

AKTUALNOŚCI BINET

Nr 3 / maj 2009

www.koroun.edu.pl

Drogie Koleżanki i Koledzy!



Witam serdecznie, oddając w Wasze ręce kolejny numer Aktualności BINet. Cieszy nas bardzo zaangażowanie, z jakim podchodzicie do projektu BINet, który powstał jako odpowiedź na wciąż niedoszacowaną liczbę zgłaszanych przypadków pozaszpitalnych inwazyjnych zakażeń bakteryjnych w Polsce. Do Sieci BINet włączyło się już ponad 130 laboratoriów mikrobiologicznych z całej Polski. Spowodowało to znaczący wzrost liczby przesyłanych do KOROUN szczepów, materiałów do badań techniką PCR i wydawanych wyników, a tym samym coraz lepsze rozpoznanie epidemiologiczne w obszarze bakteryjnych zakażeń inwazyjnych.

W roku 2007 KOROUN wydał 442 wyniki, w 2008 dwukrotnie więcej tj. 973, a od początku roku do końca marca 2009, 410 wyników badań. Chcemy ten trend podtrzymać. Kluczową dla całego procesu monitorowania pozostaje współpraca lekarzy i mikrobiologów w zakresie zlecania i wykonywania badań. Dlatego korzystając z okazji pragnę zachęcić wszystkich lekarzy i mikrobiologów do współpracy w zakresie sieci BINet. W tym numerze przedstawiamy pierwsze wyniki monitorowania KOROUN/BINet zakażeń inwazyjnych wywoływanych przez bakterie *Haemophilus influenzae* i *Streptococcus pneumoniae* w Polsce, poruszamy temat różnicowania najczęstszych posocznic, a także zamieszczamy informację na temat wyników wydawanych przez KOROUN.

Zapraszam Państwa również do wzięcia udziału w konkursie pt.: „Współpraca lekarza i mikrobiologa w prawidłowej diagnostyce i terapii zakażeń inwazyjnych”. Wierzę, że nasze wspólne zaangażowanie poszerzy wiedzę dotyczącą epidemiologii zakażeń bakteryjnych w Polsce, a przede wszystkim pozwoli na lepszą opiekę nad pacjentem.

Z pozdrowieniami,

Waleria Hryniewicz



Epidemiologia

Materiały w sekcjach Epidemiologia i Diagnostyka zostały opracowane przez zespół: dr n. med. Anna Skoczyńska, dr n. med. Alicja Kuch i prof. dr hab. med. Waleria Hryniewicz.

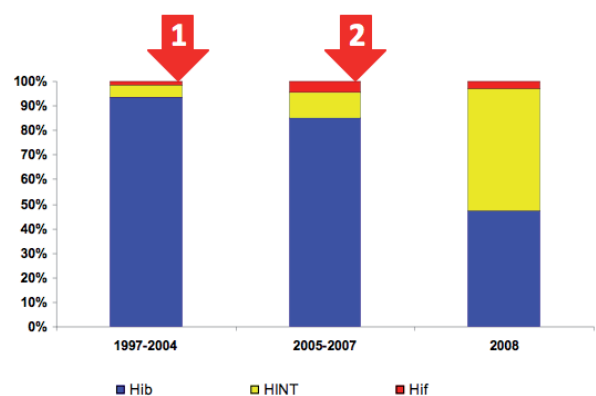
Haemophilus influenzae

Haemophilus influenzae jest obok *Streptococcus pneumoniae* i *Neisseria meningitidis* jednym z najczęstszych pozaszpitalnych, bakteryjnych patogenów inwazyjnych. W obrębie gatunku *H. influenzae* wyróżniamy szczepy posiadające otoczkę oraz bezotoczkowe (nietypowalne, NTHI, z ang. non-typable *Haemophilus influenzae*). Szczepy wytwarzające otoczkę ze względu na jej odmienną budowę antygenową podzielono na 6 serotypów (a-f). Z klinicznego punktu widzenia najważniejsze, stanowiące przyczynę większości ciężkich inwazyjnych zakażeń u dzieci poniżej 5 r.ż., są szczepy serotypu b (Hib). Hib odpowiedzialny jest za ponad 90% zapaleń opon mózgowo-rdzeniowych wywołanych przez *Haemophilus influenzae*; ponadto może odpowiadać za posocznice, zapalenie nagłośni, zapalenie osierdzia oraz stany zapalne stawów i tkanki podskórnej, a także zakażenia w obrębie dróg oddechowych (zapalenie ucha, zapalenie płuc). Szczepy bezotoczkowe (NTHI) w większości przypadków wywołują nieinwazyjne zakażenia dróg oddechowych, zwłaszcza ostre zapalenie ucha środkowego u dzieci. Zakażenia dolnych dróg oddechowych dotyczą głównie ludzi starszych.

