

Případy PVL pneumonie registrované v NRL pro stafylokoky CEM SZÚ 2015–2021**Cases of PVL pneumonia recorded at the National Reference Laboratory for Staphylococci, Centre for Epidemiology and Microbiology, National Institute of Public Health in 2015–2021****Petr Petráš, Radoslava Hutníková, Jana Kekláková, Tereza Měřínská****Souhrn • Summary**

Kmeny *Staphylococcus aureus* s produkcí Pantonova-Valentinova leukocidinu (PVL) mohou vyvolat, vedle kožních onemocnění, také život ohrožující abscedující pneumonie. Ve formě sekundární bakteriální infekce následuje pneumonie obvykle po respirační viróze. V článku referujeme o dvanácti případech pneumonií, u nichž byl jako etiologické agens prokázán PVL-pozitivní kmen *S. aureus*. Z těch 6 pacientů po velice rychlém průběhu nemoci zemřelo. U 6 nemocných, kteří přežili, byl v antibiotické terapii použit mj. linezolid nebo klindamycin.

Panton-Valentine leukocidin (PVL)-producing strains of *S. aureus* can cause, apart from skin diseases, life-threatening abscessing pneumonia. It often occurs as a secondary bacterial infection that follows a respiratory viral infection. Twelve case reports of pneumonia are presented where PVL positive strains of *S. aureus* were identified as the causative agent. Six of these patients had a fulminant course with fatal outcome. Six survivors received antibiotic therapy including linezolid or clindamycin.

Zprávy CEM (SZÚ, Praha) 2021; 30(11): 374–376

Klíčová slova: Pantónův-Valentinův leukocidin, *S. aureus*, abscedující pneumonie

Key words: Panton-Valentine leukocidin, *S. aureus*, abscessing pneumonia

Kmeny *Staphylococcus aureus* produkující Pantónův-Valentinův leukocidin (PVL) se uplatňují při infekcích kůže nebo měkkých tkání, jako jsou furunkly, kožní abscesy, nekrotické kožní infekce a nehojící se píštěle. Velmi vážné jsou především abscedující pneumonie, které probíhají velice dramaticky a je u nich popisována vysoká smrtnost. Onemocnění jsou často uváděna u zdravých jedinců po prodělané chřipce, nebo jiné virové respirační infekci. Toxinogenní *S. aureus* nasedá na poškozený epitel dolních cest dýchacích, rozvíjí se sekundární pneumonie, dochází ke vzniku abscesů a vzniku empyému. Postupně dochází k rozvoji sepse až k septickému šoku, což progreduje v multiorganové selhávání [1]. Recentně byla popsána letálně končící nekrotizující pneumonie u mladého muže s covidem-19 [10].

PVL byl objeven již 10 let po popisu druhu *S. aureus* v roce 1894, kdy byla zjištěna jeho schopnost lyzovat leukocyty [2]. Pojmenován byl podle anglických bakteriologů P.N. Pantona a F.C.O. Valentina, kteří v roce 1932 poprvé popsali souvislost tohoto toxinu s infekcemi měkkých tkání [3].

Z chemického hlediska je PVL dvousložkový toxin, skládá se ze složky rychlé (F-fast) a pomalé (S-slow), označených podle relativní rychlosti při jejich chromatografickém dělení. Separované složky samotné (používá se označení LukS-PV a LukF-PV) nemají žádnou biologickou aktivitu, avšak při společném účinku se synergicky doplňují.

Obě komponenty jsou polypeptidy s relativní molekulovou hmotností 32 kDa, resp. 34 kDa [4].

PVL je cytotoxin, který způsobuje destrukci leukocytů a nekrózu tkání. V anglosaské literatuře má synonymum „pore-forming toxin“: v membráně leukocytů vytváří póry. Silně tak narušuje jejich permeabilitu, iontovou výměnu a integritu buněčné membrány polymorfonukleárů, monocytů a makrofágů. Dochází k lýze těchto leukocytů a k neschopnosti pacienta účinně se bránit stafylokokové infekci leukocytózou [5]. PVL pozitivní kmeny patří k velice patogenním kmenům *S. aureus*, způsobujícím nejzávažnější klinické stavy. Podle literárních zdrojů se geny kódující PVL vyskytují asi u 2 % kmenů *S. aureus*, především těch, které se volně šíří v komunitě [4, 6]. Podle amerických publikací jsou to hlavně komunitní kmeny meticilin-rezistentní *S. aureus* (CA-MRSA). Ve Spojeném království převažují kmeny citlivé (MSSA) [6], stejné zkušenosti jsme získali i v naší laboratoři.

