

Agnieszka Nowak<sup>1</sup>, Rafał Skowronek<sup>1</sup>, Edyta Reichman-Warmusz<sup>2</sup>, Czesław Chowaniec<sup>1</sup>

## Badania wirusologiczne w diagnostyce nagłych niespodziewanych zgonów dzieci

Virological tests in diagnostic management of sudden unexpected deaths in children

<sup>1</sup> Z Katedry i Zakładu Medycyny Sądowej i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach  
p.o. Kierownik: dr med. C. Chowaniec

<sup>2</sup> Z Katedry i Zakładu Histologii i Embriologii w Zabrze, Śląskiego Uniwersytetu Medycznego w Katowicach  
Kierownik: prof. dr hab. n. med. R. Wojnicz

Niniejsza praca poglądowa, w oparciu o aktualny stan wiedzy stara się odpowiedzieć na nadrzędne pytanie czy badania wirusologiczne są uzasadnione w przypadkach nagłych zgonów dzieci. Dotyczy to w szczególności ich znaczenia w ustaleniu przyczyny zgonu. Autorzy pracy starają się także odpowiedzieć na pytania dodatkowe, a mianowicie: (1) czy badanie histopatologiczne stanowi wystarczającą podstawę do ustalenia przyczyny zgonu, (2) czy wskazane jest poszerzenie oceny histologicznej o badania immunohistologiczne oraz (3) czy istnieje korelacja pomiędzy detekcją wirusa, a „intensywnością” stwierdzanego nacieku zapalnego w badaniu histologicznym. Praca ta stanowi jednocześnie wstęp do omówienia wyników własnych badań w tej dziedzinie. Wielu badaczy wskazuje na infekcję wirusową jako istotny czynnik etiopatogenetyczny w przypadkach nagłych zgonów dzieci. Nadal jednak, w diagnostyce pośmiertnej, nie ustalono jednoznacznej strategii postępowania w tym zakresie. Dotyczy to również kwestii, izolację jakich wirusów oraz przy użyciu jakich technik powinno się wykonywać w przypadkach podejrzenia zespołu nagłego zgonu niemowląt (Sudden Infant Death Syndrome – SIDS) i/lub nagłego niespodziewanego zgonu niemowląt (Sudden Unexpected Death in Infancy – SUDI). Dokonany przegląd literatury pozwala na stwierdzenie, że nie we wszystkich przypadkach SIDS/SUDI wykonanie badań wirusologicznych jest uzasadnione, tym bardziej, iż nie są to badania powszechnie dostępne i tanie. Detekcja wirusa rzadko bowiem pozwala na ustalenie przyczyny zgonu. Świad-

czy jedynie o jego obecności w badanym materiale. Wielokrotnie wykazanie obecności wirusa przy użyciu techniki PCR (polymerase chain reaction), nie znajdowało żadnego odzwierciedlenia w badaniach histologicznych (podstawowych i poszerzonych). W ocenie autorów w przypadkach podejrzenia SIDS/SUDI zalecenia przy ustalaniu przyczyny zgonu powinny obejmować wykonanie w pierwszej kolejności podstawowych badań histologicznych, które są najbardziej wartościowymi badaniami przesiewowymi. W uzasadnionych przypadkach powinny być one poszerzane o dodatkowe badania immunohistologiczne, a w wyjątkowych sytuacjach o badanie PCR w kierunku izolacji wirusa. Badanie PCR może być wykonane zarówno z materiału mrożonego, jak i zabezpieczonego w formalinie/parafinie.

Based on the present knowledge, the review paper attempts to answer the general question whether virological tests are justified in cases of sudden deaths in children. In particular, the question addresses their importance in establishing the cause of death. The authors also attempt to answer additional questions, namely: (1) whether histopathology provides an adequate basis for establishing the cause of death, (2) whether extending histological evaluation to exclude immunohistochemistry is warranted, and (3) whether there is a correlation between detection of a virus and "intensity" of inflammatory infiltration detected by histology. At the same time, the present paper is an introduction to discussing the results of research in the above field carried out by the authors. In cases of sudden deaths of chil-

dren, numerous investigators point to a viral infection as a significant etiopathogenic factor. Nevertheless, no uniform strategy has been developed to date in post-mortem diagnostic management in this field. This is also true with respect to answering what viruses should be isolated and by what techniques when sudden infant death syndrome (SIDS) and/or sudden unexpected death in infancy (SUDI) are suspected. The review of the literature on the subject allows for stating that virological tests are not justified in all cases of SIDS/SUDI, the more so that these tests are not commonly available and inexpensive. Detection of a virus rarely allows for determining the cause of death, demonstrating only the presence of the virus in the tested material. On numerous occasions, demonstrating the presence of a virus by polymerase chain reaction (PCR) has not been in any way reflected in basic and extended histology. In the opinion of the authors, in cases of SIDS/SUDI suspicion, while determining the cause of death, primarily basic histological tests are recommended, as they are the most valuable screening tests. In justified cases basic tests should be extended to include additional immunohistochemical tests, and in exceptional cases – PCR to isolate a virus. PCR may be performed both in frozen and in formalin/paraffin fixed material.

