

Invazív *Streptococcus pneumoniae*-infekciókból izolált törzsek szerotípusának és antibiotikum-érzékenységének meghatározása

Pásztor Mónika

SEROTYPE AND ANTIBIOTIC SENSITIVITY DETERMINATION OF SELECTED ISOLATES OF INVASIVE *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE* STRAINS

BEVEZETÉS – A *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) a területen kialakult invazív fertőzések igen fontos patogénje. Vizsgálatom célja az volt, hogy adatokat kapjunk a magyarországi invazív *S. pneumoniae* törzsek szerotípus-megoszlásáról, rezisztenciájáról. Ennek fényében következtetések vonhatók le arról, hogy a jelenleg forgalomban lévő polisaccharid-vakcina potenciálisan milyen arányban védené ki az invazív *S. pneumoniae*-fertőzéseket.

ANYAG ÉS MÓDSZER – Egy négyéves periódusban (2000–2003), steril helyről izolált *S. pneumoniae* törzsek szerotípus-megoszlását és antibiotikum-érzékenységét vizsgáltam. Random módon kiválasztott 44 invazív izolátum szerotípusát határoztam meg, Quellung-módszerrel. Az *S. pneumoniae* penicillinnel és erythromycinnel szembeni érzékenységét a Szent László Kórház Mikrobiológiai Laboratóriumában korongdiffúziós, illetve E-teszt-módszerrel végeztük el.

EREDMÉNYEK – Az invazív törzsek 22 különböző szerotípusba tartoztak. A vizsgált baktériumok penicillinérzékenysége 79,5%, erythromycinérzékenysége 68% volt.

KÖVETKEZTETÉS – A vizsgálat szerint a 23 szerotípust tartalmazó polisaccharid-vakcina az invazív *S. pneumoniae*-fertőzések 82%-át védené ki potenciálisan.

INTRODUCTION – *Streptococcus pneumoniae* (*S. pneumoniae*) is a very important pathogene of community acquired invasive infections. The aim the study was to collect data on the serotype distribution of invasive *S. pneumoniae* strains in Hungary and their resistance. In the light of the results it can be determined how effective the currently available polysaccharide vaccine is against the infections caused by invasive *S. pneumoniae* strains.

MATERIALS AND METHODS – The seroprevalence and antibiotic sensitivity of 44 randomly selected isolates of *Streptococcus pneumoniae* isolated from sterile sites of human body were analysed over a 4 year period (2000–2003). Samples were randomly analysed by the Quellung method. Detection of sensitivity of *S. pneumoniae* to penicillin and erythromycin were carried out by disc diffusions and E-test method in the microbiological laboratory of the St. Laszlo Hospital.

RESULTS – The invasive isolates belong to 22 different serotypes. The prevalence of penicillin and erythromycin sensitivity was 79,5%, and 68% respectively.

CONCLUSION – The 23 valent polysaccharide vaccine could provide coverage of 82% of invasive pneumococcal diseases caused by strains analysed in this study.

Streptococcus pneumoniae, invazív infekció, szerotípus, antibiotikum-érzékenység, penicillin, erythromycin

Streptococcus pneumoniae, invasive infection, serotype, antibiotic sensitivity, penicillin, erythromycin

dr. Pásztor Mónika (levelezési cím/correspondence): Szent László Kórház, Mikrobiológiai Laboratórium/Szent László Hospital, Department of Microbiology, Budapest; H-1097 Budapest, Gyáli út 5–7. E-mail: mopasztor@freemail.hu.

Érkezett: 2005. május 2. Elfogadva: 2005. augusztus 2.

