

INVAZÍVNE PNEUMOKOKOVÉ OCHORENIA A MONITORING ZÁMENY KAUZÁLNYCH SÉROTYPOV *STREPTOCOCCUS PNEUMONIAE*.

J. Čamajová¹, E. Bottková¹, C. Klement¹, L. Mad'arová¹, H. Hupková², M. Avdičová¹,
H. Hudečková³

¹Regionálny úrad verejného zdravotníctva so sídlom v Banskej Bystrici, Banská
Bystrica

²Mikrobiologický ústav, Lekárska fakulta Univerzity Komenského, Bratislava

³Ústav verejného zdravotníctva, Jesseniova lekárska fakulta Univerzity Komenského,
Martin

Abstrakt

Úvod: Pneumokokové infekcie predstavujú jednu z hlavných príčin úmrtí spomedzi ochorení preventabilných očkovaním. Ich pôvodca *Streptococcus pneumoniae* sa vyznačuje vysokou sérotypovou variabilitou. Proti najrizikovejším sérotypom boli vyvinuté sérotypovo špecifické vakcíny. Od zavedenia 7-valentnej konjugovanej vakcíny vo svete bol všeobecný výrazný pokles vo výskyte invazívnych ochorení sprevádzaný zámenou kauzálnych sérotypov. V súčasnosti sa táto vakcína nahrádza viacvalentnými vakcínami, a preto je dôležité sledovať, či a nakoľko dochádza k zámene sérotypov.

Materiál a metodika: Pri stanovení sérotypov izolovaných kmeňov boli použité klasické sérologické metódy a molekulovo – biologické metódy.

Výsledky: Najčastejšie sa vyskytujúcimi sérotypmi boli v oboch rokoch sérotypy 3 a 19A. Najvyššie pokrytie kauzálnych sérotypov sme zaznamenali u 13-valentnej vakcíny. V rámci sledovaného obdobia sme zaznamenali pokles v zastúpení vakcinačných sérotypov u invazívnych pneumokokových ochorení.

Záver: V ére sérotypovo špecifických pneumokokových vakcín je monitorovanie invazívnych pneumokokových ochorení a výskytu kauzálnych sérotypov mimoriadne dôležité, nakoľko v populácii pneumokokov môžu nastať zásadné zmeny.

Úvod

Pneumokokové infekcie predstavujú jednu z hlavných príčin úmrtí spomedzi ochorení, ktoré sú preventabilné očkovaním (1). Pôvodcom týchto ochorení je *Streptococcus pneumoniae*, ktorý sa vyznačuje vysokou sérotypovou variabilitou. Doteraz je známych až 93 rôznych sérotypov daných kapsulárnymi polysacharidmi, pričom toto číslo nemusí byť konečné (2). Kým niektoré sérotypy sú považované za málo virulentné, iné môžu viesť k miernym až k ťažkým invazívnym pneumokokovým ochoreniam. Len limitovaný počet sérotypov spôsobuje väčšinu invazívnych pneumokokových ochorení (IPO) vo svete (3). Proti najrizikovejším sérotypom boli vyvinuté sérotypovo špecifické vakcíny. V súčasnosti sú dostupné 2 rôzne typy pneumokokových vakcín: 23-valentná polysacharidová vakcína (PPV23) proti 23 sérotypom a konjugované pneumokokové vakcíny (PCV) s rôznou valenciou – 7-valentná vakcína PCV7, ktorá je zavedená vo viac ako 70 krajinách, ako aj nedávno zavedené 10- a 13-valentné konjugované vakcíny PCV10 a PCV13. Vakcinácia pomocou PCV7 preukázala veľkú úspešnosť v znížení výskytu invazívnych ochorení spôsobenými vakcinálnymi sérotypmi u očkovaných detí a dokonca aj medzi neočkovanými deťmi a dospelými ako dôsledok pozoruhodného efektu kolektívnej imunity (herd imunity) (4). Avšak výskyt invazívnych pneumokokových ochorení (IPO) spôsobených nevakcinačnými sérotypmi sa niekoľko rokov po zavedení PCV7 vakcíny zvýšil (5) a došlo k zámene kauzálnych sérotypov. V súčasnosti sa táto vakcína vo svete nahrádza

viacvalentnými vakcínami, a preto je dôležité sledovať, či a nakoľko dochádza k spomínanej zámene sérotypov aj v týchto podmienkach. Toto meniace sa zastúpenie sérotypov môže mať zásadný vplyv aj pri vytváraní budúcich stratégií očkovania.

