

Prikaz primera/Case report

STAPHYLOCOCCUS AUREUS, NOSILEC GENA ZA PANTON-VALENTINE LEUKOCIDIN, IN LETALNA NEKROTIZIRAJOČA PLJUČNICA PRI MLADEM IMUNOKOMPETENTNEM BOLNIKU

LETHAL NECROTISING PNEUMONIA IN YOUNG IMMUNOCOMPETENT PATIENT CAUSED BY STAPHYLOCOCCUS AUREUS CARRYING GENE FOR PANTON-VALENTINE LEUKOCIDIN

Irena Piltaver-Vajdec¹, Martin Tretjak¹, Cirila Slemenik-Pušnik¹, Davorin Benko¹,
Jerneja Fišer², Viktorija Tomič³

¹ Splošna bolnišnica Slovenj Gradec, Gosposvetska 1, 2380 Slovenj Gradec

² Splošna bolnišnica dr. Franca Derganca, Ulica padlih borcev 13/A, 5290 Šempeter pri Gorici

³ Bolnišnica Golnik - KOPA Golnik, Golnik 36, 4204 Golnik

Prispelo 2006-06-06, sprejeto 2006-09-11; ZDRAV VESTN 2006; 75: 829-32

Ključne besede *pljučnica domačega okolja; Panton-Valentine leukocidin; nekrotizirajoča pljučnica; Staphylococcus aureus*

Izvleček

Izhodišča *Staphylococcus aureus (S. aureus) je najpogostejši povzročitelj bolnišničnih okužb. Izloča številne eksotoksine, v manj kot 5 % tudi Panton-Valentine leukocidin (PVL). PVL pozitivni S. aureus je povezan z okužbami kože, lahko pa povzroča tudi hudo progresivno nekrotizirajočo pljučnico domačega okolja.*

Metode *Opisujemo primer 30-letnega bolnika s furunkulozo, ki je zbolel z nejasnimi bolečinami v spodnjem delu trebuha in je bil zaradi klinične slike akutnega abdominalna kasneje tudi operiran. V trebušni votlini ni bilo znakov kirurške bolezni. Že med posegom je prišlo do respiratorne insuficience, kasneje se je ob tem razvila tudi slika septičnega šoka. Iz aspirata traheje in hemokultur smo osamili S. aureus in Streptococcus pneumoniae. Kljub vsem ukrepom z visoko podporo predihavanja in ciljani antibiotični terapiji je prišlo do hude parenhimske pljučne okvare z obojestranskim pnevmotorakso in dihalne odpovedi. Naknadno smo pri izolirani bakteriji S. aureus s postopkom, ki ga opisujemo, dokazali prisotnost gena za PVL.*

Zaključki *Pri bolniku z nekrotizirajočo pljučnico in septičnim šokom smo osamili PVL pozitivni S. aureus in S. pneumoniae. Da v prihodnosti preprečimo širjenje okužbe s PVL pozitivno bakterijo S. aureus, bi bili verjetno potrebni ukrepi, kot jih poznamo za proti meticilinu odporni S. aureus.*

Avtor za dopisovanje / Corresponding author:

Irena Piltaver Vajdec, dr. med., Splošna bolnišnica Slovenj Gradec, Gosposvetska 1, 2380 Slovenj Gradec, tel.: 02 / 8823 485, e-mail: irena.piltaver@sb-sg.si

Key words *necrotising pneumonia; community acquired pneumonia; Staphylococcus aureus; Panton-Valentine leukocidin*

Abstract

Background *Staphylococcus aureus (S. aureus) is a major cause of hospital-acquired infections. It secretes many exotoxins, in less than 5 % also Panton-Valentine leukocidin (PVL). S. aureus carrying PVL genes is mainly associated with necrotic lesions of skin and mucosa and can cause severe necrotising community-acquired pneumonia.*

Methods *We describe a case of a 30-year-old patient with a history of furunculosis who was admitted to our hospital with atypical lower abdominal pain. A clinical picture of acute abdomen developed and he was operated with no intraabdominal pathology found. A periprocedural respiratory insufficiency and later septic shock developed. S. aureus and Streptococcus pneumoniae were isolated from blood cultures and tracheal aspirate. In spite of all measures taken, high ventilatory support and targeted antibiotic treatment, severe pulmonary dysfunction with bilateral pneumothorax developed and the patient died of respiratory failure. Later genes encoding PVL were found in the isolated strains of S. aureus.*

Conclusions *Severe progressive necrotising pneumonia with high mortality can be caused by PVL positive S. aureus in immunocompetent patients. To prevent the future spread of PVL positive S. aureus infection, the measures as known for methicillin-resistant S. aureus, should probably be taken.*

