

Otrok z osteomielitisom, povzročnim z bakterijo *Staphylococcus aureus*, ki izloča Panton-Valentine levkocidin toksin

Child with osteomyelitis, caused by Panton-Valentine leukocidin producing *Staphylococcus aureus*

Ana Perišić, Milena Senica Verbič,
Silvo Franci Lipovšek

Izvleček

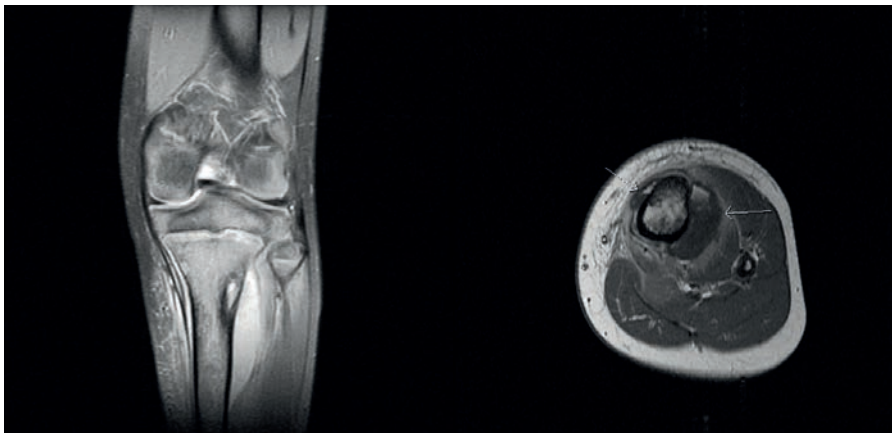
Osteomielitis pri otrocih, povzročjen z bakterijo *Staphylococcus aureus* (SA), ki izloča Panton-Valentine levkocidin (PVL), je huda in lahko smrtna okužba. Zabeležena pojavnost vseh osteomielitisov, povzročenih s SA, ki izločajo PVL (PVL SA), se povečuje. V primerjavi z osteomielitisi, ki jih povzročajo PVL negativni SA, so PVL SA povezani s težjim potekom in številnimi zapleti. Najbolj resni so multipli ognjki, globoka venska tromboza (GVT) in fulminantna sepsa. Pogosto osteomielitisov, povzročenih s PVL SA, ne prepoznamo, saj rutinskega diagnosticiranja prisotnosti PVL toksina ne izvajamo.

Ključne besede: otrok, osteomielitis, diagnoza, *Staphylococcus aureus*, Panton-Valentine levkocidin, antibiotiki.

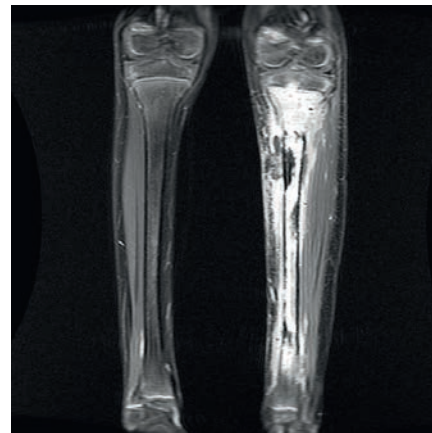
Abstract

Panton-Valentine leukocidin (PVL) producing *Staphylococcus aureus* (SA) is a cause of severe and potentially fatal osteomyelitis in children. Incidence of osteomyelitis, caused by PVL SA is increasing. It usually causes multiple complications that differentiate it from PVL-negative SA disease, including multiple abscesses, deep vein thrombosis (DVT) and fulminant sepsis. Due to lack of awareness and diagnostic testing for PVL toxin, this kind of osteomyelitis is often unrecognized.

Key words: child, osteomyelitis, diagnosis, *Staphylococcus aureus*, Panton-Valentine leukocidin, antibiotics.



1A



1B

SLIKA 1: MAGNETNORESONANČNI POSNETKI LEVE NOGE OB SPREJEMU (1A), OBEH NOG OB POSLABŠANJU (1B) IN OB ZAKLJUČKU PARENTERALNEGA ANTIBIOTIČNEGA ZDRAVLJENJA (1C) (VIR: UKC MARIBOR).