Słowa kluczowe:

nagły zgon niemowląt, wirusy,  
przegląd piśmiennictwa, medycyna sądowa

Key words:

sudden infant death, viruses,  
literature review, forensic medicine

## WSTĘP I CELE PRACY

Pojęcie zespołu nagłego zgonu niemowlęcia (sudden infant death syndrome – SIDS) po raz pierwszy zostało zdefiniowane w 1969 roku, podczas Drugiej Międzynarodowej Konferencji dotyczącej Przyczyn Nagłych Zgonów Niemowląt [1], jako nagły, niespodziewany zgon niemowlęcia lub małego dziecka, gdzie w badaniach pośmiertnych nie udało się ustalić uchwytnej przyczyny zgonu. W 1989 the National Institute of Child Health and Human Development zaproponował modyfikację powyższej definicji wprowadzając granicę wieku dziecka (poniżej 1 roku życia) oraz precyzując zakres wymaga-

nych czynności, zmierzających do ustalenia przyczyny zgonu niemowlęcia (znajomość okoliczności zgonu, sekcja zwłok, znajomość historii chorobowej dziecka) [2].

Od tego czasu wiele różnych zespołów podejmowało próby modyfikacji definicji SIDS [3, 4, 5]. Rezultatem różnych propozycji było spotkanie w styczniu 2004 roku zorganizowane w San Diego w Kalifornii, gdzie zaproszeni zostali eksperci z zakresu nagłych zgonów dzieci, z różnych dziedzin medycyny (pediatrii, patomorfologii, medycyny sądowej i inni) z Europy, Ameryki Północnej, Australii. Ustalono nową definicję i podział SIDS [6]. Przyjęto, że SIDS można rozpoznać, gdy zgon był nagły i niespodziewany, miał miejsce podczas snu, dotyczył dzieci do 1 roku życia, a przeprowadzenie pełnego badania sekcyjnego, znajomość okoliczności zgonu i historii choroby dziecka nie wyjaśnia przyczyny jego zgonu. Wprowadzono podział SIDS na kategorie (IA, IB, II i niesklasyfikowaną). Co istotne jednak, z medyczno-sądowego punktu widzenia, zaproponowano zakres dodatkowych badań pośmiertnych (toksykologicznych, mikrobiologicznych, radiologicznych, biochemicznych płynu gałki ocznej, metabolicznych), których wykonanie i na ich podstawie wykluczenie przyczyny zgonu, upoważnia do postawienia rozpoznania SIDS w kategorii IA. Warto dodać, że w rozpoznaniu SIDS IA dopuszczono w badaniu histopatologicznym możliwość „niewielkiego” nacieku zapalnego w układzie oddechowym [6].

Autorzy pracy wielokrotnie w swojej praktyce opiniodawczej stawali przed problem podjęcia decyzji, czy stwierdzony w układzie oddechowym (najczęściej w wycinkach z płuc) naciek zapalny jest jeszcze „niewielki”/„mały” i nie stanowi o przyczynie zgonu, czy też jest już na tyle istotny, że per se tłumaczyłby przyczynę nagłego, niespodziewanego zgonu niemowlęcia (explained SUDI – Sudden Unexpected Death in Infancy) [7] oraz jaka jest etiologia stwierdzanego nacieku. W literaturze opisywana jest obecność „łagodnych” (?) zmian zapalnych w układzie oddechowym, szczególnie w górnych drogach, w przypadkach SUDI/SIDS [8], jednak wiele prac dowodzi, że również w grupach kontrolnych obserwowano podobne zmiany naciekowe o „łagodnym” nasileniu, co sugerowałoby, iż same z siebie nie są one śmiertelne [9]. Gdzie więc przebiega granica pomiędzy stanem fizjologii, a początkiem patologii.

W literaturze szeroko omawiana jest rola m.in. wirusów w etiologii nagłego niespodziewanego zgonu niemowlęcia (explained SUDI – gdzie ostatecznie udaje się ustalić przyczynę zgonu), do którego zalicza się również SIDS (tu: przyczyna zgonu dostępnymi obecnie metodami pozostaje niewyjaśniona – ‘unexplained SUDI’) [10]. Kluczową rolę przypisuje się wirusom RNA i DNA odpowiedzialnym m.in. za infekcje dróg oddechowych u dzieci (RNA wirusy: rinowirusy – odpowiedzialne za przeszło 50% przypadków przeziębień, wirusy grypy, wirusy paragrypy, respiratory syncytial virus (RSV), inne enterowirusy oraz DNA wirusy: adenowirusy). Zwraca się również uwagę na związek czasowy pomiędzy porą roku (jesiennie-zimową), a wzrostem przypadków SIDS [11, 12, 13], co również ma dowodzić roli wirusów w etiologii tych przypadków. Obowiązujący w Wielkiej Brytanii protokół sekcyjny we wszystkich przypadkach SUDI zaleca rutynowe wykonanie badań wirusologicznych z wykorzystaniem aspiratu nosowo-gardłowego, wycinków z płuc lub płynu mózgowo-rdzeniowego przy użyciu kultur wirusowych, immunofluorescencji i technik amplifikacji DNA [14].

Niniejsza praca poglądowa, w oparciu o aktualny stan wiedzy stara się odpowiedzieć na nadrzędne pytanie czy badania wirusologiczne w przypadkach nagłych zgonów dzieci mają uzasadnienie. Dotyczy to w szczególności ich znaczenia w ustaleniu przyczyny zgonu. Autorzy pracy starają się także odpowiedzieć na pytania dodatkowe, a mianowicie: (1) czy badanie histopatologiczne stanowi wystarczającą podstawę do ustalenia przyczyny zgonu, (2) czy wskazane jest poszerzenie oceny histologicznej o badania immunohistologiczne oraz (3) czy istnieje korelacja pomiędzy detekcją wirusa, a „intensywnością” stwierdzanego nacieku zapalnego w badaniu histologicznym. Praca ta stanowi jednocześnie wstęp do omówienia w przyszłości wyników własnych badań w tej dziedzinie.