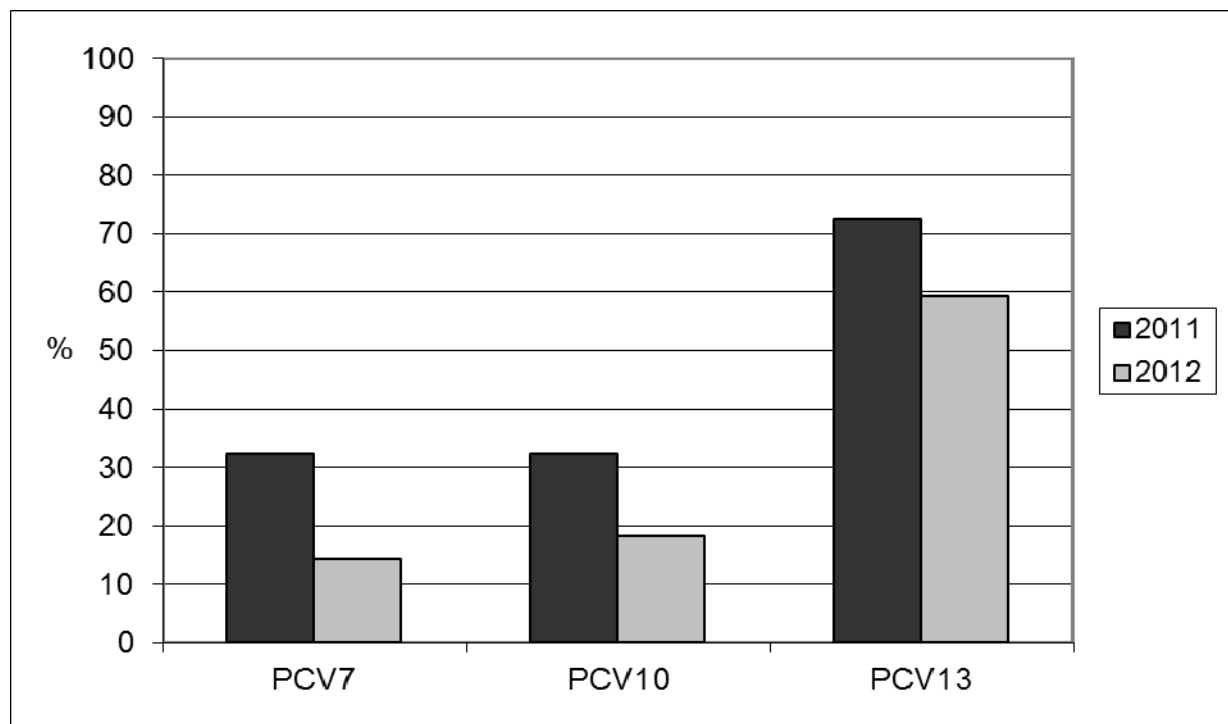
Materiál a metodika

Kultivácia kmeňov *S. pneumoniae* prebehla na krvnom agare (18-24 hod., 37°C). Po kultivácii boli kmene v monokultúre dlhodobo uchované pri -80°C a pasážované. Z každého kmeňa bola izolovaná DNA. Stanovenie sérotypu bolo vykonané pomocou klasických sérologických metód (latexová aglutinácia, Neufeldova reakcia) a novozavedených molekulovo – biologických metód (kombinácia dvoch po sebe nasledujúcich multiplexných PCR reakcií).