V NRL pro stafylokoky CEM SZÚ (NRL/St) sledujeme PVL toxigenitu od roku 2007. Do listopadu 2021 jsme zaregistrovali 24 případů, kdy tyto toxinogenní kmeny byly příčinou život ohrožujícího onemocnění. Prvních dvanáct případů jsme podrobně analyzovali v článku v roce 2016 [7]. V aktuálním sdělení informujeme o dalších dvanácti invazivních onemocněních, z nichž polovina skončila úmrtím.

MATERIÁL

Kmeny *Staphylococcus aureus* byly zaslány do NRL/ St z Oddělení klinické mikrobiologie 11 nemocnic z Prahy, Brna, Plzně a dalších míst v České republice (**tabulka 1**). Většinou byly izolovány z tracheálního aspirátu. Několikrát

Tabulka 1: Případy PVL abscedujících pneumonií v ČR zaznamenané v NRL pro stafylokoky, 2015–2021(XI.)

Č.	datum	PACIENT								AGENS – PVL pozitivní <i>S. aureus</i>	
		pohlaví	věk (let)	materiál	nemocnice	předchorobí	délka hospitalizace	ATB	konec?	MRSA / MSSA	další toxiny
1	IV. 15	Ž	47	punktát plicí	Praha, FTN	?	?	LNZ, GEN	přežití	MSSA	–
2	IV. 15	Ž	60	tracheální aspirát	Pizeň	?	24 hodin		úmrtí	MSSA	–
3	VII. 15	M	3	hemokultura	Praha, FTN	?	?	CLI, CTX, GEN	přežití	MSSA	En A
4	VI. 17	M	21	hemokultura	České Budějovice	?	?	LNZ, OXA	přežití	MSSA	–
5	II. 18	M	47	sputum	Tábor	3 dny zimnice, dušnost, febrilie	5 hodin		úmrtí	MSSA	–
6	II. 18	M	69	tracheální aspirát	Brno, sv. Anna	febrilie, dušnost, hyposaturace	7 hodin		úmrtí	MSSA	–
7	II. 18	Ž	40	výpotek	Praha, VFN	týden únava, dušnost	minimálně 14 dní	LNZ	přežití	MRSA	–
8	II. 18	M	17	plíce (sekce)	Hradec Králové	4 dny dráždivý kašel, dušnost (H1N1)	několik hodin		úmrtí	MSSA	–
9	II. 18	M	59	sputum, krev	Ostrava	4 dny dušnost, febrilie (H1N1)	několik hodin		úmrtí	MSSA	–
10	IV.20	M	72	BAL	Boskovice	14 dní vertigo, kašel, hypotenze	několik hodin		úmrtí	MSSA	En A
11	VI.20	Ž	32	tracheální aspirát	Brno, sv. Anna	8 dní zhoršené dýchání – dušnost	9 dní pak přeložena	LNZ	přežití	MSSA	–
12	VII.21	Ž	3 a půl	tracheální aspirát	Ústí n.Labem	asi týden febrilie, kašel, dušnost	5 týdnů	CLI, tazocin	přežití	MSSA	–

byly zaslány shodné kmeny i z hemokultur. Ve všech případech to byla cílená žádost o zjištění produkce PVL toxinu při podezření na abscedující pneumonii.

METODY

Identita kmenů *S. aureus* byla ověřena testem na zjištění produkce hyaluronidázy [8], PCR reakcí detekující přítomnost genu *nuc* (kóduje produkci termostabilní nukleázy) a také metodou hmotnostní spektrometrie MALDI-TOF (Microflex LT, Bruker Daltonics).

Přítomnost genů *lukS-PV* a *lukF-PV*, které jsou zodpovědné za produkci obou komponent PVL, byla detekována multiplex PCR reakcí [9].