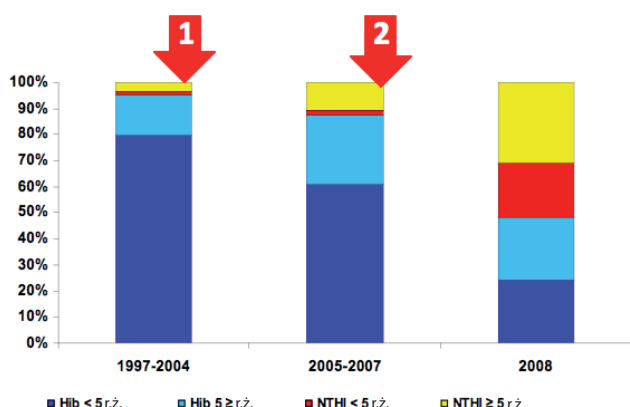
Najskuteczniejszą strategią ograniczenia zakażeń Hib jest stosowanie immunoprofilaktyki, czyli szczepień ochronnych. W krajach, które wprowadziły szczepienia masowe uzyskano redukcję zachorowań do pojedynczych przypadków. W Polsce, w roku 2007, szczepienie przeciwko Hib włączono do obowiązkowego kalendarza szczepień refundowanych. Dane KOROUN, pochodzące z monitorowania inwazyjnych zakażeń *H. influenzae* wskazują, że do roku 2007 Hib odpowiadał za 93% wszystkich zakażeń inwazyjnych wywołanych przez gatunek *H. influenzae*, a w grupie najbardziej narażonej na te zakażenia, czyli u dzieci < 5 r.ż. stanowił 83% odnotowanych przypadków. W rok po wprowadzeniu szczepień obowiązkowych obserwuje się spadek liczby zakażeń Hib do 47%, również w grupie dzieci do lat pięciu (do 33%). Kolejną obserwowaną zmianą jest, prawie dziesięciokrotny, wzrost zakażeń wywołanych przez szczepy bez-

otoczkowe w roku 2008 w stosunku do lat poprzednich (50% vs 6%). Szczepy te coraz częściej izolowane są również w grupie dzieci < 5 r.ż. i w 2008 roku odpowiedzialne były za 46% zakażeń w tej grupie wiekowej (ryc.1 i 2). Należy jednak podkreślić, że obserwowany wzrost liczby zakażeń inwazyjnych wywołanych przez NTHI nie jest następstwem szczepień przeciw Hib. Doświadczenia innych krajów nie wykazały zjawiska zajęcia zwolnionej niszy przez Hib, przez inne szczepy z gatunku *H. influenzae*. W Polsce jest to po pierwsze spowodowane zmianą systemu rejestracji zakażeń inwazyjnych (rejestracja nie tylko zapalenia opon mózgowo-rdzeniowych, ale również bakteriemii/posocznicy), która miała miejsce w 2004 r., o czym świadczy wzrost liczby izolatów *H. influenzae* otrzymywanych przez KOROUN pochodzących z krwi (ryc.3). Drugą przyczyną jest coraz lepsze monitorowanie pozaszpitalnych zakażeń inwazyjnych, również w ramach sieci BINet.