FIGURE 1: MRI SCANS OF LEFT FOOT AT ADMISSION (1A), OF BOTH LEGS AT WORSENING OF CONDITION (1B), AND AT THE END OF PARENTERAL ANTIBIOTIC TREATMENT (SOURCE: UMC MARIBOR).

Uvod

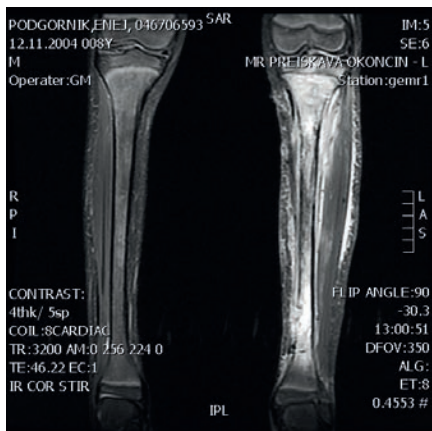
Osteomielitis ali okužbo kosti in kostnega mozga pri otrocih v 70–90 % primerov povzročata *Staphylococcus aureus* (SA) (1). SA lahko izloča številne toksine, med drugim tudi Panton-Valentine levkocidin (PVL), ki so ga prvič osamili in opisali leta 1932. Je levkocitotoksičen in povzročata nekrozo tkiva. V zadnjih letih so v Veliki Britaniji in drugje po svetu opažali seve PVL SA, ki povzročajo hujšo obliko bolezni (2). PVL je dokazan pri 1–5 % kliničnih izolatov, tako pri sevih SA, ki so občutljivi za meticilin (MSSA) ali pri sevih, ki so odporni proti meticilinu (MRSA) (1). Hud potek osteomielitisa, povzročenega s PVL SA, lahko privede do resnih zapletov (npr. pljučnice, sepse) in smrti (1). V prispevku predstavljamo primer otroka z osteomielitisom, pri katerem smo ob težjem kliničnem poteku potrdili okužbo s PVL SA.

Prikaz primera

Devetletni, prej zdrav deček, je bil sprejet na oddelek Otroške kirurgije

je Univerzitetnega kliničnega centra Maribor (UKC Maribor) zaradi 5 dni trajajoče bolečine v levi goleni. Ob sprejemu so bile v proksimalnem delu leve goleni prisotne izrazita oteklina, rdečina in bolečina. Imel je povišano telesno temperaturo z visokimi vrednostmi vnetnih kazalnikov (CRP 100 – 210 mg/l, L $7,4 \times 10^9/l$, SR 130 mm/h). Odvzeli smo hemokulturo ter uvedli izkustveno parenteralno zdravljenje z amoksicilinom/klavulansko kislino. Magnetnoresonančno slikanje (MRI) (Slika 1A) je pokazalo edem kostnine proksimalne golenice, v proksimalni metafizi pa viden 13 mm x 6 mm velik kortikalni absces z okolnim edemom mehkih tkiv. Na dan sprejema na oddelek smo opravili drenažo kostnega abscesa (prvi operativni poseg), ob operativnem posegu pa odvzeli tudi gnoj iz incizije za preiskavo na patogene bakterije. Iz predhodno odvzete hemokulture in gnoja smo osamili SA. Tretji dan hospitalizacije smo glede na izvide mikrobioloških pre-

iskav v zdravljenje uvedli flukloksacilin parenteralno v odmerku 200 mg/kg telesne teže/dan. Po treh dneh od sprejema in prvega operativnega posega smo opravili revizijsko drenažo, lavažo in trepanacijo kosti na mestu abscesa (drugi operativni poseg). Po prvotnem izboljšanju se je po dveh tednih zdravljenja s flukloksacilinom otrokovo klinično stanje poslabšalo (povišana telesna temperatura, bolečina v nogi), na kontrolnem magnetnoresonančnem slikanju (MRI) (Slika 1B) pa so bili vidni znaki širjenja okužbe. Deček je bil ponovno operiran (tretji operativni poseg). Ker so se vrednosti vnetnih kazalnikov ob antibiotičnem zdravljenju sprva zmanjšale, a nato po dveh tednih začele ponovno naraščati (L 9,42 x 10⁹/L, CRP 105 mg/l), smo preverili prisotnost PVL toksina v prizadetem tkivu. Test je bil pozitiven. Po posvetu z infektologom smo flukloksacilin zamenjali za klindamicin v odmerku 40 mg/kg telesne teže/dan, v štirih odmerkih. Po 2 dneh smo po posve-