Uvod

Staphylococcus aureus (S. aureus) kolonizira v nosu pri 30 % splošne populacije. Pretežno se prenaša pri tesnem kontaktu. Ima številne virulencne dejavnike, prizadene lahko katerikoli organski sistem. Trenutno je najpogostejši povzročitelj bolnišničnih okužb. Število okužb še narašča, narašča tudi odpornost proti antibiotikom (1). *S. aureus* proizvaja številne eksotoksine, ki mu omogočajo kolonizacijo gostitelja, hkrati pa povzročajo obolenja. Večina sevov izloča hemolizine, nukleaze, proteaze, lipaze, hialuronidazo in koagulaze, ki spremenijo tkiva gostitelja v hranljive snovi, potrebne za bakterijsko rast (2). Nekateri sevi izločajo dodatne eksotoksine, kot so enterotoksin, toksin toksičnega šoka sindroma, ekfoliativni toksin in Panton-Valentine leukocidin (PVL). Ti eksotoksini na različne načine vplivajo na vnetni in imunski odziv gostitelja in so lahko odgovorni za posebne klinične oblike okužbe (2).

PVL je bikomponentni citotoksin, kodirata ga dva gena bakteriofaga. PVL povzroča destrukcijo levkocitov in nekrozo tkiv verjetno z direktno okvaro mitohondrijev in proženjem apoptoze (3). PVL izloča manj kot 5 % sevov bakterije *S. aureus*. Klinično je povezan z nekrotičnimi okvarami kože in progresivno nekrotizirajočo pljučnico (4, 5).

Prikaz primera

30-letni bolnik, ki je imel v zadnjih mesecih pogoste furunkle, nazadnje pred 14 dnevi na glavi (podatek smo pridobili naknadno iz heteroanamneze), je bil ponoči sprejet na Oddelek za urologijo Splošne bolnišnice Slovenj Gradec zaradi teden dni trajajočih zbadajočih bolečin v desnem hipogastriju. Ob tem ni imel

povišane telesne temperature, ni kašljal, ni imel težav pri odvajanju blata in vode. Postavljen je bil sum na urolitiazno, zato je prejel spazmoanalgetična zdravila. Že na dan sprejema je postal febrilen, bolečine v trebuhu pa so postale hujše. Laboratorijsko so bili prisotni povišan CRP (360 mg/l), blaga trombocitopenija ($93 \times 10^9/l$), povišan kreatinin (121 $\mu\text{mol/l}$), levkocitoze pa ni bilo ($5,3 \times 10^9/l$). Opravljeni rentgenogram pljuč in srca, trebuha in ultrazvok trebuha niso pokazali večjih posebnosti. Zaradi klinične slike akutnega abdomna se je dežurni kirurg 24 ur po sprejemu odločil za eksplorativno laparatomijo, ki v trebušni votlini ni pokazala posebnosti. Med operativnim posegom je prišlo do padca krvnega tlaka in saturacije arterijske krvi, kontrolni rentgenogram pljuč in srca je pokazal obojestranske infiltrate (Sl. 1). Bolnikovo stanje se je po nadomeščanju tekočin, dvotirnem empiričnem antibiotičnem zdravljenju (ceftriakson, gentamicin) in dodatku kisika preko maske Ohio prehodno stabiliziralo. Zaradi poslabšanja stanja s hudo respiratorno insuficienco in sliko septičnega šoka je bil naslednji dan zjutraj premeščen v enoto za intenzivno interno medicino. Takoj po premestitvi je bilo potrebno umetno predihavanje z visoko ventilatorno podporo (100-odstotni kisik, PEEP 10 cm vode in inverzno razmerje I:E), bolnik je prejel vazopresorje in inotropne. Laboratorijsko je bila prisotna huda levkopenija ($0,5 \times 10^9/l$). Dodali smo kloksacilin in azitromicin, po konzultaciji infektologa pa še cefotaksim.

Iz hemokulture smo osamili *Streptococcus pneumoniae (S. pneumoniae)*, občutljiv na penicilin, in *S. aureus*, občutljiv na oksacilin. Obe bakteriji sta bili izolirani tudi iz aspirata traheje in brisa žrela. Dodan je bil kristalni penicilin v visokem odmerku. V naslednjih dneh se je bolnikovo hemodinamsko stanje stabiliziralo, laboratorijsko je prišlo do upada vnetnih para-



Sl. 1. Rentgenogram prsnih organov pri 30-letnem bolniku s progresivno nekrotizirajočo pljučnico, povzročeno s Panton-Valentine leukocidin pozitivno bakterijo *Staphylococcus aureus*.