Podobně byla zjišťována přítomnost genů pro exfoliatiny ETA, ETB, ETD, pro základní enterotoxiny typů A, B, C a D a toxin syndromu toxického šoku TSST-1. Dále byl sledován *mecA* gen, kódující rezistenci k oxacilinu (původně k meticilinu) a dalším β-laktamovým antibiotikům u meticilin-rezistentních kmenů *S. aureus* (MRSA).

VÝSLEDKY

Od dubna 2015 do září letošního roku 2021 bylo do NRL/St zasláno 12 kmenů *S. aureus* izolovaných z klinického

materiálu v souvislosti se závažným průběhem abscedující pneumonie, u kterých jsme prokázali pozitivitu na toxin PVL. Celkem to bylo 7 mužů a 5 žen (**tabulka 1**). Polovina pacientů zemřela. Stáří nemocných se pohybovalo od 3 do 72 roků, s mediánem 43,5 roku. V anamnéze měli pacienti v předchorobí obvykle udávanou několikadenní dušnost, kašel, febrilie a únavu. Hospitalizováni byli pro zhoršující se stav a velice rychle byli přeloženi na oddělení JIP, případně i na ARO. U šesti případů došlo po několika hodinách (max. do 24 hodin) k úmrtí. Pouze u jednoho z přeživších pacientů byl původcem kmen *S. aureus* rezistentní k oxacilinu (MRSA), zbývajících 11 kmenů bylo k oxacilinu citlivých (MSSA). Ani u jednoho kmene nebyla zjištěna pozitivita na produkci exfoliatinů A, B a D, ani toxinu syndromu toxického šoku TSST-1. Ze základních enterotoxinů A–D pouze dva kmeny produkovaly navíc enterotoxin A.

U 4 přeživších pacientů byl nasazen linezolid v kombinaci dalších antibiotik, u dvou zbývajících klindamycin, rovněž v kombinaci.

DISKUZE

Abscedující pneumonie způsobené PVL produkujícími kmeny *S. aureus* patří k velice závažným, život ohrožujícím onemocněním. V našem souboru 5 pacientů zemřelo

Tabulka 2: Charakteristické klinické a laboratorní projevy infekce, které lze využít pro časnou diagnózu PVL pneumonie (ne všechny bývají současně přítomny) [Beneš a kol. cit 12]

1.	Onemocní spíše mladí a dosud zdraví lidé (včetně kojenců), bez zjevné predispozice.
2.	Choroba velmi rychle progreduje, je nezbytná intenzivní péče.
3.	V klinickém obraze dominuje hypotenze/septický šok anebo těžká pneumonie s narůstající dušností a často hemoptýzou.
4.	Navzdory závažnosti celkového stavu a vysokým hodnotám CRP a PCT zůstává počet leukocytů v krvi normální, nebo je dokonce snížen.
5.	Na RTG plic je patrné víceložiskové nebo oboustranné postižení plicního parenchymu, často s pleurálním výpotkem nebo s rozpady plicní tkáně (kavitace).
6.	V aspirátu odebraném z dolních dýchacích cest je překvapivě málo polymorfonukleárů.
7.	V relevantním materiálu (hemokultury, tracheální či bronchiální aspirát, pleurální punktát) se jako pravděpodobné etiologické agens prokáže <i>S. aureus</i> (nejspíše pomocí PCR nebo mikroskopického nálezu grampozitivních kóků ve shlucích).
8.	Nález meticilin-rezistentních stafylokoků u pacientů, kteří přicházejí z komunity a nemají v anamnéze kontakt se zdravotnickým zařízením v poslední době (CA-MRSA).

do několika hodin po přijetí do nemocnice. V literatuře je prezentována řada kazuistik onemocnění mladých, imunokompetentních jedinců, které rychle skončily exitem [1, 10]. V předchorobí bývá popisována respirační viróza. V prezentovaném souboru 12 pacientů byl u dvou mužů následně prokázán virus chřipky A (H1N1).

Za celou dobu sledování od roku 2007 máme v NRL/ St zaznamenáno celkem 24 případů PVL pneumonie [7], z toho 13 skončilo smrtí pacienta, téměř vždy po velice rychlém průběhu onemocnění. Podle časového období se odehrávalo 14 případů v zimním období (prosinec–březen), ostatní proběhly v průběhu celého roku.

