

KRÁTKÉ SDĚLENÍ

Infekce způsobené bakteriemi komplexu *Burkholderia cepacia* u pacientů s cystickou fibrózou: odhalení a potlačení epidemie

Burkholderia cepacia complex infections in patients with cystic fibrosis: detection and containment of the outbreak

Pavel Dřevínek, Milena Antušková

Ústav lékařské mikrobiologie,
2. lékařská fakulta, Univerzita
Karlova a Fakultní nemocnice
Motol, Praha

Část výsledků studie, ze
které vychází tento text,
byla publikována v časopisu
Epidemiologie Mikrobiologie
Imunologie v roce 2014.⁽¹⁴⁾

Poděkování
Autoři děkují všem svým kole-
gům z Centra CF při Pediatrické
klinice a Pneumologické klinice
2. LF UK a FN Motol, kteří se
aktivně podílejí na péči o ne-
mocné CF.

SOUHRN

Dřevínek P, Antušková M. Infekce způsobené bakteriemi komplexu *Burkholderia cepacia* u pacientů s cystickou fibrózou: odhalení a potlačení epidemie

Bakterie komplexu *Burkholderia cepacia* vyvolávají u pacientů s cystickou fibrózou (CF) závažné plicní infekce. Riziko epidemického šíření infekce přimělo centra CF zavést přísná izolační opatření. Navíc je nutné správně a včas mikrobiálního původce identifikovat, k čemuž slouží postupy molekulární mikrobiologie. V posledním desetiletí nebyl v ČR diagnostikován žádný nový případ infekce způsobené epidemickým kmenem ST-32 druhu *Burkholderia cenocepacia*, který stál za velkou epidemií 90. let 20. století.

Klíčová slova: komplex *Burkholderia cepacia*, cystická fibróza, epidemický kmen

SUMMARY

Dřevínek P, Antušková M. Infekce způsobené bakteriemi komplexu *Burkholderia cepacia* u pacientů s cystickou fibrózou: odhalení a potlačení epidemie

Bacteria from the *Burkholderia cepacia* complex cause severe lung infections in people with cystic fibrosis (CF). The risk of epidemic spread of the infection led the CF centres to implement strict isolation precautions. Furthermore, it was imperative to identify the microbial agent correctly and timely which was made possible thanks to the methods of molecular microbiology. No new *Burkholderia cenocepacia* infections, caused by the ST-32 strain which had been responsible for a large outbreak in 1990s, were diagnosed in the Czech Republic in the last ten years.

Key words: *Burkholderia cepacia* complex, cystic fibrosis, epidemic strain

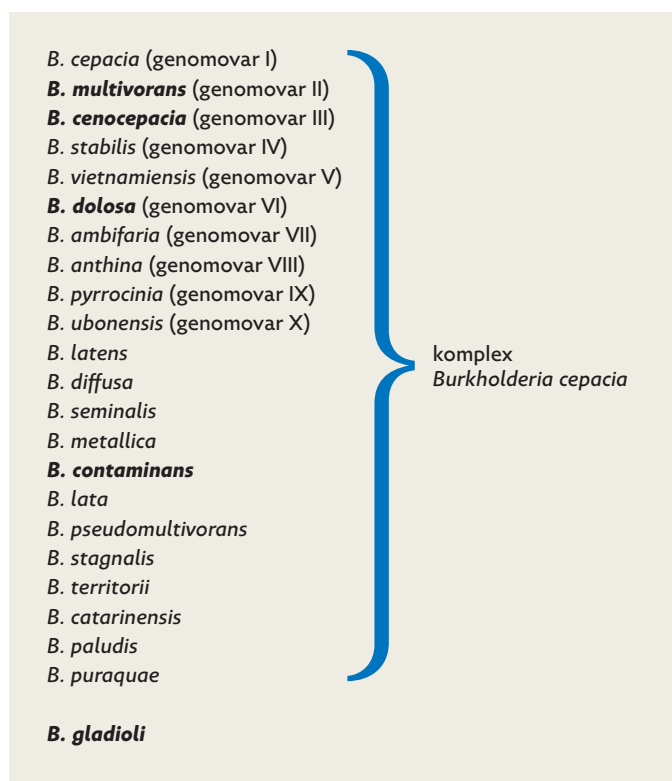
Korespondenční adresa:

