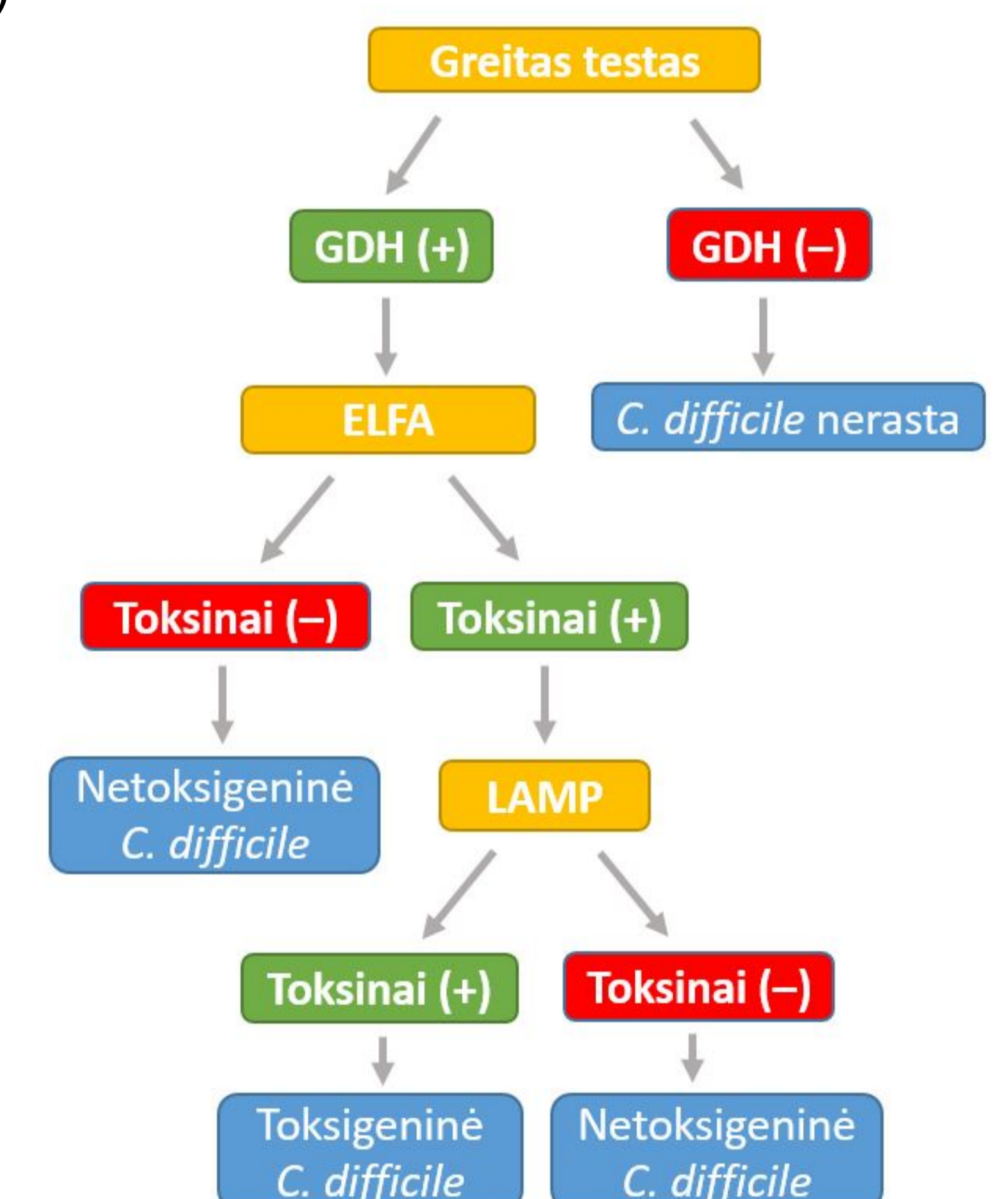
Rezultatai

Palyginus greitą testą su ELFA metodu nustatyta, kad imunochromatografinio metodo jautrumas ir specifiškumas nustatant GDH atitinkamai siekė 89% ir 81% (žr. 1 lentelė). Tačiau, imunochromatografinis metodas nėra toks tikslus nustatant *C. difficile* toksinus (jautrumas siekė tik 67%, o specifiškumas – 83%). Lyginant greitą testą su molekulinio metodo, šio testo jautrumas yra dar mažesnis – 56%. Tai rodo, kad **50% visų ėminių gali būti klaidingai įvertinti.** Analizuojant *C. difficile* toksinų detekcijos rezultatus ELFA ir molekulinio metodu nustatyta, kad VIDAS CDAB tyrimas yra specifiškas (97%), bet nepakankamai jautrus (67%). Be to, net 11% ėminių, toksinai rasti tik molekulinio metodu, o tai reiškia, kad kiti du metodai pateikė klaidingai neigiamus rezultatus. Remiantis šiais rezultatais, patikimą CDI laboratorinę diagnostiką sudaro 3 metodų algoritmas (2 pav.)

1 lentelė: tyrimo metodų palyginamieji rezultatai

Pagrindinis metodas	Analitė	Vertinamas metodas	Jautrumas, %	Specifiškumas, %	TNV, %	NNV, %
ELFA	GDH	Greitas testas (n=46)	89	81	70	94
	Toksinai	Greitas testas (n=33)	67	83	40	93
LAMP	Toksinai	Greitas testas (n=40)	56	84	60	82
		ELFA (n=37)	73	97	89	91

Paaiškinimai: TNV – teigiama nusakomoji vertė; NNV – neigiama nusakomoji vertė.



2 pav. CDI laboratorinės diagnostikos algoritmas

Išvados, rekomendacijos

Imunochromatografinis metodas gali būti naudojamas **teigiamų ėminių atrankai**, nes jis yra pigus ir pakankamai jautrus nustatant GDH fermentą. Tačiau, teigiamas GDH rezultatas dar nereiškia, kad *C. difficile* yra toksigeninė. **Toksinai tiksliausiai nustatomi molekulinio metodu.** LAMP metodo privalumas yra nesudėtinga atlikimo technika – nereikalauja daug laiko (tyrimas trunka 45 minutes), DNR išskyrimo, didelės įrangos ar specializuotų darbuotojų, todėl šio tyrimo įdiegimas sveikatos priežiūros laboratorijose būtų tikslingas.

Raktiniai žodžiai

Clostridium difficile infekcija (CDI), vaikai, viduriavimas, laboratorinė diagnostika, kilpinė izotermine amplifikacija (LAMP), imunofermentinis-fluorescencinis metodas (ELFA), greitas testas, glutamatdehidrogenazė (GDH), toksinai.