Výsledky

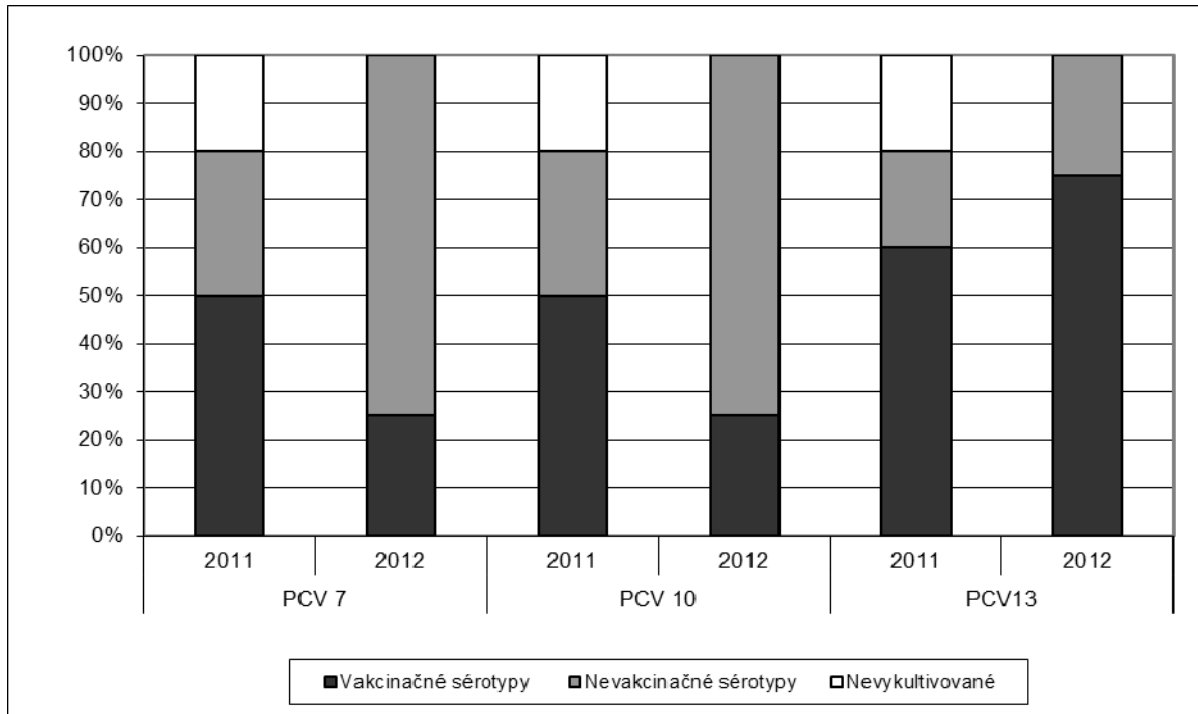
Do Národného referenčného centra pre pneumokokové nákazy (NRC) bolo za 2 roky jeho činnosti (2011-2012) zaslaných 89 izolátov *Streptococcus pneumoniae* získaných od pacientov s invazívnym pneumokokovým ochorením na bližšiu špecifikáciu – sérotypizáciu. Najčastejšie sa vyskytujúcimi sérotypmi boli v oboch rokoch sérotypy 3 (20,0% za rok 2011 a 22,5% za rok 2012) a 19A (17,5% za rok 2011 a 20,4% za rok 2012). Až 50% zachytených sérotypov 19A v r. 2012 sa vyskytovalo u detí vo veku do 5 rokov.

Pri porovnaní výskytu vakcinačných sérotypov u invazívnych pneumokokových ochorení u jednotlivých konjugovaných vakcín sme zistili, že v r. 2011 sérotypy zahrnuté vo vakcína PCV7 predstavovali 32%, vo vakcína PCV10 32% a vo vakcína PCV13 až 72,5%. V r. 2012 dosahovalo pokrytie pre sérotypy zahrnuté v PCV7 14,3%, PCV10 18,4% a PCV13 59,2% (Graf č. 1). Vzájomným porovnaním výsledkov v r. 2011 a 2012 sme zistili pokles v zastúpení vakcinačných sérotypov – pre PCV7 o 56%, pre PCV10 o 43,4% a pre PCV13 o 18,3%.