## MATERIAŁ I METODA

Do wykonania niniejszego przeglądu piśmiennictwa użyto elektronicznej bazy danych "PubMed", którą we wrześniu 2012 roku przeszukano w dwojaki sposób:

1. na wejściowej stronie bazy danych wpisano zwrot: „autopsy”

2. do tezauryś Medical Subject Headings (MeSH) wprowadzono logiczny zwrot ((Autopsy[MESH] or Sudden Infant Death [Mesh]) and “Viruses”).

Wyszukane publikacje, które były zgodne z celem pracy, przeczytano i sprawdzono cytowania. Jeżeli wśród cytowanych prac odnaleziono taką, która była zbieżna z tematem przeglądu, to również została ona w nim uwzględniona.

## WYNIKI I DISKUSJA

Do oceny zakwalifikowano łącznie 27 prac [15-41]. Trzy prace dotyczyły kazuistycznych przypadków [22, 28, 30]. W pozostałych, liczba dzieci w badanej grupie wahała się od 11 [23] do 763 [25] – średnio 238. Nagłe niespodziewane zgony dzieci obejmowały przypadki w wieku od 0 do 16 r.ż [24]. Nie we wszystkich pracach podano czas, jaki upłynął od zgonu do momentu pobrania materiału. Zwykle obejmował on okres od 24 godzin do 4 dni. Do badań wirusologicznych wykorzystano materiał zarówno utrwalony w formalinie, jak i utrwalany w niskich temperaturach (mrożeniowy). Pobierano aspirat z nosogardzieli, wymaz z dróg oddechowych, wycinki z płuc, krew, płyn mózgowo-rdzeniowy. Najczęściej badano obecność adenowirusów (w 12 przypadkach), RSV (w 11 przypadkach) i wirusa grypy (w 7 przypadkach). Wraz z rozwojem metod diagnostycznych wskazywano na kolejne wirusy, których obecność udało się wykazać w przypadkach SUDI/SIDS: human herpesvirus-6 (HHV-6), Epstein-Barr virus (EBV), cytomegalovirus (CMV) [23, 26, 28, 33, 45, 46].

Łącznie wykryto 13 wirusów i/lub grup wirusów, przy użyciu immunohistochemii, kultur wirusowych, serologii, hybrydyzacji in situ, PCR, mikroskopii elektronowej. Wszyscy autorzy byli zgodni co do faktu, iż grupa wirusów odpowiedzialna za infekcje dróg oddechowych jest jednym z elementów mogących odgrywać rolę w nagłych niespodziewanych zgonach dzieci, tym bardziej, że w przeszło 50% przypadków w tej grupie przed zgonem obserwuje się albo cechy infekcji górnych dróg oddechowych [38, 39, 40, 41] albo cechy zapalenia płuc [20, 21].

W dokonanym przeglądzie literatury nie znaleziono pracy, której celem była próba systematyzacji wyników badań wirusologicznych ze wskazaniem, jakie grupy wirusów powinny być objęte ru-

tynową detekcją w przypadkach nagłych zgonów dzieci, z zastosowaniem, jakich metod badawczych i jaki wynik traktować jako dodatni. Za przykład wskazać można ustalone, w oparciu o wynik podstawowego barwienia hematoksyliną i eozyną, kryteria w rozpoznaniu zapalenia mięśnia sercowego (kryteria Dallas) [42, 43]. Co więcej w zakresie zapalenia mięśnia sercowego coraz więcej autorów, przy pomocy dodatkowych metod badawczych jak np. z użyciem immunohistochemii proponuje nowe kryteria rozpoznania dla dzieci (w oparciu o leukocyty, limfocyty i makrofagi/HPF [high-power fields], gdzie Dettmeyer i inni za dodatnie rozpoznanie uważają naciek powyżej 10 limfocytów/HPF lub powyżej 15 leukocytów/HPF) [33]. Dla infekcji dróg oddechowych u dzieci kryteria takie nie są przyjęte. Rozpoznanie wciąż zatem opiera się na doświadczeniu i wnikliwości badającego patomorfologa.

Wyniki Dettmeyer'a i wsp., a także i innych autorów pozwoliły na ustalenie, iż około 40% przypadków SUDI przebiegało z obecnością wirusa/ów w materiale biologicznym [33]. Warto jednak zaznaczyć, że w przywołanej pracy 17 z 27 dodatnich wyników PCR (z 62 badanych przypadków), nie znajdowało potwierdzenia w badaniach immunohistochemicznych, które uznano za ujemne (poniżej 5 limfocytów T/HPF lub 10 makrofagów). Badacze zinterpretowali to jako zgon we wczesniej fazie infekcji, przed odpowiedzią immunologiczną. Również 12 przypadkom dodatniego badania immunohistochemicznego, towarzyszyło ujemne badanie PCR, co najpewniej można interpretować ograniczonym spektrum wykrywanych wirusów (podobnie jak w innych pracach [35]). Nie mniej jednak przy użyciu immunohistochemii i PCR tylko w 6/62 badanych przypadków ustalono przyczynę zgonu – aktywne zapalenie mięśnia sercowego. Nie wiadomo, jak w tych 6 przypadkach wyglądał obraz klasycznego barwienia hematoksyliną i eozyną i czy podobne rozpoznanie można było postawić jedynie w oparciu o nie. Podkreślić warto jednak nowatorskość spojrzenia niemieckich badaczy – podjęli bowiem próbę wytyczenia kryteriów rozpoznania zapalenia mięśnia sercowego w grupie wiekowej do 12-go miesiąca życia.