prof. MUDr. Pavel Dřevínek, Ph.D.
Ústav lékařské mikrobiologie UK 2. LF a FN v Motole
V Úvalu 84
150 06, Praha 5
pavel.drevinek@Lfmotol.cuni.cz

Nejzávažnější manifestací cystické fibrózy (CF) je postižení respiračního traktu. V klasickém klinickém obraze dochází k postupnému ireverzibilnímu poškození plic⁽¹⁾ a k respiračnímu selhání. Významnou úlohu v progresi plicní nemoci má vedle mechanické obstrukce dýchacích cest vazkým hlenem také zánět, který je podstatnou měrou stimulován přítomností mikroorganismů v dýchacím traktu. S nemocí CF je úzce spjato poměrně úzké a dobře definované spektrum bakteriálních agens, které v sobě zahrnuje druhy jako *Staphylococcus aureus*, *Haemophilus influenzae*, *Mycobacterium abscessus* a komplex *Mycobacterium avium*,

Pseudomonas aeruginosa a bakterie komplexu *Burkholderia cepacia* (Bcc). Posledně zmíněná skupina bakterií, jejíž taxonomie bude vysvětlena níže, představuje hrozbu nejen pro konkrétního pacienta s diagnostikovanou infekcí Bcc, ale i pro celou komunitu nemocných CF, neboť existují bakteriální kmeny Bcc s potenciálem epidemického šíření.

Klinický průběh infekce Bcc se v mnohém podobá tomu, jak se u pacientů s CF chová *P. aeruginosa*, která je u nemocných diagnostikována výrazně častěji než Bcc (u dospělé evropské populace byla v roce 2020 stanovena prevalence *P. aeruginosa* na hodnotě 41%, zatímco Bcc měla prevalenci



Obr. 1: Taxonomie komplexu *Burkholderia cepacia* (Bcc). V závorce je uvedeno původní označení prvních deseti druhů, které před revizí taxonomie Bcc byly vedeny jako genomovary. *Burkholderia gladioli* nepatří do Bcc, ale řadí se mezi relevantní bakteriální druhy rodu *Burkholderia* (tučně zvýrazněné), které patří u nemoci CF mezi prokázané patogeny.

jen 4 %⁽²⁾). Zprvu asymptomatická infekce postupně přechází do stadia s epizodami exacerpace plicní nemoci, po jejichž odléčení kombinací antibiotik se plicní funkce pacienta často nenavrácí do hodnot před exacerbací. V kontrastu k pseudomonádové infekci může infekce Bcc navíc kulminovat až v nekrotizující pneumonii s fulminantně probíhající sepsí, označovanou jako *cepacia* syndrom, který v horizontu několika dní až týdnů končí letálně.⁽³⁾ Tento fatální stav se může rozvinout za různě dlouhé období od stanovení diagnózy infekce (měsíce až desítky let od prvního záchytu) a může postihnout i pacienty, kteří podstoupili transplantaci plic. To je také důvod, proč se infekce Bcc (resp. infekce způsobená určitými kmeny Bcc) řadí mezi kontraindikace transplantace plic.

TAXONOMIE A IDENTIFIKACE Bcc

Názvu celé skupiny Bcc dominuje termín „komplex“, který napovídá, že se v ní ukrývá více samostatných bakteriálních druhů, rozpoznávaných a popsáných až na základě molekulárně genetických testů.⁽⁴⁾ Ty také potvrdily blízkou genetickou příbuznost mezi jednotlivými druhy, kvůli čemuž zůstává laboratorní dourčení Bcc a zařazení do konkrétního bakteriálního druhu stále doménou molekulární mikrobiologie, nikoli té klasické, založené na kultivaci.