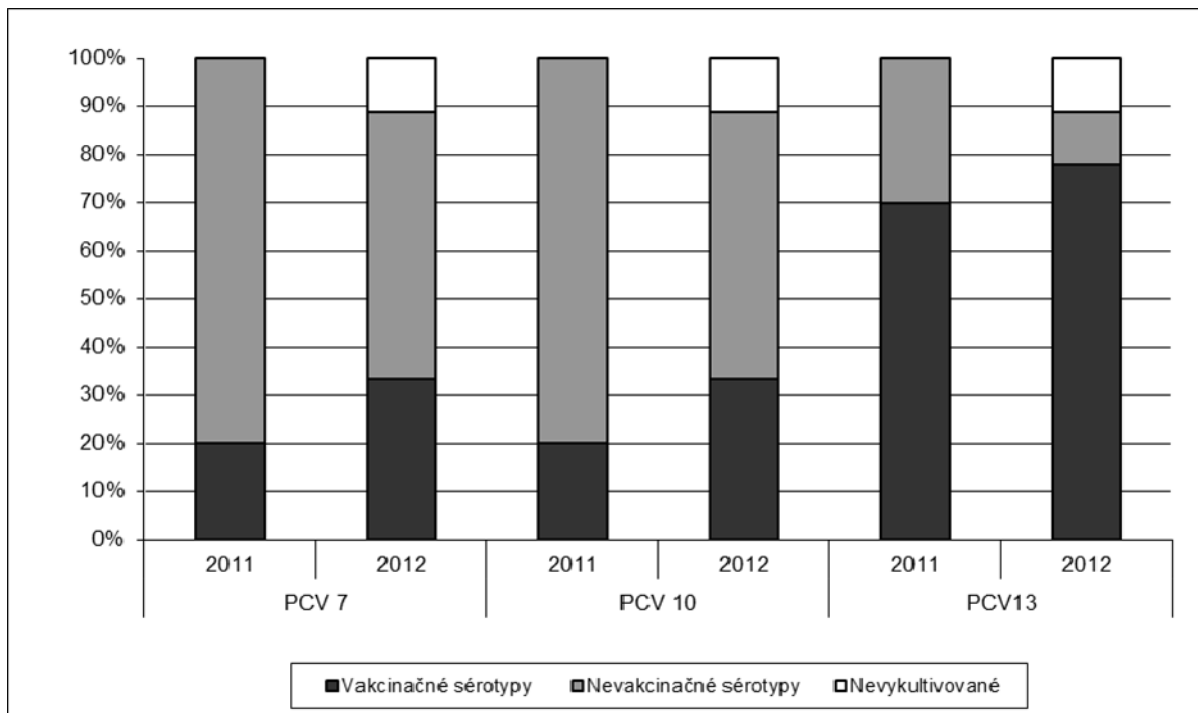


Graf č. 1: Percentuálne zastúpenie vakcinačných a nevakcinačných sérotypov *S. pneumoniae* pre konjugované vakcíny PCV 7, PCV 10 a PCV 13 v rokoch 2011 a 2012.

U detí s IPO vo vekovej kategórii 0-2 roky sme počas sledovaných rokov zaznamenali pokles v zastúpení vakcinačných sérotypov pre PCV7 (z 50% na 25%) a PCV10 (z 50% na 25%), ale nárast pre PCV 13 (z 60% na 75%) (Graf č. 2). U pacientov s IPO vo veku 65 a viac rokov sme naopak zaznamenali nárast vakcinačných sérotypov u všetkých troch vakcín (Graf č. 3).