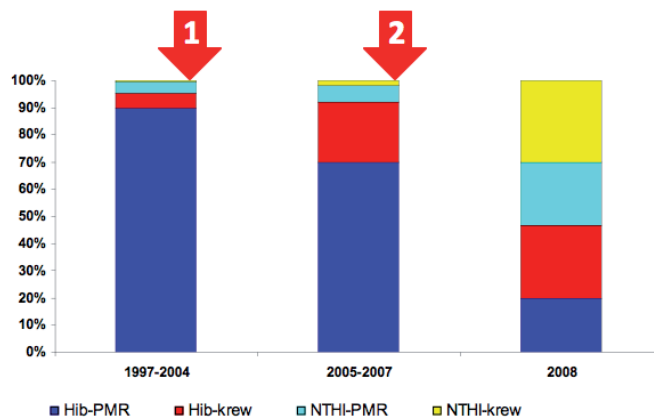
Monitorowanie zakażeń *H. influenzae* dostarcza również danych na temat lekowrażliwości polskich izolatów. Wg danych KOROUN za lata 1997-2008 wśród szczepów izolowanych z zakażeń inwazyjnych oporność na ampicylinę dotyczyła jedynie 12% szczepów i związana była z produkcją beta-laktamazy. Wszystkie inwazyjne izolaty *H. influenzae* były wrażliwe na cefalosporyny III generacji. Dalsze monitorowanie w ramach sieci BINet pozwoli nam na lepsze rozpoznanie sytuacji epidemiologicznej wynikającej z interwencji profilaktycznej i oszacowanie jej skuteczności w naszym kraju, a także z pojawiania się nowych mechanizmów oporności.



Ryc.1. Dystrybucja izolatów otoczkowych (serotyp b – Hib, serotyp f – Hif) oraz bezotoczkowych (NTHI) wśród wszystkich inwazyjnych *H. influenzae* przesłanych do KOROUN w latach 1997-2008 (n=349).



Ryc.2. Odsetek zakażeń inwazyjnych wywołanych przez Hib i NTHI w grupie wiekowej poniżej i powyżej 5 r.ż. wg danych KOROUN z lat 1997-2008 (n=349).



Ryc.3. Rozkład izolatów Hib i NTHI w zależności od miejsca izolacji wg danych KOROUN z lat 1997-2008 (n=349).

Legenda

- 1 - rok 2004, zmiana systemu rejestracji zakażeń inwazyjnych
- 2 - rok 2007, wprowadzenie szczepienia Hib do obowiązkowego kalendarza szczepień refundowanych

Streptococcus pneumoniae

Streptococcus pneumoniae (dwoinka zapalenia płuc, pneumokoki), jest bardzo częstą przyczyną zachorowalności i umieralności w skali świata. Dane Światowej Organizacji Zdrowia (WHO) wskazują, że z powodu zakażeń wywołanych tymi bakteriami umiera rocznie około 1 mln dzieci. Dlatego WHO i UNICEF uważają za priorytetowe włączenie koniugowanych szczepionek przeciw pneumokokom u małych dzieci do narodowych programów szczepień. Do chorób inwazyjnych wywołanych przez pneumokoki określanych mianem inwazyjnej choroby pneumokokowej (ICHp) należą: zapalenie płuc z bakterią, posocznica i zapalenie opon mózgowo-rdzeniowych. Pneumokok odpowiada także za zakażenia nieinwazyjne. Najwięcej zachorowań pneumokokowych występuje w skrajnych grupach wiekowych, u niemowląt i dzieci poniżej r.ż. oraz u dorosłych powyżej 65 r.ż.; dlatego przede wszystkim osoby z tych grup wiekowych powinny być objęte szczepieniami.

Monitorowanie ICHp przeprowadzone w Stanach Zjednoczonych wykazało, że pomimo dużej różnorodności serologicznej pneumokoków (91 serotypów), jedynie izolaty kilku z nich odpowiadają za większość (około 80%) zakażeń inwazyjnych