Fernandez-Rodriguez i wsp. [15] przebadali 64 przypadki podejrzone o nagły zgon dziecka z wykorzystaniem wielu metod detekcji wirusa (PCR, badania serologiczne, kultury wirusowe, mikroskopii

elektronowej), co pozwoliło na ujawnienie w 9 przypadkach obecności wirusa, a w 2 na ustalenie w oparciu o wyniki wirusologii i badań dodatkowych (w tym wyniku badania sekcyjnego) przyczyny zgonu. Oznaczano 9 różnych wirusów. Pierwszy przypadek – gdzie rozpoznano ostrą infekcję – dotyczył dziecka lat 2 z zespołem Downa, z objawami przeziębienia poprzedzającymi zgon, gdzie za dodatnie uznano kultury wirusowe adenowirusów w popłuczynach z nosa i ucha oraz w wymazie z nosogardzieli, a z objawów patologicznych opisano zapalenie migdałków i objawy bronchopneumonii. Ujemne wyniki serologii w tym przypadku tłumaczono nagłością przebiegu zachorowania i nie wytworzeniem się odpowiedzi immunologicznej. Drugi przypadek – gdzie rozpoznano infekcję wirusową jako przyczynę zgonu – ponownie dotyczył 2 letniego dziecka, z zapaleniem nagłośni i dusznością w wywiadzie, gdzie badania serologiczne ujawniły obecność RSV, a z objawów patologicznych w badaniu sekcyjnym ujawniono zapalenie krtań i obrzęk płuc. Tak więc ponownie wynik badania skłania do wniosku, że ujawnienie obecności wirusa niekoniecznie oznacza, że był on przyczyną zgonu, co więcej molekularna detekcja wirusa metodą PCR nie zawsze związana jest z naciekiem limfocytarnym w badanych tkankach [23, 49]. Zawsze wynik badania należy odnieść do całości wyników badań pośmiertnych [35].

Wyniki Fernandez-Rodriguez [15] i wsp. w zakresie detekcji wirusa w przypadkach podejrzenia SIDS na poziomie 14% zbliżone są do wyników innych autorów [44].

Warto również zwrócić uwagę na prace Bajanowskiego i wsp., gdzie badana grupa 118 przypadków nagłych, niespodziewanych zgonów dzieci stała się punktem wyjścia do szerokich badań wirusologicznych. Wycinki z płuc ze 100 przypadków zostały zamrożone, a w 18 przypadkach zatopiono je w parafinie, po wcześniejszym utrwaleniu w formalinie. Do badań wykorzystano metodę PCR. Oznaczano wirusy RNA [20], adenowirusy [21] i CMV [27]. Detekcja wirusa AV w przypadkach SIDS udała się w 15% – podobne wyniki uzyskali również inni autorzy [40] – 17,7%. W grupie kontrolnej detekcja AV wynosiła 0%. Bajanowski zwraca również uwagę, że w 53,3% w przypadkach oznaczenia AV nie ujawniono żadnych cech zapalenia w histologii, co próbuje wyjaśnić bardzo

wczesnym stadium zapalenia płuc bądź infekcją AV toczącą się w innym niż płuca miejscu. Powyższe ponownie skłania do pytania o celowość wykonywania kosztownych badań wirusologicznych jako badań podstawowych, gdyż nawet ewentualna detekcja wirusa bez dodatkowych patologii nie pozwala na ustalenie przyczyny zgonu. Z prac Bajnowskiego i wsp. wynika również, że detekcja wirusa metodą PCR była skuteczna zarówno w mrożonych wycinkach, jak i wycinkach zabezpieczonych w formalinie (13% vs 11%), co wskazuje na słuszny wybór metody badawczej, jak również, że do tego typu badań można wykorzystywać zabezpieczony w formalinie materiał. Autorzy podnoszą również, że pozostałe metody, jak kultury wirusów, mikroskopia elektronowa, serologia mogą dać fałszywie negatywne rezultaty, co wiąże się m.in. z degradacją wirusów po zgonie lub utratą antygenowości.

Powyższą tezę potwierdza również praca zespołu Chong D. C. i innych [17]. Autorzy na 177 zakwalifikowanych przypadków, możliwość interpretacji wyniku immunohistochemicznego uzyskali tylko w 101. Sposób zabezpieczenia materiału (formalina i parafina) powodował bowiem utratę antygenowości, a tym samym wynik badania immunohistochemicznego w 76 przypadkach nie nadawał się do interpretacji [17].

Stanta G. i inni proponują natomiast używanie opatentowanej formaliny FineFIX, która wg autorów w badaniach z wykorzystaniem białek daje porównywalne wyniki z tkanek zabezpieczonych przy jej użyciu, z tkankami świeżymi czy mrożonymi [48].

Podobne stanowisko, co do wyboru metody badawczej prezentują również inni autorzy wskazując PCR jako „złoty standard” w diagnostyce czynników infekcyjnych [15, 32].