Figure 1. Chest radiograph of a 30-year-old patient with progressive necrotising pneumonia caused by Panton-Valentine leukocidin positive *Staphylococcus aureus*.

metro, na rentgenogramu pljuč in srca je bil viden manjši regres obojestranskih infiltratov. Še vedno je bilo potrebno umetno predihavanje z visoko ventilatorno podporo (PEEP do 15 cm vode). Peti dan hospitalizacije je prišlo do levostranskega pnevmotoraksa, ki je bil uspešno dreniran, deseti dan je prišlo do pnevmotoraksa še desno. Tudi ta je bil uspešno dreniran, vendar se je pljučna funkcija še naprej slabšala, rentgenološko so bile po pljučih prisotne številne emfizemske bule z obsežno okvaro pljučnega parenhima. Bolnika nismo mogli več uspešno ventilirati, dvanajsti dan je zaradi dihalne odpovedi umrl. Obdukcija ni bila opravljena.

Izolacija *S. aureus* in dokaz Panton-Valentine leukocidina

S. aureus in *S. pneumoniae* sta bila izolirana pri bolniku iz hemokulture Bactec (Becton Dickinson) po inkubaciji 5 ur na 35 °C in precepljena na krvni agar z dodatkom 5 % ovčje krvi ter inkubirana s CO₂ 24 ur. Vzorci nosno-žrelnega prostora so bili odvzeti z odvzemnimi brisi Stuart (Copan, Italija) s petkratno rotacijo iz nosne sluznice in iz žrela in preneseni v mikrobiološki laboratorij v 2 urah. Brisi so bili nacepljeni na krvni agar z dodatkom 5 % ovčje krvi, brain-heart infuzion agar (Bio Merieux, Francija). Identifikacija stafilokoka je potekala s fluorescenčnim testom Rapidec Staph (Bio Merieux), pozitiven je bil koagulazni test, izveden na sveži humani plazmi, pozitiven je bil Staphyslide test (Bio Merieux). *S. pneumoniae* je bil identificiran s testom Optochin (Bio Merieux) in testom rapid ID 32 STREP (Bio Merieux). Občutljivost na antibiotike je bila določena s sistemom ATB (Bio

Merieux, Francija) z mikrodilucijsko break point metodo ob upoštevanju meril ameriškega združenja National Committee for Clinical Laboratory Standards (NCCLS) (5). *S. aureus* je bil občutljiv na oksacilin (minimalna inhibitorna koncentracija (MIK < 2), tetracikline (MIK < 4), levofloksacin (MIK < 1), fucidinsko kislino (MIK < 2), vankomicin (MIK < 4), teikoplanin (MIK < 8), kvinupristin-dalfopristin (MIK < 1), trimetoprim/sulfametoksazol (MIK < 2/38) in rezistenten proti penicilinu (MIK > 0,12), eritromicinu (MIK > 8) in klindamicinu (MIK > 4). *S. pneumoniae* je bil občutljiv na penicilin (MIK < 0,031), cefotaxim (MIK < 0,5), klindamicin (MIK < 0,25), levofloksacin (MIK < 2), vankomicin (MIK < 1), tetracikline (MIK < 2), eritromicin (MIK < 0,25), kvinupristin-dalfopristin (MIK < 1) in mediarne občutljivosti na trimetoprim/sulfametoksazol (MIK = 2/38).

Prisotnost gena za PVL je bila dokazana v mikrobiološkem laboratoriju Bolnišnice Golnik. Uporabljen je bil test Genotype[®] Staphylococcus (Hain Lifesciences GmbH, Nehren, Nemčija). Iz petih kolonij čiste bakterijske kulture je bila s segrevanjem, sonifikacijo in centrifugiranjem izolirana DNA in pomnožena v napravi GeneAmp 9600 (PerkinElmer, Boston, ZDA). Pomnoženi produkt je bil inkubiran z denaturacijsko raztopino v posebni ploščici s kanalčki 5 minut pri sobni temperaturi, nato je bil dodan hibridizacijski pufer. V vsak kanalček je bil dodan testni listič in ploščica, inkubirana 30 minut pri 45 °C v hibridizacijski pečici TwinCubator (Hain Lifesciences GmbH, Nehren, Nemčija). Po zaključeni inkubaciji so bili lističi 2-krat sprani z izpiralno raztopino in nato je bil dodan konjugat. Sledila je inkubacija 30 minut pri sobni temperaturi. Po trikratnem spiranju lističev je bil dodan substrat. Sledila je inkubacija 5 minut v temi. Lističi so bili dvakrat sprani z destilirano vodo in posušeni na filtrirnem papirju. Rezultat je bil odčitano s pomočjo posebne predloge, kjer so označeni položaji značilnih odsekov DNA.