A *Streptococcus (S.) pneumoniae* nemcsak a légúti infekciók egyik leggyakoribb, legfontosabb kórokozója, hanem a területen kialakult invazív fertőzések igen fontos patogénje. Mészner és Szabó – tíz év anyagát áttekintő, post mortem adatokon alapuló vizsgálatukban – azt találták, hogy a védőoltásokkal megelőzhető megbetegedések közül meghaltak közel fele (139 elhunytból 59-en) *S. pneumoniae* okozta meningitisben szenvedett (1). Ezek az adatok is felhívják a figyelmet arra, hogy milyen fontos a veszélyeztetett populáció vakcinációja. Azonban a védőoltás csak akkor ajánlható, ha a vakcina beadásával a lehetséges megbetegedés az in vitro adatok alapján nagy valószínűséggel megelőzhető. A jelenleg forgalomban lévő polyszacharid-vakcina 23 különböző szerotípusú *S. pneumoniae* okozta invazív fertőzést képes kivédeni, míg a konjugált vakcina hét különböző szerotípusú *S. pneumoniae* ellen hatásos. Ahhoz, hogy Magyarországon biztonságosan ajánlható legyen a védőoltás, ismerni kell az *S. pneumoniae*-szerotípusok gyakoriságát a magyar lakosság körében előforduló invazív kórképekben. A két vakcina indikációs területe eltérő. A polyszacharid-vakcina csak a két éven felüliek invazív *Streptococcus pneumoniae*-fertőzéseit előzi meg, a 7 valens konjugált vakcina a csecsemők és kisdedek infekcióinak megelőzésében játszik szerepet, ezért az *S. pneumoniae*-szeroprevalencia korcsopontkénti differenciálásának is jelentősége van. Korábban Marton közölt hazai szerológiai adatokat az *S. pneumoniae*-vel kapcsolatban, azonban ebben a vizsgálatban nem különítették el az invazív és nem invazív kórképekben előforduló szerotípusok gyakoriságát (2). Ez a munka elsősorban a rezisztens *S. pneumoniae* törzseket vizsgálta, vélhetőleg ennek köszönhető az *S. pneumoniae* 19A szerotípusának dominanciája.

Vizsgálatom célja az volt, hogy adatokat szerezzünk a magyarországi invazív *S. pneumoniae* törzsek szerotípus-megoszlásáról, rezisztenciájáról.

Anyag és módszer

A Szent László Kórházban 2000. január 1–2003. december 31. között izolált *S. pneumoniae* törzsei közül random módon kiválasztottam 100 törzset. A betegek Nógrád, Komárom-Esztergom, Pest megye különböző falvaiból, városaiból és Budapest kerületeiből kerültek kórházunkba. A viszonylag hosszú vizsgálati idő és az eltérő földrajzi környezet biztosította, hogy ne egy régióban elterjedt klón vizsgálgjak, egy klón adatait „erősítsem” fel. A 100 törzsből 93 esetén sikerült mind a szerotípust, mind a rezisztenciát, mind pedig a beteg adatait meghatározni, illetve megnyugtató módon beszerezni. Ezt a 93 törzset vontam be a vizsgálatba. A betegek életkora tág határok között mozgott: négy hónaptól 82 éves korig. Az átlagéletkor 31,5 év volt. A betegek többsége (71%) férfi. Az izolátum származási helyét az 1. táblázat mutatja. Az *S. pneumoniae* törzsek közel fele (47%) invazív mintából származott. Jelen vizsgálatban részletesebben ezt a 44 törzset elemeztem.

1. TÁBLÁZAT

A szerotipizált <i>Streptococcus pneumoniae</i> törzsek izolálásának helye	
Izolátum származási helye	Izolátumszám
Liquor	31
Vér	11
Ascites	2
Fül	34
Orr- vagy torokváladék	6
Köpet	4
Tracheaváladék	3
Sinuspunkátum	1
Szemváladék	1

Szerotípus-meghatározás

A szerotípus meghatározására a Quellung-féle tokduzzadási reakciót használtam. A módszer lényege, hogy nyúlban termelt ellenanyagot *S. pneumoniae* tenyésztéssel hozzuk össze. A nyúlsavóban lévő, szerotípusra specifikus ellenanyag refraktilitásváltozást okoz a baktériumban, ezt fáziskontraszt-mikroszkóp alatt 1000-szeres nagyítás mellett vizsgáljuk. A vizsgálatban a Statens Serum Institut (Koppenhága) standard szerotipizáló savóit használtam, a módszer elsajátítása és a vizsgálatok egy része is Koppenhágában történt.