Graf č. 2: Porovnanie percentuálneho zastúpenia vakcinačných a nevakcinačných sérotypov u prípadov IPO vo vekovej kategórii 0-2 roky v rokoch 2011 a 2012.



Graf č. 3: Porovnanie percentuálneho zastúpenia vakcinačných a nevakcinačných sérotypov u prípadov IPO vo vekovej kategórii 65 a viac rokov v rokoch 2011 a 2012.

Diskusia a závery

Potenciál pneumokokov stat' sa invazívnymi, súvisí so zložením polysacharidovej kapsuly (t.j. so sérotypom). Určité sérotypy majú väčší potenciál spôsobovať invazívne ochorenia ako iné (6). Na prevenciu pneumokokových ochorení u detí bolo zavedené v mnohých krajinách očkovanie konjugovanými pneumokokovými vakcínami. Na Slovensku bolo v januári 2009 zavedené celoplošné povinné očkovanie proti pneumokokom u detí mladších ako 2 roky konjugovanou 7-valentnou vakcínou PCV7. 10-valentná vakcína PCV10 je k dispozícii od januára 2011 a 7-valentná vakcína bola nahradená 13-valentnou v júli 2010.

V r. 2011 bolo v Slovenskej republike zriadené Národné referenčné centrum pre pneumokokové nákazy. Za 2-ročné obdobie činnosti NRC sme sledovali zastúpenie kauzálnych sérotypov v podmienkach povinného očkovania. Najčastejšie sa vyskytujúcimi sérotypmi spôsobujúcimi IPO u nás boli v oboch rokoch sérotypy 3 a 19A, ktoré sú zahrnuté len v 13-valentnej vakcína PCV13. Takýto trend je v súčasnosti zaznamenávaný celosvetovo (5,7). Kmene so sérotypom 19A sú považované za predominantnú príčinu IPO v post-PCV7 ére (5). Sérotyp 3 je asociovaný so zvýšeným relatívnym rizikom úmrtia (7).

Pri porovnaní výskytu vakcinačných sérotypov u invazívnych ochorení pre jednotlivé konjugované vakcíny sme zistili, že v r. 2011 bolo pokrytie sérotypov zahrnutých vo vakcínach PCV7 a PCV10 o viac ako polovicu nižšie ako pokrytie sérotypov zahrnutých vo vakcína PCV13. V r. 2012 bol tento rozdiel ešte výraznejší. 13-valentná vakcína PCV13 mala u nás v sledovanom období najvyššie pokrytie kauzálnych sérotypov, čo môže nasvedčovať tomu, že vakcína PCV13 by mohla mať u nás najvyššiu efektívnosť.

Vzájomným porovnaním výsledkov v r. 2011 a 2012 sme zistili výrazný pokles v zastúpení vakcinačných sérotypov pre 7- a 10-valentnú vakcínu a miernejší pokles pre 13-valentnú vakcínu. Pri sledovaní najviac ohrozených vekových skupín (deti do 2 rokov a starší pacienti vo veku 65 a viac rokov) sme takisto zaznamenali posuny v zastúpení vakcinačných sérotypov. U detí do 2 rokov sme zistili pokles v zastúpení vakcinačných kauzálnych sérotypov pre PCV7 a PCV10, len pre PCV13 bol zistený nárast. U pacientov ≥ 65 rokov sme zistili nárast v zastúpení vakcinačných sérotypov. Tento fakt môže byť podmienený tým, že na dosiahnutie efektu kolektívnej imunity je pravdepodobne potrebný dlhší čas. Zmeny v zastúpení kauzálnych sérotypov boli pozorované vo viacerých krajinách po zavedení PCV a sú dôsledkom dvoch javov – zámény sérotypov („serotype replacement“) a tzv. kapsulárneho preskoku („capsular switching“), ktoré spolu úzko súvisia (8). Tzv. zámena sérotypov predstavuje zámenu vakcinačných typov za nevakcinačné typy. Tento jav môže nastávať prirodzeným presadením sa nevakcinačných sérotypov alebo prenesením kapsulárnych génov jedného typu kapsuly do genetického prostredia kmene s pôvodne iným typom kapsulárnych génov (kapsulárny preskok). V našom prípade ide ešte o príliš krátky čas na jednoznačné zhodnotenie týchto javov, ale ukazujúci sa trend by mohol nasvedčovať o výskyte zámény sérotypov aj v našich podmienkach. Prispieva k tomu i fakt, že sérotyp 3, ktorý sa v rozhodujúcej miere vyskytoval u dospelých (9), sme zachytili aj u detí do 5 rokov, takže by mohlo dôjsť k posunu výskytu tohto sérotypu do mladších vekových kategórií a tak k zámene sérotypov.