1C

tu z infektologom uvedli še rifampicin v odmerku 10 mg/kgTT/12 ur. Šest dni od zadnje zamenjave antibiotika in ponovne operativne oskrbe v obliki trepanacije kosti (četrti operativni poseg) na kontrolnem MRI nismo več videli abscesov, vztrajal pa je edem kostnine in okolnega mehkega tkiva (Slika 1C). Zaradi anemije ob hudi okužbi je potreboval transfuzijo eritrocitov. Intravensko antibiotično zdravljenje s klindamicinom in rifampicinom je trajalo 4 tedne, nato pa smo zaradi levkopenije rifampicin izključili in nadaljevali s peroralnim klindamicinom 300 mg/8 ur še 6 tednov. Vrednosti SR so se zmanjšale (s 56 mm/h ob koncu hospitalizacije na 12 mm/h ob koncu antibiotičnega zdravljenja). Na kontrolnem rentgenogramu razen sklerozacije v predelu drenažnih mest ni bilo videti novih patoloških sprememb. Pri otroku smo stanje spremljali klinično in laboratorijsko. Prišlo je do popolnega okrevanja brez posledic na rast pozdravljenega uda.

Razpravljanje

Epidemiologija osteomielitsov, povzročenih s PVL SA

V razvitem svetu je celokupna pojavnost osteomielitsov pri otrocih 1,9–13/100.000, najpogostejši povzročitelj pa je SA. Pojavnost osteomielitsov, povzročenih s sevi SA, ki izločajo PVL, zaradi redkih poročanih primerov še ni natančno opredeljena. Po podatkih iz Združenega kraljevstva je pojavnost osteomielitsov, povzročenih s PVL, v splošnem majhna, a se povečuje, verjetno tudi zaradi večje ozaveščenosti in usmerjenega diagnosticiranja (1). Večina sevov PVL SA v Združenem kraljestvu je MSSA (2). V Severni Ameriki največje težave povzroča USA-300 klon CA-MRSA (*angl.* Community-associated meticillin-resistant *Staphylococcus aureus*), ki večinoma izloča PVL, a ni znano, ali je prav PVL virulentni dejavnik, ki povzroča največje težave (1, 2). Dve tretjini primerov SA osteomielitsov pri otrocih v Severni Ameriki

povzroča omenjeni klon. V Združenem kraljestvu in Evropi se omenjeni klon redko pojavlja. V več kot polovici primerov je PVL dokazan v MSSA sevih (1).

Patofiziologija okužb, povzročenih s PVL SA

PVL je dvokomponentni citotoksin, ki ga proizvajajo nekateri sevi SA. Sevi SA, ki vsebujejo gene za PVL, proizvajajo tudi koncentracijo toksinov *in vitro* (v 90 % primerov) (3). PVL je levkocitotoksičen. Proteini PVL se akumulirajo na membrani belih krvnih celic (pretežno monocitov in makrofagov), tvorijo centralne pore ter povzročajo apoptozo in nekrozo celic, s čimer pospešujejo širjenje bakterijske okužbe (4). Nakopičeni PVL proteini na celični membrani se lahko vedejo tudi kot superantigeni, ki sprožajo močan imunski odgovor (1).