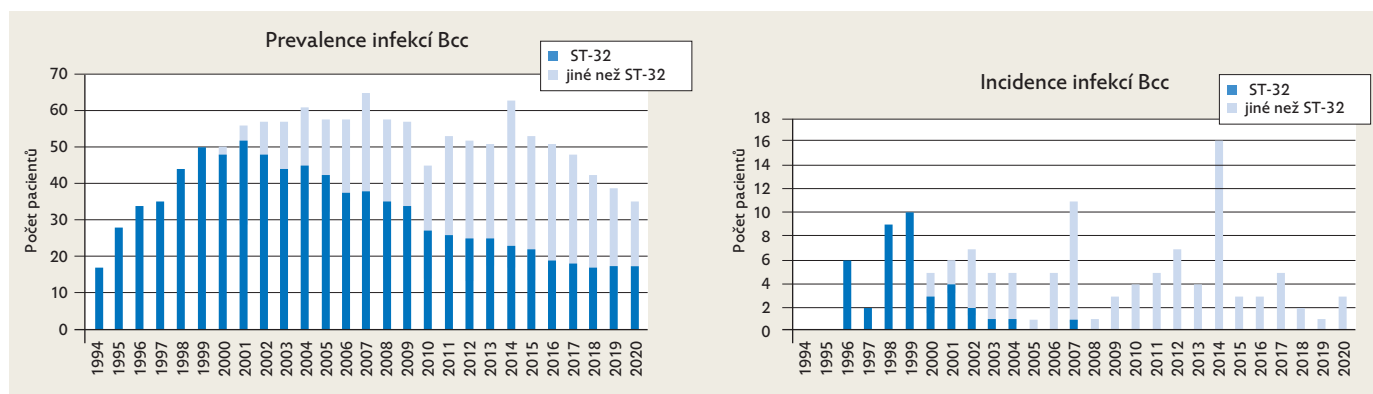
Skupina Bcc obsahuje 22 bakteriálních druhů, ale jen některé z nich, především pak *Burkholderia cenocepacia*, jsou považovány za klinicky významné (obr. 1).⁽⁵⁾ Za zlatý standard detekce Bcc bez nároku na zařazení do konkrétního bakteriálního druhu se pokládá polymerázová řetězová reakce (PCR), jejíž cílovou oblastí je část genu *recA*.⁽⁶⁾ Identifikace jednotlivých druhů pak závisí na použití metod, které jsou založeny na detekci polymorfismů DNA. Některé členy skupiny Bcc je možné určit pomocí druhově specifických PCR,^(6–8) ale přesné identifikace všech členů Bcc lze dosáhnout jen pomocí sekvenční analýzy. Doporučuje se využití metody multilokusové sekvenční typizace (MLST), pomocí níž se analyzuje nukleotidová sekvence sedmi genů.^(9,10) Ta umožní nejen spolehlivé zařazení bakteriálního izolátu do toho kterého druhu Bcc, ale tím, že jej označí jako sekvenční typ (ST), nabízí i identifikaci až na úrovni kmene. Označení ST-28 na základě testu MLST přísluší nechvalně známému epidemickému klonu, který byl pod původní jménem ET-12 veden jako viník vážných a rozsáhlých epidemií v centrech CF v Kanadě a Velké Británii v 80. a 90. letech minulého století.⁽¹¹⁾ Kmen, který významně zasáhl do péče o pacienty s CF v ČR, nese označení ST-32.