Jako lék volby se u onemocnění PVL pneumonie doporučuje linezolid, který inhibuje syntézu PVL, má dobrý průnik do plicního parenchymu a je účinný i na kmeny MRSA [11]. U přeživších pacientů z našeho souboru bylo k terapii v různých kombinacích použito toto antibiotikum, nebo klindamycin.

Ve většině případů se jedná o komunitně získané infekce. Zásadním předpokladem k úspěšné léčbě je rychlé rozpoznání této závažné diagnózy prvním ošetřujícím, tj. obvykle praktickým lékařem. Připomínáme proto typické projevy nemoci, jejichž výskyt by měl vést klinika k vyslovení podezření na toto onemocnění a neodkladnému zahájení účinné terapie - **tabulka 2** [12]. Důležitou informací je rozpoznání stafylokokové etiologie a zjištění, zda kmen *S. aureus* je pozitivní na PVL. V NRL pro stafylokoky CEM, SZÚ jsme při optimálních podmínkách schopni zjistit tuto vlastnost původce do 4 hodin po dodání kmene na plotně.

Poděkování

Autoři děkují všem kolegům z 11 Oddělení klinické mikrobiologie nemocnic za zaslání informací k jednotlivým případům.

LITERATURA

[1] Gillet Z, et al. Association between *S. aureus* strains carrying gene for Pantone-Valentine leucocidin and highly lethal

necrotising pneumonia in young immunocompetent patients. *Lancet* 2002; 359: 753–759.

- [2] Van De Velde H. Etude sur le mécanisme de la virulence du *Staphylocoque pyogene*. *Cellule* 1894; 10: 401–410.
- [3] Pantone PN, Valentine FCO. Staphylococcal toxin. *Lancet* 1932; 219: 506–508.
- [4] Dinges MM, Orwin PM, Schlievert PM. Exotoxins of *Staphylococcus aureus*. *Clin Microbiol Reviews* 2000; 13(1): 16–34.
- [5] Alonzo F, Torres VJ. The bicomponent pore-forming leucocidins of *S. aureus*. *Microb Molecular Bio Rev* 2014; 78: 99–230.
- [6] Holmes A, Ganner M, McGuane S, et al. *S. aureus* isolates carrying Pantone-Valentine leucocidin genes in England and Wales, frequency, characterization, and association with clinical disease. *J Clin Microbiol* 2005; 43(5): 2384–2390.
- [7] Rájová J, Pantůček R, Petráš P, et al. Necrotizing pneumonia due to clonally diverse *S. aureus* strains producing Pantone-Valentine leucocidin: the Czech experience. *Epidemiol Infect* 2016; 144: 507–515.
- [8] Petráš P, Měřínská T, Hutníková R. Sledování produkce hyaluronidázy u kmenů *Staphylococcus* v ČR v NRL pro stafylokoky v letech 2004–2020. *Zprávy CEM (SZÚ, Praha)*. 2021; 30(5): 145–148.
- [9] Lina G, Piemont Y, Godail-Gamot F, et al. Involvement of Pantone-Valentine Leucocidin-Producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin Inf Diseases* 1999; 29: 1128–1132.
- [10] Duployey C, Guern RL, Tines C, et al. Pantone-Valentine leucocidin-secreting *Staphylococcus aureus* pneumonia complicating COVID-19. *Emerg Infect Dis*. 2020; 26(8): 1939–1941.
- [11] Morgan MS. Diagnosis and treatment of Pantone-Valentine (PVL) leucocidin – associated staphylococcal pneumonia. *Int J Antimicrob Agents* 2007; 30: 289–296.
- [12] Beneš J, Myslivec O, Laštíkova J, et al. Septický šok při fatálně probíhající stafylokokové pneumonii: význam Pantone-Valentinova leucocidinu – kazuistika. *Anest Intenziv Med* 2010; 21(6): 337–341.

Petr Petráš, Radoslava Hutníková, Jana Kečláková,
Tereza Měřínská
NRL pro stafylokoky CEM SZÚ