Rezisztenciameghatározás

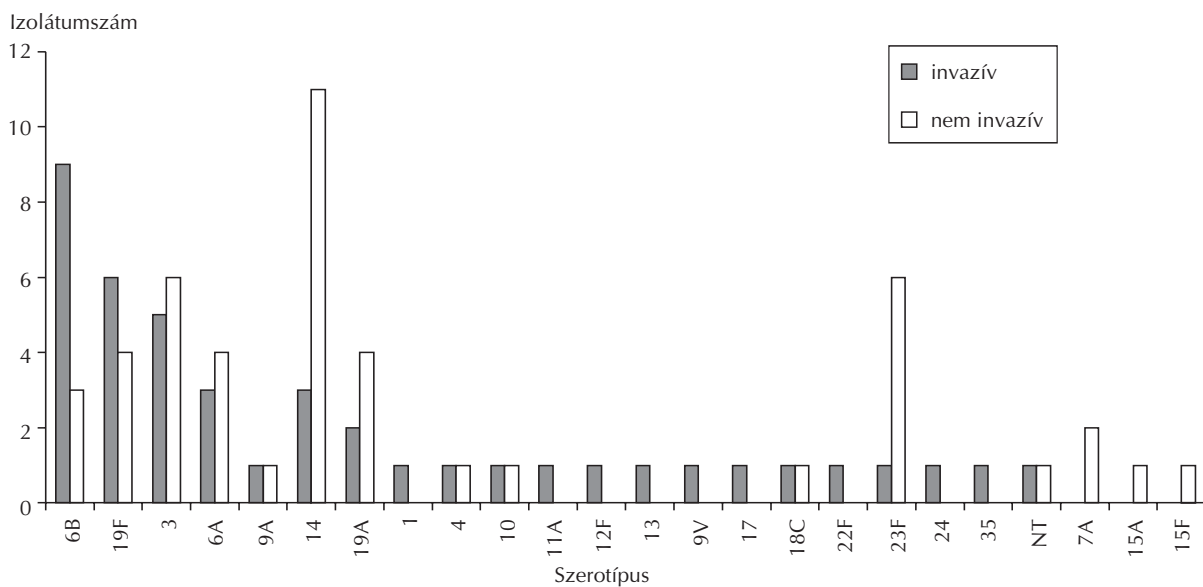
A rezisztenciát véres agaron korongdiffúziós módszerrel határoztuk meg a Szent László Kórház Mikrobiológiai Laboratóriumában. A béta-laktám-érzékenységet 1 µg oxacillintartalmú koronggal teszteltük; ha a gátlási zóna 20 mm-nél kisebb volt, MIC-vizsgálatot (MIC: minimális gátlókoncentráció) végeztünk penicillin- és ceftriaxonérzékenység meghatározására, E-teszt segítségével. Az érzékenységi, illetve rezisztenciaadatokat az NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory Standards) alapján állapítottuk meg (penicillinérzékeny: ≥0,06 mg/l, -rezisztens ≤2 mg/l; ceftriaxonérzékeny: ≥0,5 mg/l, -rezisztens ≤2 mg/l). Ha a korongdiffúziós módszernél az oxacillin gátlási zónája 20 mm vagy annál nagyobb volt, a törzseket penicillin-, illetve ceftriaxonérzékenyek tekintettük.