W prezentowanych pracach kolejni autorzy wskazywali również na trudności ze stworzeniem grupy kontrolnej. Powyższe wynikało przede wszystkim z małej liczby zgonów w wymaganej grupie wiekowej (do 1 roku życia), o innej przyczynie niż SIDS.

Williams A. L. i inni oznaczali przeciwciała w klasie IgM i IgG dla 4 antygenów wirusowych dróg oddechowych w przypadkach SIDS. Podzielili grupę badaną i kontrolną (dzieci żywe) na dwie grupy wiekowe: poniżej i powyżej 3 miesiąca życia. Zaobserwowano jedynie małą różnicę pomiędzy

grupą badaną i kontrolną i to zarówno w mianie przeciwciał, jak i w odniesieniu do wieku, co może sugerować, że „styczność” z wirusem w obu grupach badanej i kontrolnej jest podobna [25]. Z nieznanymi do tej pory względów, w grupie badanej powoduje bądź współprzyczynia się do zgonu.

Powyższe nie koreluje z wynikami detekcji wirusów w w/w pracy, gdzie RSV został ujawniony w 90% SIDS vs 53% w grupie kontrolnej.

Powyższa praca nasuwa pytanie o wynik detekcji wirusa w grupie dzieci żywych i korelacje tego wyniku z prowadzonymi badaniami w kierunku detekcji wirusa w przypadkach SUDI/SIDS. Brazylijscy autorzy przebadali 407 dzieci w wieku 0-57 miesięcy, gdzie 69% uczestników było poniżej 12 miesiąca życia (średnia wieku 8 miesięcy) [18]. Połowa dzieci po badaniu pediatrycznym została przyjęta do szpitala. Troje dzieci zmarło. U połowy hospitalizowanych dzieci rozpoznano zapalenie oskrzeli (105). Zapalenie płuc w 84 przypadkach, a u 13 astmę. Patogeny zidentyfikowano w grupie badanej w 85,5 % metodą PCR, co było wysokim wynikiem w porównaniu z innymi autorami 35%-78% [50, 51, 52]. Respiratory syncytial virus był obecny w 37% przypadków, adenowirus w 25%, rinowirus w 19%, bocawirus w 19%.

## WNIOSKI

Wielu badaczy w przypadkach nagłych zgonów dzieci wskazuje na infekcję wirusową jako istotny czynnik etiopatogenetyczny. Nadal jednak, w diagnostyce pośmiertnej, nie ustalono jednoznacznej strategii postępowania w tym zakresie. Dotyczy to również kwestii, izolację jakich wirusów oraz przy użyciu jakich technik powinno się wykonywać w przypadkach podejrzenia zespołu nagłego zgonu niemowląt (Sudden Infant Death Syndrome – SIDS) i/lub nagłego niespodziewanego zgonu niemowląt (Sudden Unexpected Death in Infancy – SUDI).

Dokonany przegląd literatury pozwala na stwierdzenie, że nie we wszystkich przypadkach SIDS/SUDI wykonanie badań wirusologicznych jest uzasadnione, tym bardziej, iż nie są to badania powszechnie dostępne i tanie. Detekcja wirusa rzadko bowiem pozwala na ustalenie przyczyny zgonu. Świadczy jedynie o jego obecności w badanym materiale. Wielokrotnie wykazanie obecności wirusa przy użyciu techniki PCR (polymerase chain reaction),

**Tabela I.** Liczba (%) niemowląt zmarłych z powodu SIDS (zespołu nagłego zgonu niemowląt) oraz niemowląt z grupy kontrolnej posiadających przeciwciała swoiste klasy IgM i IgG przeciwko czterem antygenom wirusa oddechowego. (Dzieci podzielono na grupy wg wieku: 3 miesiące lub mniej oraz powyżej 3 miesięcy). Williams i wsp. [25].

**Table I.** Number (%) of infants who died of the sudden infant death syndrome and control infants showing virus specific IgM and IgG antibodies to four respiratory virus antigens. (Infants were grouped into those aged 3 months or less and those aged over 3 months). Williams at all [25].

|   | Zespół nagłego zgonu niemowląt<br>Sudden infant death syndrome |                                  | Grupa kontrolna<br>Controls      |                                  |
|---|--|----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
|   | <3 m.ż.<br><3 Months<br>(n = 89)                               | >3 m.ż.<br>>3 Months<br>(n = 89) | <3 m.ż.<br><3 Months<br>(n = 45) | >3 m.ż.<br>>3 Months<br>(n = 53) |
| <b>Przeciwciała klasy IgM / IgM antibodies</b>                    |  |                                  |                                  |                                  |
| <b>Syncytialny wirus oddechowy</b><br>Respiratory syncytial virus | 9 (10)   | 32 (36)                          | 7 (16)                           | 27 (50)                          |
| <b>Grypa A</b><br>Influenza A                                     | 10 (11)  | 24 (27)                          | 7 (16)                           | 13 (24)                          |
| <b>Grypa B</b><br>Influenza B                                     | 9 (10)   | 23 (26)                          | 3 (7)                            | 15 (29)                          |
| <b>Adenowirus</b><br>Adenovirus                                   | 17 (19)  | 41 (46)                          | 6 (14)                           | 19 (35)                          |
| <b>Przeciwciała klasy IgG / IgG antibodies</b>                    |  |                                  |                                  |                                  |
| <b>Syncytialny wirus oddechowy</b><br>Respiratory syncytial virus | 86 (95)  | 84 (94)                          | 41 (90)                          | 50 (95)                          |
| <b>Grypa A</b><br>Influenza A                                     | 42 (47)  | 48 (54)                          | 19 (43)                          | 16 (31)                          |
| <b>Grypa B</b><br>Influenza B                                     | 23 (25)  | 20 (22)                          | 13 (29)                          | 12 (22)                          |
| <b>Adenowirus</b><br>Adenovirus                                   | 61 (68)  | 74 (83)                          | 32 (70)                          | 46 (87)                          |