Klinična slika ostemielitisa, povzročenega s PVL SA

Tako kot drugi sevi SA tudi PVL SA večinoma povzročajo okužbe kože

in mehkih tkiv ter globoke okužbe mišično-skeletnega sistema (1). Pri otrocih, ki zbolijo z osteomielitisom, povzročeni s PVL SA, je potek bolezni težji. Povečana je potreba po operativnih posegih, daljše je trajanje hospitalizacije, večje je tudi tveganje za razvoj kroničnega osteomielitisa (5). Simptomi in znaki osteomielitisa, povzročene s PVL SA, so podobni kot pri PVL negativnih SA osteomielitidih, a pri PVL pozitivnih sevih bolezni napreduje hitreje in bolj agresivno, resnejši in pogostejši so tudi zapleti, kot so sepsa, huda bolečina, izguba mišične moči in/ali otekanje prizadetega uda (1). Tudi mesto okužbe je podobno in v več kot 60 % prizadene stegnenico, golenico ali mečnico (1). Obdobje povišane telesne temperature je daljše, osteomielitis je umeščen na eni ali več kosteh, pogosteje so prisotni subperiostalni abscesi, multipli kostni abscesi ter pridružena miozitis ali piomiozitis. Vnetni kazalniki v krvi (SR, CRP) so v akutni fazi višji in potrebujejo več časa, da se normalizirajo. Hemokultura je večinoma pozitivna (1). Bolniki pogosteje potrebujejo zdravljenje v enoti intenzivne nege ali terapije (6).

Pri osteomielitisu, povzročeni s PVL SA, se kot posledica hematogenega razsoja pojavljajo sistemski zapleti, kot so trdovratna sepsa in septični šok, večžariščne okužbe, infekcijski endokarditis, septične tromboze, rabdomioliza in akutna ledvična odpoved (1).

Pomemben zaplet osteomielitisa, povzročene s PVL SA, je nekrotizirajoča pljučnica. Najverjetneje je povezana z GVT, ob kateri pride do septičnih embolov v pljuča (1). Ima zelo slabo napoved izida in se konča s smrtjo v kar 75,8 % primerov (1, 7). GVT se kot zaplet pri osteomielitidih, povzročeni s PVL SA, pri otrocih razvije v 9 % primerov. Večorganska odpoved s smrtjo je bolj značilna pri odraslih bolnikih (8).

Diagnosticiranje okužbe s PVL SA

Na osnovi anamneze, klinične slike in laboratorijskih preiskav, sum na oste-

omielitis, povzročen s PVL SA, potrdimo s slikovnimi in mikrobiološkimi preiskavami. V laboratorijskih preiskavah so močno povišane vrednosti kazalnikov vnetja (CRP, prokalcitonin in SR). Levkociti so lahko povišani ali znižani. Od slikovnih preiskav ima največjo diagnostično vrednost MRI, ki je najbolj občutljiva (88–100 %) in specifična (75–100 %) preiskava za postavitev diagnoze akutni osteomielitis. Z njo ugotovimo obsežnost vnetnih sprememb v kosti, prisotnost abscesa, edem kostnega mozga in prizadetost mehkih tkiv v okolici (9). Pri sumu na pljučno embolijo ali pljučnico je potrebno rentgensko slikanje prsnih organov, pri sumu na GVT dopplerska ultrazvočna venografija (1). Scintigrafijo s tehnejcem izvajamo pri diagnosticiranju morebitnih oddaljenih abscesov (2).

Pred uvedbo antibiotičnega zdravljenja moramo vedno odvzeti kužnine. Hemokulture so pogosto pozitivne. Z igelno biopsijo kosti, subperiostalnega abscesa ali sklepne tekočine mikroorganizem osamimo v 80 % (1). PVL toksin dokažemo z odkrivanjem PVL genov bakterije z verižno reakcijo s polimerazo (PCR) ali z odkrivanjem komponent samega toksina s testi ELISA (*angl.* enzyme-linked immunosorbent assay) in ICT (*angl.* immunochromatographic test) (3, 6).

Zdravljenje

Osnovi zdravljenja PVL pozitivnih osteomielitidov sta ustrezno antibiotično zdravljenje in zadostna kirurška oskrba.

Glede na podatke iz literature je skoraj vedno potrebna kirurška oskrba (odstranitev gnoja in poškodovanega področja kostnine z drenažo), pogosto večkrat (1, 6). Veliki defekti, ki so nastali pri obsežni odstranitvi mrtvine, se prekrivajo z dobro prekrvljenim mehkim tkivom, najpogosteje z mišičnim tkivom (npr. m. gastrocnemius) (1).