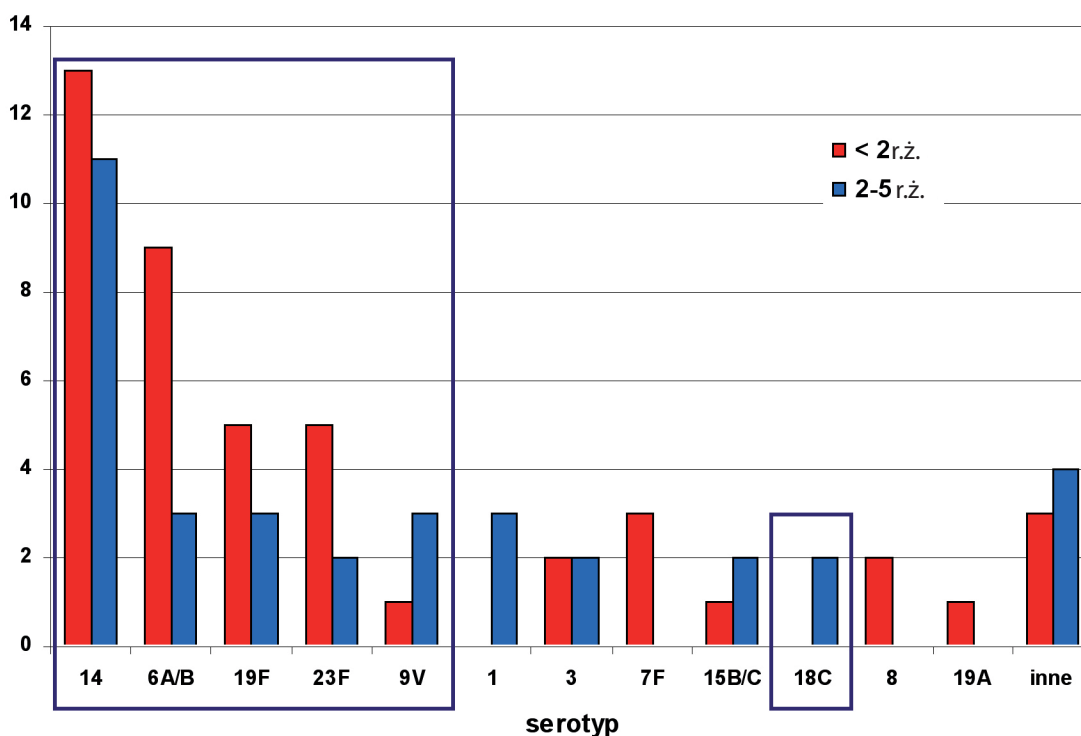
u dzieci do 5 r.ż. Są to izolaty serotypów 4, 6B, 9V, 14, 18C, 19F, oraz 23F, które dodatkowo, poza częstym wywoływaniem ciężkich zakażeń, charakteryzuje wielooporność. Dlatego też podjęto decyzję, aby wielocukry tych właśnie serotypów włączyć do koniugowanej szczepionki 7-walentnej. W porównaniu z polisacharydową szczepionką 23-walentną, antygeny 7-walentnej szczepionki koniugowanej połączono (skoniugowano) z białkiem nośnikowym (toksoid błoniczy CRM₁₉₇) w celu lepszej i trwalszej odpowiedzi immunologicznej, którą dodatkowo można uzyskać u małych dzieci. 31 marca 2009r. zarejestrowano kolejną koniugowaną szczepionkę przeciw *S. pneumoniae*, w której spektrum działania jest 10 serotypów: siedem obecnych w szczepionce 7-walentnej oraz serotypy 1, 5 i 7F. Osiem serotypów skoniugowano z białkiem nośnikowym *D. H. influenzae*, jeden z toksoidem tężcowym, a jeden z toksoidem błoniczym. Szczepionka ta jest przeznaczona do czynnego uodparniania dzieci w wieku od ukończenia 6 tygodnia życia do 2 lat. W końcowej fazie rejestracji jest jeszcze szczepionka 13-walentna zawierająca polisacharydy pneumokokowe serotypów obecnych w szczepionce 10-walentnej i dodatkowo serotypy 3, 6A i 19A.¹

Skuteczność wprowadzenia szczepień można prześledzić m.in. na przykładzie doświadczeń amerykańskich. Ogólna zapadalność na IChP wśród rocznych dzieci zmniejszyła się z ponad 200/100000 do poniżej 50/100000 już w dwa lata po wprowadzeniu szczepień w 2000 r. [ABCs Report; <http://www.cdc.gov/ncidod/dbmd/abcs/survreports.htm>].

Porównując zapadalność na IChP wywoływaną przez pneumokoki niewrażliwe na penicylinę w latach 1999 i 2004 zaobserwowano, że u dzieci poniżej 2 r.ż. zmniejszyła się ona z 70,3/100000 do 13,1/100000, a więc o 81%. Biorąc pod uwagę wszystkie grupy wiekowe uzyskano zmniejszenie liczby niewrażliwych izolatów inwazyjnych o 57%.