Eredmények

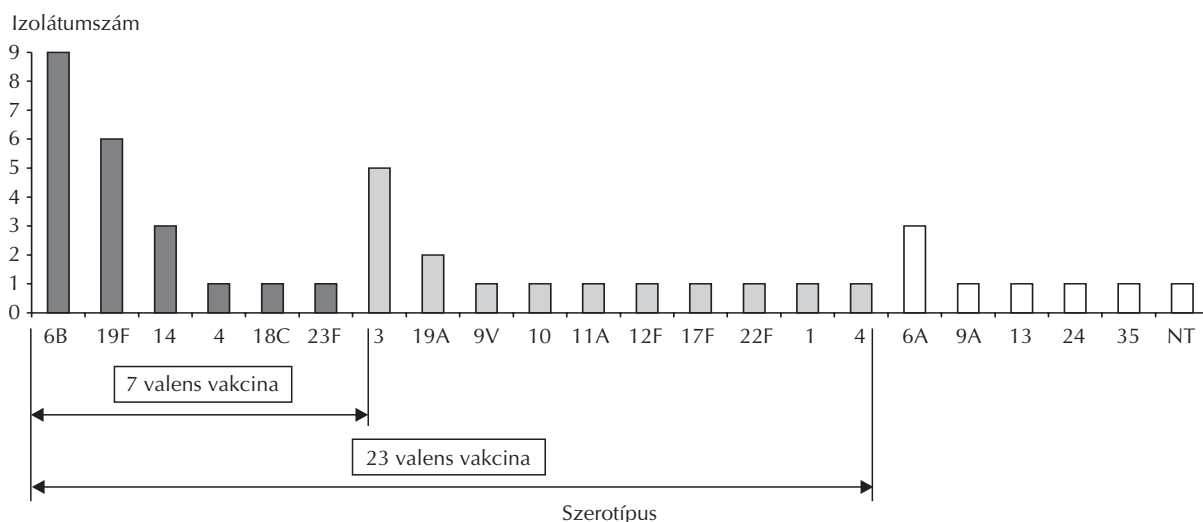
Az invazív törzsek szerotípus-megoszlását az 1. ábra mutatja. Ezen feltüntettem az előfordult összes – invazív és nem invazív – szerotípust. Látható a szerotípus-eloszlásban tapasztalható különbség. Az invazív infekciókból származó *S. pneumoniae* törzsek közül egy nem volt tipizálható (tokját vesztett törzs); a többi 43 törzs 22 szerotípusba tartozott. Leggyakoribbnak

1. ÁBRA

Az invazív és nem invazív izolátumok szerotípus-megoszlásában észlelhető eltérések



2. ÁBRA

Az invazív *S. pneumoniae*-izolátumok szerotípusainak megoszlása a vakcinatípusok szerint

a 6B, másodikként pedig a 19F szerotípust találtam. Megvizsgáltam, hogy az invazív fertőzésekkel származó *S. pneumoniae* törzsek hány százaléka tartozott az úgynevezett vakcinatörzsek közé. (A hét, illetve a 23 valens vakcina által tartalmazott szerotípusokat neveztem vakcinatörzseknek, tehát ezek ellen a forgalomban lévő védőoltások potenciálisan védelmet nyújtanak.) Az eredmények grafikusán a 2. ábrán láthatók. A hét valens vakcina törzsei közül hat szerotípust találtam; ez az összes invazív törzs 47,7%-át tette ki. Megvizsgáltam, hogy a két év alatti gyermekeknél észlelt invazív *S. pneumoniae*-infekciókban milyen gyakran szerepeltek a hét valens vakcina törzsei, ez az a betegcsoport, ahol csak a 7 valens konjugált vakcina immunogén. Az esetszám olyan kevés, hogy következtetések

levonására nem alkalmas, de meg kell említeni, hogy az öt betegből csak egy esetben volt a hét valens vakcina által immunológiailag védhető szerotípusú a törzs (19F). A 23 valens vakcina által „lefedhető” törzsek közül 16 szerotípus fordult elő, ez az összes invazív *Streptococcus pneumoniae* törzs 82%-át tette ki.