EPIDEMIE Bcc V ČESKÉ REPUBLICE

Epidemiologická situace v ČR byla ještě na sklonku 90. let 20. století prakticky neznámá, byť už tehdy se prováděla u pacientů s CF mikrobiologická diagnostika cílená na Bcc. Ta se ovšem zakládala jen na kultivaci, a byla tak zatížena inherentními limity takové diagnostiky v podobě nízké senzitivity a nemožnosti rozšířování, k jakému genomovaru pozitivní nález Bcc patří.⁽⁷⁾ Až s nástupem molekulární diagnostiky ve FN Motol v roce 2001, opírající se o detekci genu *recA*, se zpřesnila data o prevalenci infekce, která náhle vyplhala k alarmující hodnotě 30 %.⁽¹²⁾ Zároveň z analýzy polymorfismů genu *recA* vyplynulo, že naprostá většina našich pacientů pozitivních na přítomnost Bcc nesla jeden druh, a to *B. cenocepacia* (dříve označovaný jako genomovar III).

Odpověď na otázku, zda uniformita na úrovni bakteriálního druhu je důsledek výskytu jediného kmene se schopností šířit se mezi pacienty, poskytla detailnější molekulárně genetická analýza, spočívající v genotypizaci klinických izolátů. V době provedení první epidemiologické práce na souboru našich pacientů se k použití nabízely pouze ty genotypizační techniky, jejichž princip byl založen na porovnávání fingerprintových profilů na gelu (metody označované jako RAPD – random amplified polymorphic DNA či PFGE – pulsed field gel electrophoresis). Výsledky naznačovaly vysokou klonalitu klinických izolátů, což bylo možné považovat za důkaz epidemického rozsevu infekce v české komunitě CF.⁽¹²⁾ Tento předpoklad následně také potvrdila typizační metoda MLST, která klon jednoznačně identifikovala a zařadila do sekvenčního typu ST-32.

Vývoj epidemie Bcc v ČR z pohledu prevalence, incidence i procentuálního zastoupení ST-32 je znázorněn na obrázku 2. U drtivé většiny pacientů s infekcí se v roce 2001 vyskytoval kmen ST-32, který vyvolával i nové případy onemocnění. Epidemie tedy nebyla pod kontrolou a čerstvá epidemiologická



Obr. 2: Výskyt infekcí Bcc v ČR v letech 1994 až 2020. Případy s infekcí kmenem ST-32 jsou označeny tmavou barvou, infekce způsobené ostatními kmeny a druhy Bcc jsou označeny světlejší šedou. Data o incidenci nejsou k dispozici pro počáteční dva roky sledování, v průběhu nichž nebyly vzorky od všech tehdejších pacientů pro testování k dispozici. Od roku 2001 se do dat promítají detekce Bcc založené na kultivaci i na PCR.

data zdůraznila nutnost zpřísnit protiepidemická opatření a podtrhla povinnost maximálně je dodržovat. Zrevidovaná pravidla spočívala v přísné separaci pacientů od sebe navzájem během hospitalizace, na ambulantní kontrole i v běžném životě mimo návštěvu centra CF, v aplikaci dekontaminačních postupů, používání osobních ochranných prostředků v centru CF a v provádění aktivní mikrobiologické surveillance.

Každý pacient je sledován na výskyt Bcc. U negativních pacientů se v pravidelných intervalech (ideálně 1× za 3 měsíce) vzorek dýchacích cest testuje na přítomnost Bcc, a to kromě kultivačních technik i pomocí PCR. U nově pozitivních pacientů se nález analyzuje metodou MLST, aby byl určen bakteriální druh i sekvenční typ. MLST se využívá i pro charakterizaci Bcc chronicky infikovaných pacientů, u nichž se tímto způsobem kontroluje 1× ročně to, zda nesou stále tentýž kmen Bcc, anebo byli v průběhu uplynulého roku infikováni jiným kmenem. Jakýkoliv nový záchyt kmenem ST-32, ať už u čerstvě diagnostikované infekce, či u pacientů s chronickou infekcí, by signalizoval selhání protiepidemického režimu a inicioval zavedení urgentních opatření tak, aby se nákaza nemohla dále šířit.