Na świecie obserwuje się różnice w dystrybucji serotypów i poziomów oporności wśród pneumokoków pochodzących od pacjentów z różnych krajów i okresów. Dlatego też każdy kraj/region powinien dysponować własnymi wynikami moni-

torowania IChP. Wychodząc naprzeciw tym potrzebom podjęliśmy inicjatywę utworzenia sieci BINet w Polsce. Dzięki Państwa aktywności w ramach tej sieci otrzymujemy coraz więcej izolatów i materiałów do badań PCR i możemy pokazać pierwsze wyniki monitorowania zakażeń pneumokokowych. W 2007r. KOROUN zgromadził 132 inwazyjne pneumokoki, a w 2008r. - 201. Natomiast w ciągu pierwszych 3 miesięcy 2009r. KOROUN otrzymał 104 takie izolaty. Większa liczba przesłanych w ciągu ostatnich trzech lat pneumokoków pozwala na śmielsze wyciąganie wniosków z otrzymanych danych. Wynika z nich, że po zastosowaniu szczepionki 7-walentnej przewidywana redukcja liczby IChP u polskich dzieci poniżej 5 r.ż. wynosiłaby 72,5%, a redukcja zakażeń wywoływanych przez izolaty niewrażliwe na penicylinę 96%. Dystrybucję serotypów wśród izolatów wyhodowanych od dzieci poniżej 5 r.ż. przedstawiono na ryc. 4.



Ryc. 4. Dystrybucja serotypów wśród polskich izolatów *Streptococcus pneumoniae* odpowiedzialnych za zakażenia inwazyjne u dzieci do 5 r.ż., 2006-2008. Wielokopie serotypów w ramce są obecne w 7-walentnej szczepionce przeciw pneumokokowej.

Kliniczne i laboratoryjne różnicowanie najczęstszych posocznic

Dr n med. Piotr Albrecht

Klinika Gastroenterologii i Żywienia Dzieci WUM

Posocznica jest zespołem układowej odpowiedzi zapalnej na zakażenie, najczęściej bakteryjne. Dochodzi do niej, gdy układ odpornościowy gospodarza nieadekwatnie do sytuacji rozpoznaje lub usiłuje opanować zakażenie. Posocznice charakteryzuje szerokie spektrum nasilenia od zakażenia układowego (np. bakteriemia) lub zakażenia ogniskowego (np. zapalenie opon, płuc, odmiedniczkowe zapalenie nerek), poprzez ciężką posocznicę (gdy do posocznicy dołączają się objawy dysfunkcji narządowych), wstrząs septyczny (objawy ciężkiej posocznicy z trwającym ponad godzinę spadkiem ciśnienia lub hipoperfuzją naczyniową pomimo prawidłowego nawodnienia i zastosowania leków kardio- i naczynio-tonicznych), zespół dysfunkcji wielonarządowej, aż po śmierć.

Posocznica może być następstwem lokalnej infekcji (np. ropień), miniurazu – często w posocznicy wywołanej *S. pyogenes* z gr. A, zapalenie sitowia itp. lub kolonizacji i następowej inwazji błon śluzowych i łożyska krwi przez bakterie. Szczególnie zagrożone bakteriami, mogąą przejść w posocznicę, są dzieci między 3 miesiącem a 3 rokiem życia. Poza wiekiem dodatkowymi czynnikami ryzyka rozwoju posocznicy są u dzieci ciężkie urazy, przewlekłe problemy zdrowotne, nabyte (immunosupresja, glikokortykoidy) i wrodzone niedobory odporności.

Najważniejszymi bakteriami odpowiedzialnymi za posocznicę są pneumokoki, meningokoki, *Haemophilus influenzae* typu b, (Hib) i *Streptococcus pyogenes* betahemolizujący z grupy A. Najczęstszym, zabójcą w skali świata jest pneumokok. Częstość występowania posocznicy wywołanych tymi patogenami jest zróżnicowana i zależy w głównej mierze od stosowanej w danym kraju polityki szczepionkowej (to znaczy stosowania lub nie masowych szczepień przeciw meningokokom z grupy C, pneumokokom, *Haemophilus influenzae* typu b) oraz jakości i częstości wykonywania badań bakteriologicznych.

Na podstawie samych objawów klinicznych trudno jest ustalić etiologię zakażenia, choć np. posocznica meningokokowa ma z reguły gwałtowny przebieg i najczęściej spośród innych towarzyszą jej wybroczyny i zatory bakteryjne na skórze (czyli wykwit nie ustępujące pod wpływem ucisku, test szklanki). Posocznica pneumokokowa ma częściej skradający się przebieg i zdecydowanie rzadziej towarzyszą jej zmiany skórne. Paciorkowiec betahemolizujący z grupy A stosunkowo często wywołuje wysypki płoniczopodobne i niekiedy martwicze zapalenie powięzi oraz zespół wstrząsu toksycznego.