Az invazív *Streptococcus pneumoniae*-infekciókból izolált törzsek 79,5%-a bizonyult penicillinérzékennynek. A penicillinre nem érzékeny 20,5%-nyi törzs közül kettő MIC-értéke meghaladta az 1 mg/l-t, míg hét törzs intermedier érzékenységűnek bizonyult. Egy alkalommal észleltünk ceftriaxonra mérsékelten érzékeny *S. pneumoniae* törzset; vancomycinrezisztens törzset nem találtunk. Harmincnégy törzs esetén a chloramphenicol érzékenységét is vizsgáltuk, 27 érzékeny törzs mellett

hét intermedier érzékenységnél bizonyult. Invazív fertőzésekben nem alkalmaznak makrolidot, de ennek az antibiotikumnak a hatékonysága is érdekes lehet. Az invazív törzsek 68%-a volt erythromycin-érzékeny, a 32%-nyi nem érzékeny törzsből csak kettő bizonyult intermedier érzékenységnél.

Megbeszélés

A *Streptococcus pneumoniae* baktériumot a XIX. század végén egymástól függetlenül Pasteur és Sternberg izolálták elsőként Franciaországban, illetve az USA-ban. Ezt követően korán világhíressé vált, hogy ez a baktérium súlyos, akár halálos kórképeket is tud okozni. A különböző szerotípusok elkülönítése már 1902-ben elkezdődött. A tokduzzadási próba kidolgozása Neufeld nevéhez fűződik. Az 1930-as évek elején már 32 szerotípust ismertek. Ma már 90 feletti az ismert szerotípusok száma. Ezek egy részét csak számmal, míg egyes típusokat számmal és betűvel is ellátták. Világhíressé vált, hogy a szerotípust a poliszacharid tok határozza meg, és ez felelős a típus-specifikus immunitásért (3). Az antibiotikumok megjelenésével úgy tűnt,

hogy a „*Streptococcus pneumoniae*-probléma” megoldódott. Austrian és Gold 1964-ben közölt vizsgálatukban rámutattak arra, hogy az invazív *Streptococcus pneumoniae*-fertőzések kérdése nem megoldott, felhívták a figyelmet a megelőzés és a szerotipizálás jelentőségére (4). A szerotípus-gyakoriságok ismerete a megfelelő profilaktikus stratégia kidolgozását segíti elő.

Az invazív *S. pneumoniae*-fertőzések jelentősége napjainkban sem csökkent. Egy USA-ban végzett surveillance vizsgálat szerint 100 000 emberre évente 22, invazív *S. pneumoniae* okozta kórkép jut (5). Egy svédországi felmérés szerint 1981–1996 között az invazív *S. pneumoniae*-fertőzések száma 5,2-ről 15-re emelkedett, 100 000 főre számítva évente (6). A hazai adatokról csak becslések ismertek, Szalka és munkatársai a *Streptococcus pneumoniae* okozta tüdőgyulladás kapcsán kialakult bacteriemiák számát évi 2500–3700-ra becsülik (7). Ha figyelembe vesszük az egyéb invazív kórképeket is, a magasabb szám tűnik reálisabbnak. Az invazív *Streptococcus pneumoniae* okozta kórképek ennél gyakrabban fordulnak elő a két éven aluliaknál és a 65 év felettiéknél [a két éven aluliaknál 136, az időseknél pedig 83 (100 000 főre számítva, évente) (5, 8)]. Az invazív *Streptococcus pneumoniae*-fertőzések halálozása magas: 9–30% között mozog.