Na prisotnost bakterije *S. aureus* v nosno-žrelnem prostoru je bilo naknadno pregledanih tudi 6 članov družine. *S. aureus* je bil prisoten pri 4 članih družine, vendar nobeden ni bil nosilec gena za PVL.

Razpravljanje

Prikazani primer je prvi opis nekrotizirajoče pljučnice, povzročene z bakterijo *S. aureus*, nosilko gena za PVL, v Sloveniji.

Povezavo med PVL pozitivno bakterijo *S. aureus* in hudo nekrotizirajočo hemoragično pljučnico domačega okolja so prvič opisali 1999. leta Line in sodelavci (5). Ugotovili so tudi, da se PVL pogosteje pojavlja pri primarnih kožnih okužbah, predvsem furunkulozi. Kasneje so bili posamezni primeri nekrotizirajočih pljučnic domačega okolja, povzročeni s PVL pozitivno bakterijo *S. aureus*, opisani tudi v Franciji, Veliki Britaniji, Španiji in na Švedskem (4, 7–10). Gillet in sodelavci so raziskali 16 primerov doma pridobljene pljučnice, povzročene s PVL pozitivno bakterijo *S. aureus*, in jih primerjali s 36 primeri doma pridobljenih pljučnic, kjer *S. aureus* ni bil nosilec gena za PVL

(4). Bolniki v prvi skupini so bili mlajši, pri večini so se dva dni pred sprejemom v bolnišnico pojavljali simptomi, podobni gripi. Imeli so hujši klinični potek z višjo telesno temperaturo, tahikardijo, hemoptizami, plevralnimi izlivami in levkopenijo. Umrljivost po 48 urah je bila v skupini s PVL pozitivno bakterijo *S. aureus* 37 %, v drugi skupini le 6 %. Obdukcija je pri umrlih iz prve skupine pokazala obsežne nekrotične ulceracije sluznice sapnika in bronhov in masivne hemoragične nekroze interalveolnih pretinov.

Tudi pri našem bolniku je bila klinična slika na začetku bolezni atipična, prisotnih je bilo nekaj gripi podobnih simptomov. Sum, da gre pri bolniku za verjetno stafilokokno pljučnico, je bil postavljen na osnovi klinične slike in rentgenograma pljuč in srca 32 ur po sprejemu. Takrat je bolnik prejel ustrezno antibiotično zdravljenje. Skladno z opisi iz literature je bil potek bolezni hud, prišlo je do obsežne okvare pljučnega parenhima z rentgenološko prisotnimi posrednimi znaki obsežne nekroze s pojavom emfizematskih bul in spontanah pnevmotoraksov in kasnejšo dihalno odpovedjo. Do bolezni je verjetno prišlo zaradi hematogenega razsoja PVL pozitivne bakterije *S. aureus* iz klinično že ozdravljenega furunkla. V patogenezo pljučnice pri našem bolniku je bil verjetno dodatno vpleten tudi *S. pneumoniae*. Glede na potek bolezni pa sklepamo, da je bila njegova vloga manjša. V literaturi zasledimo posamezne opise prenosa okužbe s PVL pozitivno bakterijo *S. aureus* med bližnjimi svojci (9). Pri svojcih našega bolnika PVL pozitivne bakterije *S. aureus* nismo našli.

Poleg hude klinične slike, ki jo lahko povzročata PVL pozitivni *S. aureus*, je zaskrbljujoče, da se pojavlja vedno več opisov prisotnosti gena za PVL pri bakteriji *S. aureus*, odporni proti metilicinu (MRSA) (11, 12). Tako Boubaker s sodelavci, ki opisuje izbruh bolezni pri šolskih otrocih, predlaga testiranje na PVL v primerih doma pridobljene pljučnice in furunkulozi. Predlaga tudi ukrepe preprečevanja, ki že veljajo za MRSA (13). Glede na to bo najverjetneje potrebno tudi v Sloveniji uvesti ukrepe, podobne tistim, ki veljajo za dekolonizacijo pri MRSA, da se prepreči širjenje PVL pozitivne bakterije *S. aureus* in s tem tudi hudih bolezni, ki jih lahko povzročata. Te ukrepe sestavljajo ugotavljanje prisotnosti gena PVL pri bakteriji *S. aureus* pri bolnikih z doma pridobljeno pljučnico in kožnimi spremembami (furunkulozo). Ob ugotovitvi prisotnosti PVL pozitivne bakterije *S. aureus* je potrebno epidemiološko poiskati morebitne nosilce (v družinah obolelega, v skupnostih, v katerih so se bolniki nahajali, kot so vrtci in šole). Dekolonizacijo bo potrebno izvajati z večkratnim dajanjem mupirucina v nos in tuširanjem ter umivanjem las s klorheksidinom ter grgranjem klorheksidina. Glede na vse večjo razširjenost stafilokoknih okužb bo potrebno tudi usmerjeno iskanje PVL pozitivne bakterije *S. aureus*, zlasti pri bolnikih s furunkulozo. *S. pneumoniae* je znan patogen pri pljučnici domačega okolja, vlogo *S. aureus* nosilca gena za Pantone-Valentine leukocidin pri