**Tabela II.** Wykrycie wirusów oddechowych metodą izolacji lub metodą immunofluorescencji w 763 przypadkach zespołu nagłego zgonu niemowląt i u 56 niemowląt zmarłych śmiercią przypadkową (grupa kontrolna). (Dzieci podzielono na grupy wg wieku: 3 miesiące lub mniej oraz powyżej 3 miesięcy). Williams i wsp. [25].

**Table II.** Detection of respiratory viruses by isolation or immunofluorescence in 763 cases of the sudden infant death syndrome and 56 infants after accidental death (controls). (Infants were grouped into those aged 3 months or less and those aged over 3 months). Williams at all [25].

|   | Zespół nagłego zgonu niemowląt<br>Sudden infant death syndrome |                                   | Grupa kontrolna<br>Controls      |                                  |
|---|--|-----------------------------------|----------------------------------|----------------------------------|
|   | <3 m.ż.<br><3 Months<br>(n = 385)                              | >3 m.ż.<br>>3 Months<br>(n = 378) | <3 m.ż.<br><3 Months<br>(n = 12) | >3 m.ż.<br>>3 Months<br>(n = 44) |
| <b>Syncytialny wirus oddechowy</b><br>Respiratory syncytial virus | 3  | 25                                |                                  | 1                                |
| <b>Paragrypa</b><br>Parainfluenza                                 | 7  | 24                                |                                  | 2                                |
| <b>Grypa</b><br>Influenza   | 3  | 20                                |                                  |                                  |
| <b>Adenowirus</b><br>Adenovirus                                   | 8  | 28                                |                                  | 4                                |
| <b>Rhinowirus</b><br>Rhinovirus                                   | 33   | 49                                | 1                                | 2                                |
| <b>Razem</b><br>Total   | 54 (14%)   | 146*<br>(39%)                     | 1                                | 9*                               |

\*%' = 4-84, p = 0-028

nie znajdowało żadnego odzwierciedlenia w badaniach histologicznych (podstawowych i poszerzonych).

W ocenie autorów w przypadkach podejrzenia SIDS/SUDI zalecenia przy ustalaniu przyczyny zgonu powinny obejmować wykonanie w pierwszej kolejności podstawowych badań histologicznych,

które są najbardziej wartościowymi badaniami przesiewowymi. W uzasadnionych przypadkach powinny być one poszerzane o dodatkowe badania immunohistologiczne, a w wyjątkowych sytuacjach o badanie PCR w kierunku izolacji wirusa. Badanie PCR może być wykonane zarówno z materiału mrożonego, jak i zabezpieczonego w formalinie/parafinie.

## PIŚMIENNICTWO

1. Beckwith J. B.: Discussion of terminology and definition of the sudden infant death syndrome, in: Bergman A. B., Beckwith J. B., Ray C. G. (Eds.): Sudden Infant Death Syndrome, Proceedings of the 2<sup>nd</sup> International Conference on the Causes of Sudden Death in Infants, University of Washington Press, Seattle, 1970: 14-22.

2. Willinger M., James L. S., Catz C.: Defining the sudden infant death syndrome (SIDS): deliberations of an expert panel convened by the National Institute of Child Health and Human Development, *Pediatr. Pathol.* 11 (1991): 677-684.

3. Beckwith J. B.: Discussion of Terminology and Definition of the Sudden Infant Death Syndrome. Ithaca, NY: Perinatology Press; 1993.

4. Czegledy-Nagy E. N., Cutz E., Becker L. E.: Sudden death in infants under one year of age. *Pediatr Pathol.* 1993, 13: 671-684.

5. Beckwith J. B.: Defining the sudden infant death syndrome. *Arch Pediatr Adolesc Med.* 2003, 157: 286-290.

6. Krous H. F., Beckwith J. B., Byard R. W., Rognum T. O., Bajanowski T., Corey T., Cutz E., Hanzlick R., Keens T. G., Mitchell E. A.: Sudden infant death syndrome and unclassified sudden infant deaths: a definitional and diagnostic approach. *Pediatrics.* 2004, 114: 234-238.

7. Weber M. A., Ashworth M. T., Risdon R. A., Hartley J., Malone M., Sebire N. J.: The role of post-mortem investigations in determining the cause of sudden unexpected death in infancy (SUDI). *Arch Dis Child.* 2008, 93: 1048-1053.

8. Fleming K. A.: Viral respiratory infection and SIDS. *J Clin Pathol.* 1992; 45 (Suppl): 29-32.

9. Krous H. F., Nadeau J. M., Silva P. D., Blackburn B. D.: A comparison of respiratory symp-

toms and inflammation in sudden infant death syndrome and in accidental or inflicted infant death. *Am J Forensic Med Pathol.* 2003, 24: 1-8.

10. Uren E. C., Williams A. L., Jack I., Rees J. W.: Association of respiratory virus infections with sudden infant death syndrome. *Med J Aust.* 1980, 1: 417-419.