A szerotípusok előfordulásában geográfiai eltérések figyelhetők meg. Meningitisből izolált *Streptococcus pneumoniae* törzsek elemzése kapcsán olasz szerzők a 14-es szerotípus predominanciáját találták. Ezt követte a 23F, 4, 3 és a 6B szerotípus (9). Svéd vizsgálók is a 14-es típust találták a *Streptococcus pneumoniae* törzsek között a leggyakoribb invazív fertőzést létrehozó szerotípusnak, ezt követte a 7-es és a 4-es szerotípus (6).

Gyermekek körében végzett vizsgálatnál a 14-es szerotípus mellett a 18C és az 1-es szerotípus gyakori előfordulásáról számoltak be (10), míg mások a 6B, 1 és 7E szerotípus gyakori előfordulását találták (11). Vizsgálatunkban a 6B és a 19F volt az invazív mintából izolált leggyakoribb *S. pneumoniae* szerotípus. A más vizsgálatokban igen gyakori 14-es típus a negyedik helyen található a gyakorisági sorban, míg a harmadik helyen a hét valens vakcinában nem szereplő 3-as szerotípust találtuk. Bár az invazív mintából izolált kórokozók két leggyakoribb csoportja a hét valens vakcinatörzs tagja, az öt, két éven aluli gyermekeknél csak egy esetben tudunk olyan szerotípust kimutatni, amelyet az ennek a betegcsoportnak is adható hét valens konjugált vakcina tartalmaz. A kis esetszám miatt ez az adat csak tájékoztató jellegű. A 23 valens vakcinatörzs közé tartozott az izolált *S. pneumoniae* törzsek 82%-a. Ez az irodalmi adatok (85–93%) alsó határán mozog (12, 13).

A terápia szempontjából lényeges kérdés az *S. pneumoniae* penicillin-érzékenysége, illetve -rezisztenciája. Az utóbbi években világhíressé vált, hogy differenciáltan kell vizsgálni a légúti és az invazív mintákból származó törzsek érzékenységét. Az invazív izolátumok esetén jelenleg is az alacsonyabb határértékek az elfogadottabbak, azaz figyelembe vesszük, hogy ezekben az infekciókban nagyobb antibiotikum-dózis szükséges. A penicillinre nem érzékeny *S. pneumoniae* törzsek térbeli és időbeli előfordulása is változó. Egy brit vizsgálatban 1990-ben invazív infekcióknál 1,5%-ban, 1995-ben már 3,9%-ban találtak penicillinre nem érzékeny izolátumokat (14). Svédországban az invazív izolátumok között 1,5%-nak (11), míg Szlovéniában 16,6%-nak találtak (15) a penicillinre nem érzékeny *S. pneumoniae* törzsek előfordulását. Ennél kedvezőtlenebb adatok is ismertek; Tajvanban az invazív *S. pneumoniae* törzsek több mint 40%-át találták rezisztensnek penicillinre (16). A korábbi hazai *S. pneumoniae*-rezisztenciaadatok riasztóak voltak (17).

Vizsgálatunkban a penicillinre nem érzékeny törzsek száma magas volt, az izolátumok $\frac{1}{3}$ -dét tették ki. Biztató azonban, hogy ceftriaxonra csak egy mérsékelten érzékeny törzset találtunk, rezisztenset nem.

Összegzés

A *Streptococcus pneumoniae* okozta invazív infekciók – meningitis, szepszis, peritonitis stb. – jelenleg is komoly terápiás problémát jelentenek. Vizsgálatunkban azt találtuk, hogy az invazív infekciókból származó *Streptococcus pneumoniae* törzsek között a penicillinre nem érzékeny izolátumok száma viszonylag magas, 20,5%, azonban ceftriaxonra csak egy nem érzékeny törzset találtunk. A szerotípus-megoszlás vizsgálata azt az eredményt hozta, hogy a törzsek 82%-a a 23 szerotípust tartalmazó poliszacharid-vakcina tagja, azaz mikrobiológiai szempontból a poliszacharid-vakcina 82%-os védelmet jelenthet invazív *S. pneumoniae* okozta fertőzésekkel szemben a két évesnél idősebb gyermekek és felnőttek körében.