Podstawowymi objawami posocznicy, niezależnie od etiologii, są zaburzenia termoregulacji (hiper- lub hipotermia), przyspieszone tętno i oddech. Po przejściowym podwyższeniu rzutu serca dochodzi do stopniowej jego niewydolności i postępującego spadku ciśnienia krwi. Poza tym można stwierdzić upośledzenie napływu kapilarnego, zimne kończyny, spadek wydalania moczu, aż do anurii włącznie oraz objawy ze strony przewodu pokarmowego (wymioty, biegunka, bóle brzucha). Niedokrwienie narządów prowadzi do wzrostu stężenia kwasu mlekowego. Zmiany skórne mogą być zróżnicowane. Obserwuje się wybroczyny i zatory bakteryjne, rozlane zaczerwienienie, wylewy podskórne oraz zmiany martwicze. Towarzyszyć temu mogą objawy ogniskowego zakażenia w postaci zapalenia opon, płuc, stawów, odmiedniczkowego zapalenia nerek lub zapalenie tkanek miękkich.

Etiologię infekcyjną należy z całą starannością usiłować potwierdzić posiewami krwi, moczu, płynu mózgowo-rdzeniowego, ropni, płynu otrzewnowego, stawowego itp.

Najczęstsze, choć nie patognomoniczne, odchylenia w badaniach laboratoryjnych to: niedokrwistość, trombocytopenia, zaburzenia krzepnięcia, spadek stężenia fibryno-

geny, pojawienie się produktów degradacji fibryny, podwyższone CRP i przyspieszone OB (w zakażeniu pneumokokowym często trzycyfrowe). Granulocytoza z przesunięciem obrazu białokrwinkowego w kierunku młodych form (pałeczek, mielocytów i promielocytów), wakuolizacja granulocytów, obecność ziarnistości toksycznych to typowe i stosunkowo dobrze rokujące objawy posocznicy. Leukopenia jest zwiastunem niepomyślnego rozwoju zakażenia. Innymi wskaźnikami ciężkiego zakażenia są hiper- lub hipoglikemia, hipokaliemia, hipoalbuminemia, kwasica metaboliczna (często mleczanowa). Zaburzenia stężenia mocznika i kreatyniny oraz tzw. wskaźników wątrobowych wskazywać mogą na postępującą niewydolność narządową podobnie jak spadek ciśnienia parcjalnego tlenu (saturacji) lub/i wzrost stężenia parcjalnego dwutlenku węgla.

Kluczowe dla rozpoznania etiologicznego są: preparaty bezpośrednie barwione metodą Grama, testy lateksowe oraz posiewy. W wątpliwych przypadkach, przy braku wzrostu bakterii, możliwa i pożądana jest diagnostyka oparta na technikach biologii molekularnej (np. PCR) pod warunkiem, że materiał został pobrany i nie ulegnie zniszczeniu. Wszystkie wyhodowane z posocznicy szczepy bakteryjne, jak i materiał, z którego hodowla nie powiodła się, powinny trafiać do Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Diagnostyki Bakteryjnych Zakażeń OUN. Aby tak się mogło stać konieczne jest zaangażowanie wszystkich biorących udział w diagnostyce i terapii inwazyjnych zakażeń bakteryjnych, a laboratoria mikrobiologiczne powinny coraz liczniej wstępować w szeregi sieci monitorowania inwazyjnych zakażeń bakteryjnych (BINet).

DIAGNOSTYKA

Informacja na temat wydawania wyników badań przez KOROUN

UWAGA: Bardzo prosimy, by w formularzu KOROUN, dostępnym na naszej stronie internetowej (www.koroun.edu.pl), podawać dokładny nr telefonu, faxu oraz adres, pod który należy przekazać wynik.

Izolaty bakteryjne. W przypadku izolatów bakteryjnych KOROUN potwierdza ich ożyczenie telefonicznie na drugi dzień roboczy po otrzymaniu izolatu. Natomiast wynik potwierdzający identyfikację przesyłamy w formie raportu pocztą pod wskazany w formularzu KOROUN adres po zakończeniu badania.