Zdravilo izbire za zdravljenje osteomielitisa, povzročene s SA, je fluklo-

ksacilin parenteralno v odmerku 200 mg/kg/dan v štirih dnevni odmerkih (10). Okužbe kosti, povzročene z MRSA, so v Sloveniji pri otrocih zelo redke in jih zdravimo z antibiotiki, za katere je MRSA občutljiva (npr. z vankomicinom) (1). Slovenskih priporočil za zdravljenje okužb kosti, povzročeni s PVL SA, nimamo, angleška priporočila za zdravljenje teh okužb pa priporočajo uporabo antibiotikov, ki zmanjšujejo tvorbo PVL, kot so klindamicin, rifampicin, linezolid in fusidna kislina (11):

1. Osteomielitis, povzročen z MSSA, ki izloča PVL: zdravimo s **klindamicinom v kombinaciji z rifampicinom ali linezolidom** (linezolid največ 28 dni).

2. Osteomielitis, pri katerem sumimo na okužbo s PVL SA in občutljivost za antibiotike ni znana, zdravimo kot osteomielitis, povzročen z MRSA, ki izloča PVL:

- antibiotiki prve izbire: **teikoplanin ali vankomicin plus gentamicin ali rifampicin ali natrijev fusidat**;
- antibiotiki druge izbire: **linezolid ali daptomicin ali tigeciklin** (2).

Ko se klinična slika izboljša, vrednosti vnetnih kazalnikov pa zmanjšajo, nadaljujemo s peroralnim antibiotičnim zdravljenjem (2).

Pri otrocih z resnimi zapleti, kot sta pljučnica ali sepsa, priporočamo zdravljenje z intravenskimi imunoglobulini (IVIG) (2).

Pri našem otroku je bilo že na začetku bolezni na podlagi klinične slike, laboratorijskih in mikrobioloških preiskav ter slikovnega diagnosticiranja jasno, da gre za osteomielitis povzročen s SA, ki je, gledano v celoti, najbolj pogost povzročitelj osteomielitidov pri otrocih. Uvedli smo zdravljenje s protistafilokoknim penicilinom. Zaradi agresivnega poteka, poslabšanja klinične slike, porasta vrednosti vnetnih kazalnikov, pojava novih abscesov v kosti in potrebe po operativnem posegu ob antibiotičnem zdravljenju smo posumili na sev SA, ki izloča PVL,

kar smo dokazali z dodatnim testiranjem. Kloksacilin smo zamenjali s klindamicinom in rifampicinom, kar je hitro privedlo do kliničnega in laboratorijskega izboljšanja. Po končanem parenteralnem zdravljenju s klindamicinom in rifampicinom, smo po smernicah nadaljevali zdravljenje s klindamicinom per os (2). Iz peroralnega zdravljenja smo zaradi nastale levkopenije izključili rifampicin (7). Po priporočilih smo otroka naročali na redne kontrolne preglede zaradi možnosti ponovitev in poznih zapletov, do katerih pa ni prišlo (1).

Zaradi omenjenega kliničnega primera smo postali bolj pozorni na možnost okužbe s PVL SA, kar bo v prihodnje pri otrocih, zdravljenih v UKC Maribor, lahko prispevalo k večji ozaveščenosti ter s tem hitrejši postavitvi ustrezne diagnoze in ustreznemu zdravljenju, ki se zaradi biologije povzročitelja pomembno razlikuje od zdravljenja osteomielitisa, povzročene s SA, ki ne izloča PVL. Ob pravočasnem diagnosticiranju in ustreznem antibiotičnem in kirurškem zdravljenju se skrajša trajanje povišane telesne temperature, zmanjša potreba po operativnih posegih, skrajša trajanje hospitalizacije ter zmanjša število akutnih in kroničnih zapletov ob prebolevanju PVL SA osteomielitisa (1).

Zaključek

Pojavnost osteomielitisov, povzročениh s PVL SA, se povečuje. Od okužb s SA, ki ne izloča PVL, se razlikujejo po hitrejšem in težjem poteku bolezni, ki zahteva daljše bolnišnično zdravljenje ter zapušča več akutnih in kroničnih posledic. Zaradi obsežne destrukcije tkiva je tudi zdravljenje drugačno in vključuje operativno zdravljenje (drenažo in čiščenje abscesov) ter zdravljenje z antibiotiki, ki preprečujejo izločanje PVL. Zaradi pogostih recidivov je po končanem zdravljenju potrebno dolgotrajno spremljanje.