S úlevou lze hodnotit současnou epidemiologickou situaci infekce Bcc jako příznivou. Poslední nový případ ST-32

byl zaznamenán v roce 2007. Již v roce 2002 však novým případům dominovaly jiné kmeny a jiné bakteriální druhy Bcc než *B. cenocepacia* ST-32. Tyto infekce, často způsobené druhy *B. multivorans*, *B. stabilis* a *B. contaminans*, mají nižší nebo nulový potenciál se mezi pacienty šířit, a dokonce mohou vyvolávat jen tranzitní infekce.⁽¹³⁾ Zdá se tak, že nastavená protiepidemická opatření centra CF jsou adekvátní a efektivně brání přenosu infekce mezi pacienty.

ZÁVĚR

I přes složitou nomenklaturu komplexu bakterií *B. cepacia* lze jednotlivé druhy identifikovat a stanovit příslušnost vyšetřovaného izolátu k některému ze známých epidemických kmenů. Klíčem ke správné laboratorní diagnostice je PCR a multilokusová sekvenční analýza. Dnešní obraz epidemiologické situace v ČR, která je výsledkem efektivního skloubení možností moderní mikrobiologie a zodpovědného přístupu klinických pracovníků i pacientů k dodržování protiepidemických pravidel, ukazuje, že epidemii ST-32 se podařilo zastavit a pacienti bez infekce Bcc jsou před touto hrozbou účinně chráněni. |

LITERATURA

- Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med* 2003; 168(8): 918–51.
- Orenti A, et al. ECFSPR Annual Report 2020. 2022.
- Isles A, et al. *Pseudomonas cepacia* infection in cystic fibrosis: an emerging problem. *J Pediatr* 1984; 104(2): 206–10.
- Vandamme P, Dawyndt P. Classification and identification of the *Burkholderia cepacia* complex: Past, present and future. *Syst Appl Microbiol* 2011; 34(2): 87–95.
- Jin Y, et al. Genome-based classification of *Burkholderia cepacia* complex provides new insight into its taxonomic status. *Biol Direct* 2020; 15(1): 6.
- Mahenthiralingam E, et al. DNA-Based diagnostic approaches for identification of *Burkholderia cepacia* complex, *Burkholderia vietnamiensis*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia stabilis*, and *Burkholderia cepacia* genomovars I and III. *J Clin Microbiol* 2000; 38(9): 3165–73.
- Drevinek P, et al. Direct PCR detection of *Burkholderia cepacia* complex and identification of its genomovars by using sputum as source of DNA. *J Clin Microbiol* 2002; 40(9): 3485–8.
- Drevinek P, et al. Diversity of the *parB* and *repA* genes of the *Burkholderia cepacia* complex and their utility for rapid identification of *Burkholderia cenocepacia*. *BMC Microbiol* 2008; 8: 44.
- Baldwin A, et al. Multilocus sequence typing scheme that provides both species and strain differentiation for the *Burkholderia cepacia* complex. *J Clin Microbiol* 2005; 43(9): 4665–73.
- Spilker T, et al. Expanded multilocus sequence typing for *Burkholderia* species. *J Clin Microbiol* 2009; 47(8): 2607–10.
- Mahenthiralingam E, Urban TA, Goldberg JB. The multifarious, multireplicon *Burkholderia cepacia* complex. *Nat Rev Microbiol* 2005; 3(2): 144–56.
- Drevinek P, et al. Widespread clone of *Burkholderia cenocepacia* in cystic fibrosis patients in the Czech Republic. *J Med Microbiol* 2005; 54(Pt 7): 655–9.
- Dedeckova K, et al. PCR detection of *Burkholderia cepacia* complex as one of key factors to handle a long-term outbreak. *J Cyst Fibros* 2012; 11(5): 440–445.
- Drevinek P. (Bacteria of the *Burkholderia cepacia* complex: epidemiology and diagnosis of infection in patients with cystic fibrosis). *Epidemiol Mikrobiol Imunol* 2014; 63(1): 18–26.