Materiał kliniczny do badań PCR. Diagnostyka metodą PCR w KOROUN obejmuje poszukiwanie materiału genetycznego specyficznego dla bakterii z gatunków:

- *Neisseria meningitidis* (gatunek, serogrupy B, C, Y, W-135; grupa A na uzasadnione zlecenie),
- *Streptococcus pneumoniae* (gatunek),

- *Haemophilus influenzae* (gatunek, otoczek, serotypy a-f),
- *Streptococcus agalactiae* (gatunek),
- *Listeria monocytogenes* (gatunek),
- *Escherichia coli* (gatunek).

Jeśli materiał dotrze do KOROUN do godz. 10.00 wyniki badań są na ogół dostępne w dniu otrzymania materiału (po godzinie 15.00); jeśli później, to na drugi dzień roboczy. Zdarzają się jednak nieprzewidziane trudności techniczne czy diagnostyczne, które wymagają powtórzenia badań, co może opóźnić wydanie wyniku. Otrzymane wyniki badań PCR są przekazywane telefonicznie natychmiast po ich uzyskaniu. Poza tym wszystkie wyniki badań PCR są wysyłane w formie raportu faksem (w przypadku jego podania) i pocztą pod wskazany w formularzu KOROUN adres.

Poszukiwanie bakteryjnego DNA w materiale klinicznym. Niekiedy w przypadku ujemnych reakcji PCR w kierunku wy-

mienionych powyżej czynników etiologicznych, poszukujemy w otrzymanym materiale bakteryjnego DNA z wykorzystaniem niespecyficznej reakcji PCR. Wynik stwierdzający obecność bakteryjnego DNA w materiale otrzymujemy w tym samym czasie jak dla badań opisanych powyżej i jest on również przekazywany w tym samym czasie. Jeśli w reakcji PCR obserwujemy dużą ilość produktu (dużo DNA bakteryjnego) podejmujemy próbę ustalenia gatunku bakterii odpowiedzialnej za zakażenie. Zależy to jednak, od jakości próbki i nie zawsze jest możliwe. Podjęcie takich badań wymaga sekwencjonowania DNA i jest dużo bardziej czasochłonne. Otrzymane wyniki są przekazywane telefonicznie natychmiast po ich uzyskaniu. Poza tym wyniki te są wysyłane w formie raportu faksem (w przypadku jego podania) i pocztą pod wskazany w formularzu KOROUN adres.

Typowanie serologiczne *S. pneumoniae*. KOROUN wykonuje typowanie serologiczne izolatów pneumokokowych, jednak nie w ramach rutynowych działań diagnostycznych. Pragniemy przypomnieć, że obecnie znanych jest 91 serotypów pneumokokowych, a wielość ta powoduje, że ich identyfikacja wymaga dużo większych nakładów pracy i czasu. W naszym laboratorium możliwe jest identyfikowanie 31 serotypów. Jeśli identyfikowany szczep nie należy do spektrum serotypów identyfikowanych w KOROUN, musi być wysłany do typowania do europejskiego ośrodka referencyjnego typującego pneumokoki. Wysłanka taka ma miejsce po zgromadzeniu około 30 izolatów nietypowanych w KOROUN, dlatego trudno określić precyzyjnie, po jakim czasie można otrzymać wynik serotypowania pneumokoków.

KONKURS

Serdecznie zapraszamy Państwa do udziału w konkursie: pt.:

„Współpraca lekarza i mikrobiologa w prawidłowej diagnostyce i terapii zakażeń inwazyjnych”.

Konkurs ma na celu zacieśnienie współpracy lekarzy i mikrobiologów w zakresie diagnostyki i terapii zakażeń inwazyjnych.

Zasady udziału. Prosimy o przygotowanie opisu przypadku inwazyjnej choroby bakteryjnej z uwzględnieniem: objawów klinicznych, przebiegu, zastosowanego leczenia oraz przeprowadzonej diagnostyki. Praca powinna zawierać nie więcej niż 2 strony maszynopisu. Prosimy o przesyłanie ich na nasz ad-

res pocztowy: KOROUN, Pion Mikrobiologii Klinicznej i Profilaktyki Zakażeń, Narodowy Instytut Leków, 00-725 Warszawa; ul. Chełmska 30/34 lub mailowy koroun@cls.edu.pl z dopiskiem: konkurs BINet.

Na Państwa prace czekamy do końca czerwca 2009 r.

Trzech zwycięzców nagrodzimy pozycjami książkowymi a najciekawszy przypadek opublikujemy na łamach aktualności BINet. **Serdecznie zapraszamy.**