A szerotípus-
gyakoriságok
ismerete
a megfelelő
profilaktikus
stratégia
kidolgozását
segíti elő.

IRODALOM

1. Mészner Zs, Szabó Zs. Védőoltással megelőzhető fertőzésekben meghalt betegek a Fővárosi Szent László Kórházban (1993–2003). *Infekt és Klinikai Mikrobiol* 2004;11(1):26-9.
2. Marton A. Epidemiology of resistant pneumococci in Hungary. *Microb Drug Res* 1995;1:127-30.
3. Musher DM. *Streptococcus pneumoniae*. In: Principles and practice of infectious diseases. Mandell GL, Bennett JE, Dolin R (eds.). Philadelphia: Churchill Livingstone; 2000.
4. Austrian R, Gold J. Pneumococcal bacteraemia with especial reference to bacteremic pneumococcal pneumonia. *Ann Intern Med* 1964;60:759-76.
5. Pastor P, Medley F, Murphy TV. Invasive pneumococcal disease in Dallas County, Texas: Results from population-based surveillance in 1995. *Clin Infect Dis* 1997;26:590-5.
6. Ekdahl K, Martensson A, Kamme C. Bacteremic pneumococcal infections in Southern Sweden 1981–1996: Trends in incidence, mortality age-distribution, serogroups and penicillin-resistance. *Scand J Infect Dis* 1998;30:257-62.
7. Szalka A, Ferenc A, Prinz Gy, Bán É. Bacteraemiával járó *Streptococcus pneumoniae*-fertőzések felnőttkorban. *Orv Hetilap* 1987;128:559-62.
8. Plouffe JF, Breiman RF, Facklam RR, et al. Bacteremia with *Streptococcus pneumoniae*. *JAMA* 1996;275:194-8.
9. Pantosti A, D'Ambrosio F, Tarasi A, et al. Antibiotic susceptibility and serotype distribution of *Streptococcus pneumoniae* causing meningitis in Italy, 1997–1999. *Clin Infect Dis* 2000;31:1373-9.
10. von Kries R, Siedler A, Schmitt HJ, Reinert RR. Proportion of invasive pneumococcal infections in German children preventable by pneumococcal conjugate vaccines. *Clin Infect Dis* 2000;31:482-7.
11. Hedlund J, Sörberg M, Normark BN, Kronvall G. Capsular types and antibiotic susceptibility of invasive *Streptococcus pneumoniae* among children in Sweden. *Scand J Infect Dis* 2003;35:452-8.
12. Fenol A, Martin Bourgon C, Munoz R, et al. Serotype distribution and antimicrobial resistance of *Streptococcus pneumoniae* isolates causing systemic infections in Spain 1979–1989. *Rev Infect Dis* 1991;13:56-60.
13. Recommendations and report: Preventing pneumococcal disease among infants and young children. *MMWR* 2000;49:RR-9.
14. Johnson AP, Speller DCE, George C, et al. Prevalence of antibiotic resistance and serotypes in pneumococci in England and Wales; results of observational survey in 1990 and 1995. *BMJ* 1996;312:1454-6.
15. Cizman M, Paragi M, Jovan-Kuhar N, et al. Antimicrobial resistance of invasive *Streptococcus pneumoniae* in Slovenia, 1993–1995. *Scand J Infect Dis* 1997;29:251-4.
16. Lee C-Y, Chui C-H, Huang Y-C, et al. Invasive pneumococcal infections: a clinical and microbiological analysis of 53 patients in Taiwan. *Clin Mikrobiol Infect* 2003;9:614-8.
17. Marton A, Munoz E, Tomasz A, et al. Extremely high incidence of antibiotic resistance in clinical isolates of *Streptococcus pneumoniae* in Hungary. *J Infect Dis* 1991;163:542-8.