Invazívne pneumokokové ochorenia predstavujú celosvetový problém sprevádzaný vysokou morbiditou a mortalitou. Vzhľadom na to, že súčasné pneumokokové vakcíny sú sérotypovo špecifické, je mimoriadne dôležité monitorovanie výskytu kauzálnych sérotypov a dôsledkov vysokej genetickej plasticity pneumokokov, čo predstavuje i jeden z cieľov Európskej siete pre invazívne pneumokokové ochorenia.

Literatúra

1. Rodgers, G.L., Klugman, K.P. (2011): The future of pneumococcal disease prevention. *Vaccine*. 29(Suppl 3), 43-48
2. Hu, F.Z., Eutsey, R., Ahmed, A., Frazao, N., Powell, E., Hiller, N.L., Hillman, T., Buchinsky, F.J., Boissy, R., Janto, B., Kress-Bennett, J., Longwell, M., Ezzo, S., Post, J.C., Nesin, M., Tomasz, A., Ehrlich, G.D. (2012): In vivo capsular switch in *Streptococcus pneumoniae* – analysis by whole genome sequencing. *PLOS One*, 7(11), e47983
3. Johnson, H.J., Deloria-Knoll, M., Levine, O.S., Stoszek, S.K., Freimanis Hance, L., Reithinger, R., Muenz, L.R., O'Brien, K.L. (2010): Systematic evaluation of serotypes causing invasive pneumococcal disease among children under five: the pneumococcal global serotype project. *PLOS One*, 7(10), e1000348
4. McGee, L., Beall, B.W., Klugman, K.P. (2009): Re-emergence of antibiotic-resistant strains of *Streptococcus pneumoniae*. *European Infectious Disease*, 3(1), 90-93
5. Xue, L., Yao, K., Yu, S., Liu, Z., Qian, J., Shen, X., Yang, Y. (2011): Molecular epidemiology of serotype 19A *Streptococcus pneumoniae* isolated from children in Beijing, 1997-2006. *Chinese Medical Journal*. 124(12), 1769-1774
6. Brueggemann, A.B., Pai, R., Crook, D.W., Beall, B. (2007): Vaccine escape recombinants emerge after pneumococcal vaccination in the United States. *PLOS Pathogens*, 3(11), e168
7. Inverarity, D., Lamb, K., Diggle, M., Robertson, C., Greenhalgh, D., Mitchell, T.J., Smith, A., Jefferies, J.M.C., Clarke, S., McMenamin, J., Edwards, G.F.S. (2011): Death or survival from invasive pneumococcal disease in Scotland: associations with serogroups and multilocus sequence types. *Journal of Medical Microbiology*. 60, 793-802
8. Wyres, K.L., Lambertsen, L.M., Croucher, N.J., McGee, L., von Gottberg, A., Linares, J., Jacobs, M.R., Kristinsson, K.G., Beall, B.W., Klugman, K.P., Parkhill, J., Hakenbeck, R., Bentley, S.D., Brueggemann, A.B. (2013) Pneumococcal capsular switching: An historical perspective. *Journal of infectious diseases*. 207(3), 439-449
9. Jorgensen, J.H., Ferraro, M.J. (2009): Antimicrobial susceptibility testing: A review of general principles and contemporary practices. *Clinical Infectious Disease* 49(11), 1749-1755