11. Carpenter R. G., Gardner A.: Environmental findings and sudden infant death syndrome. *Lung.* 1990, 168(Suppl): 358-367.

12. Beal S., Porter C.: Sudden infant death syndrome related to climate. *Acta Paediatr Scand.* 1991, 80: 278-287.

13. Douglas A. S., Allan T. M., Helms P. J.: Seasonality and the sudden infant death syndrome during 1987-9 and 1991-3 in Australia and Britain. *BMJ.* 1996, 312: 1381-1383.

14. Kennedy H.: Sudden unexpected death in infancy. A multi-agency protocol for care and investigation. The report of a working group convened by The Royal College of Pathologists and The Royal College of Paediatrics and Child Health. London: The Royal College of Pathologists/The Royal College of Paediatrics and Child Health; 2004.

15. Fernandez-Rodriguez A., Ballesteros S., de Ory F., Echevarria J. E., Alvarez-Lafuente R., Vallejo G., Gomez J.: Virological analysis in the diagnosis of sudden children death: a medico-legal approach, *Forensic Sci. Int.* 161 (2006): 8-14.

16. Weber M. A., Hartley J. C., Ashworth M. T., Malone M., Sebire N. J.: Virological investigations in sudden unexpected deaths in infancy (SUDI) *Forensic Sci Med Pathol* (2010) 6: 261-267.

17. Chong D. C., Raboni S. M., Bueno Abujamra K., Marani D. M., Nogueira M. B., Tsuchiya L. R. V., Chong Neto H. J., Flizikowski F. B. Z., de Noronha L.: Respiratory Viruses in Pediatric Necropsies: An Immunohistochemical Study.

*Pediatric and Developmental Pathology* 2009, 12: 211-216.

18. Bezerra P. G. M., Britto M. C. A., Correia J. B., Duarte MdC. M. B., Fonceca A. M., Rose K., Hopkins M. J., Cuevas L. E., McNamara P. S.: (2011) Viral and Atypical Bacterial Detection in Acute Respiratory Infection in Children Under Five Years. *PLoS ONE* 6(4): e18928. doi:10.1371/journal.pone.0018928.

19. Andrade Z. R. D. M., Garippo A. L., Saldiva P. H. N., Capelozzi V. L.: Immunohistochemical and in situ detection of cytomegalovirus in lung autopsies of children immunocompromised by secondary interstitial pneumonia. *Pathology Research and Practice* 200 (2004): 25-32.

20. Bajanowski T., Rolf B., Jorch G., Brinkmann B.: Detection of RNA viruses in sudden infant death, *Int. J. Legal Med.* 117 (2003): 237-240.

21. Bajanowski T., Wiegand P., Cecchi R., Pring-Akerblom P., Adrian T., Jorch G., Brinkmann B.: Detection and significance of adenoviruses in cases of sudden infant death, *Virchows Arch.* 428 (1996): 113-118.

22. Turillazzi E., Donato S. D., Neri M., Riezzo I., Fineschi V.: An immunohistochemical study in a fatal case of acute interstitial pneumonitis (Hamman-Rich syndrome) in a 15-year-old boy presenting as sudden death *Forensic Science International* 173 (2007): 73-77.

23. Alvarez-Lafuente R., Aguilera B., Paz Suarez-Mier P., Morentin B., Vallejo G., Gomez J., Fernandez-Rodriguez A.: Detection of human herpesvirus-6, Epstein-Barr virus and cytomegalovirus in formalin-fixed tissues from sudden infant death: A study with quantitative real-time PCR *Forensic Science International* 178 (2008): 106-111.

24. Chintu Ch., Mudenda V., Lucas S., Nunn A., Lishimpi K., Maswahu D., Kasolo F., Mwaba P., Bhat G., Terunuma T., Zumla A.: Lung diseases at necropsy in African children dying from respiratory illnesses: a descriptive necropsy study *Lancet* 2002, 360: 985-990.

25. Williams A. L., Uren E. C., Bretherton L.: Respiratory viruses and sudden infant death. *Brit. Med. Jour.* 288: 1491-1493.

26. Cecchi R., Bajanowski T., Kahl B., Wiegand P.: CMV-DNA detection in parenchymatous organs in cases of SIDS, *Int. J. Legal Med.* 107 (1995): 291-295.

27. Bajanowski T., Wiegand P., Brinkmann B.: (1994) Comparison of different methods for CMV detection. *Int J Legal Med* 106: 219-222.

28. Hoang M. P., Ross K. F., Dawson D. B., Scheuermann R. H., Rogers B. B.: Human herpesvirus-6 and sudden death in infancy: report of a case and review of the literature, *J. Forensic Sci.* 44 (1999): 432-437.

29. Rambaud C., Guibert M., Briand E., Granget-Keros L., Coulomb-L'Hermine A., Dehan M.: Microbiology in sudden infant death syndrome (SIDS) and other childhood deaths *FEMS Immunology and Medical Microbiology* 25 (1999): 59-66.

30. Dettmeyer R., Kandolf P., Schmidt P., Schlamann M., Madea B.: Lympho-monocytic enteroviral myocarditis: traditional, immunohistological and molecularpathological methods for diagnosis in a case of suspected sudden infant death syndrome (SIDS) *Forensic Sci. Int.* 119 (2001): 141-144.

31. Arnestad M., Vege A., Rognum T. O.: Evaluation of diagnostic tools applied in the examination of sudden unexpected deaths in infancy and early childhood *Forensic Sci. Int.* 125 (2002): 262-268.