Literatura

1. Sheikh HQ, Aqil A, Kirby A et al. Pantone-Valentine leukocidin osteomyelitis in children: a growing threat. *Br J Hosp Med (Lond)*. 2015;76(1):18-24. Dosegljivo na: http://eprints.whiterose.ac.uk/84197/3/PVL_Orthopaedics.pdf.
2. Mani-Saada J. Guidance on the diagnosis and management of PVL-associated Staphylococcus aureus infections (PVL-SA) in England, 2nd Edition. London: Health Protection Agency; 2008.
3. Badiou C et al. Rapid Detection of Staphylococcus aureus Pantone-Valentine Leukocidin in Clinical Specimens by Enzyme-Linked Immunosorbent Assay and Immunochromatographic Tests. *J Clin Microbiol*. 2010;48(4):1384-90. Dosegljivo na: <https://jcm.asm.org/content/48/4/1384.short>.
4. Genestier AL et al. Staphylococcus aureus Pantone-Valentine leukocidin directly targets mitochondria and induces Bax-independent apoptosis of human neutrophils. *J Clin Invest*. 2005; 115(11):3117-27. Dosegljivo na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16276417>.
5. Shallcross LJ et al. The role of the Pantone-Valentine leukocidin toxin in staphylococcal disease: a systematic review and meta-analysis. *Lancet Infect Dis*. 2013 Jan;13(1):43-54. Dosegljivo na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3530297/>.
6. Bocchini CE et al. Pantone-Valentine Leukocidin Genes Are Associated With Enhanced Inflammatory Response and Local Disease in Acute Hematogenous Staphylococcus aureus Osteomyelitis in Children. *Pediatrics*. 2006 Feb;117(2):433-40. Dosegljivo na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/16452363>.
7. Khanafer N. Severe leukopenia in Staphylococcus aureus-necrotizing, community-acquired pneumonia: risk factors and impact on survival. *BMC Infect Dis*. 2013 Aug 1; 13:359. Dosegljivo na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3750359/>.
8. Rafai M et al. Evolution of a fatal septic arthritis caused by a Pantone-Valentine leukocidin (PVL)-producing Staphylococcus aureus strain. *Joint Bone Spine*. 2013 Oct; 80(5):525-7. Dosegljivo na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/23835306>.
9. Vogrin M. Otrok v ortopediji: interdisciplinarno strokovno srečanje in učne delavnice: zbornik vabljenih predavanj / V. mariborsko ortopedsko srečanje. Maribor: Univerzitetni klinični center Maribor, Oddelek za ortopedijo in Medicinska fakulteta Univerze v Mariboru 2009: 63-76. Dosegljivo na: http://www.ortopedija-mb.si/otrok_2009.pdf.
10. Čizman M., Beović B. Kako predpisujemo protimikrobna zdravila v bolnišnicah 2. dopolnjena izd. Ljubljana: Sekcija za protimikrobno zdravljenje Slovenskega zdravniškega društva; 2013.
11. Dumitrescu O, Badiou C, Bes M, Reverdy ME, Vandenesch F, Etienne J, Lina G. Effect of antibiotics, alone and in combination, on Pantone-Valentine leukocidin production by a Staphylococcus aureus reference strain. *Clin Microbiol Infect*. 2008 Apr;14(4):384-8. Dosegljivo na: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/18261123>.

Ana Perišič, dr. med. (kontaktna oseba / contact person)

Zdravstveni dom Ljutomer, Cesta I. slovenskega tabora 2, 9240 Ljutomer, Slovenija
e-naslov: dranagerisic@gmail.com

asist. Milena Senica Verbič, dr. med.

Otroška kirurgija, Univerzitetni klinični center Maribor Maribor, Slovenija
Medicinska fakulteta Maribor, Univerza v Mariboru, Maribor, Slovenija

Silvo Franci Lipovšek, dr. med.

Otroška kirurgija, Univerzitetni klinični center Maribor Maribor, Slovenija

prispelo / received: 5. 8. 2019
sprejeto / accepted: 29. 9. 2019