pljučnici domačega okolja pa bo potrebno v Sloveniji še opredeliti z dodatnimi raziskavami.

Zaključki

PVL pozitivni *S. aureus* je pogosto prisoten pri bolnikih s furunkulozo. Povzroči lahko hudo progresivno nekrotizirajočo pljučnico z visoko umrljivostjo tudi pri imuno-kompetentnem bolniku. V primeru potrjene okužbe z bakterijo *S. aureus* pri bolniku s furunkulozo ali nekrotizirajočo pljučnico bi bilo smiselno ugotavljanje gena za PVL in izvajanje ukrepov za preprečevanje širjenja okužbe, kot veljajo za MRSA.

Literatura

1. Archer GL. Staphylococcus aureus: a well-armed pathogen. Clin Infect Dis 1998; 26: 1179-81.
2. Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of Staphylococcus aureus. Clin Microbiol Rev 2000; 13: 16-34.
3. Genestier AL, Michallet MC, Prevost G, Bellot G, Chalabreysse L, Peyrol S, et al. Staphylococcus aureus Pantone-Valentine leukocidin directly targets mitochondria and induces Bax-independent apoptosis of human neutrophils. J Clin Invest 2005; 115: 3117-27.
4. Gillet Y, Issartel B, Vanhems P, Fournet JC, Lina G, Bes M, et al. Association between Staphylococcus aureus strains carrying gene for Pantone-Valentine leukocidin and highly lethal necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. Lancet 2002; 359: 753-9.
5. Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, Bes M, Peter MO, Gauduchon V, et al. Involvement of Pantone-Valentine leukocidin-producing Staphylococcus aureus in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis 1999; 29: 1128-32.
6. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically. Approved Standard M7-A6. 6th ed. Wayne PA: National Committee for Clinical Laboratory Standards; 2004.
7. Boussaud V, Parrot A, Mayaud C, Wislez M, Antoine M, Picard C, et al. Life-threatening hemoptysis in adults with community-acquired pneumonia due to Pantone-Valentine leukocidin-secreting Staphylococcus aureus. Intensive Care Med 2003; 29: 1840-3.
8. Klein JL, Petrovic Z, Treacher D, Edgeworth J. Severe community-acquired pneumonia caused by Pantone-Valentine leukocidin-positive Staphylococcus aureus: first reported case in the United Kingdom. Intensive Care Med 2003; 29: 1399.
9. Osterlund A, Kahlmeter G, Bieber L, Runeheger A, Breider JM. Intrafamilial spread of highly virulent Staphylococcus aureus strains carrying the gene for Pantone-Valentine leukocidin. Scand J Infect Dis 2002; 34: 763-4.
10. Alonso-Tarres C, Villegas ML, de Gispert FJ, Cortes-Lletget MC, Rovira Plarromani A, Etienne J. Favorable outcome of pneumonia due to Pantone-Valentine leukocidine producing Staphylococcus aureus associated with hematogenous origin and absence of flu-like illness. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2005; 25: 756-9.
11. Dufour P, Gillet Y, Bes M, Lina G, Vandenesch F, Floret D. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus infections in France: emergence of a single clone that produces Pantone-Valentine leukocidin. Clin Infect Dis 2002; 35: 819-24.
12. Vandenesch F, Naimi T, Enright MC, Lina G, Nimmo GR, Heffernan H. Community-acquired methicillin-resistant Staphylococcus aureus carrying Pantone-Valentine leukocidin genes: worldwide emergence. Emerg Infect Dis 2003; 8: 978-84.
13. Boubaker K, Diebold P, Blanc DS, Vandenesch F, Praz G, Dupuis G. Pantone-Valentine leukocidin and staphylococcal skin infections in schoolchildren. Emerg Infect Dis 2004; 10: 121-4.