32. Strick L. B., Wald A.: Diagnostics for herpes simplex virus: is PCR the new gold standard? *Mol. Diagn. Ther.* 10 (2006): 17-28.

33. Dettmeyer R., Baasner A., Schlamann M., Padosch S. A., Haag C., Kandolf R., Madea B.: Role of virus-induced myocardial affections in sudden infant death syndrome: a prospective post-mortem study, *Pediatr. Res.* 55 (2004): 947-952.

34. Fernandez-Rodriguez A., Vazquez J. A., Suarez-Mier M. P., Aguilera B., Ballesteros S., Fuente L. D. I., Vallejo G., Sancho M.: Latex agglutination for bacterial antigens and meningococcus PCR: two useful tools in legal sudden deaths *Forensic Sci. Int.* 147 (2005): 13-20.

35. Samuels M.: Viruses and sudden infant death, *Paediatr. Respir. Rev.* 4 (2003): 178-183.

36. Dettmeyer R., Sperhake J. P., Müller J., Madea B.: Cytomegalovirus-induced pneumonia and myocarditis in three cases of suspected sudden infant death syndrome (SIDS): Diagnosis by immunohistochemical techniques and molecularpathologic methods *Forensic Sci. Int.* 174 (2008): 229-233.

37. Weber M. A., Ashworth M. T., Risdon R. A.,



- Hartley J. C., Malone M., Sebire N. J.: The role of post-mortem investigations in determining the cause of sudden unexpected death in infancy *Arch Dis Child* 2008; 93: 1048-1053.
38. Williams A. L., Uren E. C., Bretherton L.: Respiratory viruses and sudden infant death, *Br. Med. J. (Clin. Res. Ed.)* 288 (1984): 1491-1493.
39. Southall D. P.: Role of apnea in the sudden infant death syndrome: a personal view, *Pediatrics* 81 (1988): 73-84.
40. An S. F., Gould S., Keeling J. W., Fleming K. A.: Role of respiratory viral infection in SIDS: detection of viral nucleic acid by in situ hybridisation, *J. Pathol.* 171 (1993): 271-278.
41. Telford D. R., Morris J. A., Hughes P., Conway A. R., Lee S., Barson A. J., Drucker D. B.: The nasopharyngeal bacterial flora in the sudden infant death syndrome, *J. Infect.* 18 (1989): 125-130.
42. Aretz H. T., Billingham M. E., Edwards W. D., Factor S. M.: Myocarditis: a histopathologic definition and classification, *Am. J. Cardiovasc. Pathol* 1 (1987): 3-14.
43. Aretz H. T.: Myocarditis: the Dallas criteria, *Hum. Pathol* 18 (1987): 619-624.
44. Rambaud C., Guibert M., Briand E., Grangeot-Keros L., Coulomb-L'Hermine' A., Dehan M.: Microbiology in sudden infant death syndrome (SIDS) and other childhood deaths, *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 25 (1999): 59-66.
45. Prezioso P. J., Cangiarella J., Lee M., Nuovo G. J., Borkowsky W., Orlow S. J., Greco M. A.: Fatal disseminated infection with human herpesvirus-6, *J. Pediatr.* 120 (1992): 921-923.
46. Smith N. M., Telfer S. M., Byard R. W.: A comparison of the incidence of cytomegalovirus inclusion bodies in submandibular and tracheo-bronchial glands in SIDS and non-SIDS autopsies, *Pediatr. Pathol.* 12 (1992): 185-190.
47. Perz S., Steinborn B.: Zespół nagłej śmierci niemowlęcia. *Neurologia dziecięca.* 19 (2010) nr 38: 65-73.
48. Stanta G., M. D., Mucelli S. P., Petrera F., Bonin S., Bussolati G. A.: Novel Fixative Improves Opportunities of Nucleic Acids and Proteomic Analysis in Human Archive's Tissues *Diagn Mol Pathol* 2006, 15: 115-123.
49. Lozinski G. M., Davis G. G., Krous H. F., Billman G. F., Shimizu H., Burns J. C.: Adenovirus myocarditis: retrospective diagnosis by gene amplification from formalin-fixed, paraffin-embedded tissues, *Hum. Pathol.* 25 (1994): 831-834.
50. Sung R., Chan P., Tsen T., Li A., Lam W., et al. (2009) Identification of viral and atypical bacterial pathogens in children hospitalized with acute respiratory infections in Hong Kong by multiplex PCR assays. *J Med Virol* 81: 153-159.
51. Kaplan N., Dove W., Abd-Eldayem S., Abu-Zeid A., Shamooh H., et al. (2008) Molecular epidemiology and disease severity of respiratory syncytial virus in relation to other potential pathogens in children hospitalized with acute respiratory infection in Jordan. *J Med Virol* 80: 168-174.
52. Bharaj P., Sullender W., Kabra S., Mani K., Cherian J., et al. (2009) Respiratory viral infections detected by multiplex PCR among pediatric patients with lower respiratory tract infections seen at an urban hospital in Delhi from 2005 to 2007. *Virology* 6: 89.

Adres do korespondencji:

Katedra i Zakład Medycyny Sądowej  
i Toksykologii Sądowo-Lekarskiej  
Śląskiego Uniwersytetu Medycznego  
w Katowicach  
ul. Medyków 18  
40-752 Katowice  
e-mail: aagnieeszkaa@poczta.onet.pl