

# Postępowanie diagnostyczne w przypadku podejrzenia melioidozy skórnej po powrocie z Azji Południowo-Wschodniej. Istotna wartość szybkich badań molekularnych (RT-PCR)

Józef Piotr Knap<sup>1,4,A,B,C,D,E,F</sup>

ORCID: 0000-0002-8595-6657

Piotr Cieślik<sup>2,B,C</sup>

ORCID: 0009-0002-6638-0037

Agata Bielawska-Drózd<sup>2,3,B,C,D</sup>

ORCID: 0000-0002-7713-6657

Michał Bartoszcze<sup>2,B,C,E</sup>

ORCID: 0000-0002-6939-4975

<sup>1</sup> Warszawski Uniwersytet Medyczny, Zakład Epidemiologii i Biostatystyki, Warszawa; <sup>2</sup> Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii im. gen. K. Kaczkowskiego w Warszawie, Ośrodek Diagnostyki i Zwalczania Zagrożeń Biologicznych w Puławach; <sup>3</sup> 1 Wojskowy Szpital Kliniczny w Lublinie; <sup>4</sup> Centrum Medyczne LUX MED w Warszawie, Poradnia Chorób Tropikalnych i Medycyny Podróży

A – koncepcja i projekt badań, B – gromadzenie danych, C – analiza i interpretacja danych, D – pisanie artykułu, E – krytyczna korekta artykułu, F – ostateczne zatwierdzenie artykułu

DOI: 10.26399/rmp.v30.4.2024/j.p.knap/p.cieslik/a.bielawska-drozd/m.bartoszcze



## STRESZCZENIE

**Postępowanie diagnostyczne w przypadku podejrzenia melioidozy skórnej po powrocie z Azji Południowo-Wschodniej. Istotna wartość szybkich badań molekularnych (RT-PCR)**

**Knap J.P.<sup>1,4</sup>, Cieślik P.<sup>2</sup>, Bielawska-Drózd A.<sup>2,3</sup>, Bartoszcze M.<sup>2,B,C,E</sup>**

<sup>1</sup> Warszawski Uniwersytet Medyczny, Zakład Epidemiologii i Biostatystyki, Warszawa; <sup>2</sup> Wojskowy Instytut Higieny i Epidemiologii im. gen. K. Kaczkowskiego w Warszawie, Ośrodek Diagnostyki i Zwalczania Zagrożeń Biologicznych w Puławach; <sup>3</sup> 1 Wojskowy Szpital Kliniczny w Lublinie; <sup>4</sup> Centrum Medyczne LUX MED w Warszawie, Poradnia Chorób Tropikalnych i Medycyny Podróży

Prezentujemy przypadek 28-letniej chorej, u której po odbyciu miesięcznej podróży do Azji Południowo-Wschodniej pojawiły się zmiany skórne ropno-rumieniowe o wysokim podobieństwie do melioidozy: epidemiologicznym (intensywna turystyka na terenach hiperendemii i częstość przywlekania tej egzotycznej choroby do Europy), klinicznym i mikrobiologicznym (*Pseudomonas luteola* w rutynowym posiewie ze zmian chorobowych). Wobec tego podejrzenia sięgnięto po badania molekularne; wypadły one ujemnie w kierunku *Burkholderia pseudomallei* i *B. mallei*. Omówiono schemat i przesłanki postępowania diagnostycznego, niezbędnego w przypadku podejrzenia szczególnie niebezpiecznej choroby egzotycznej.

**Słowa kluczowe:** melioidoza, trudności diagnostyczne, wartość badań molekularnych

## ABSTRACT

**Diagnostic Procedures in the Case of Strong Suspicion of Dermal Melioidosis Imported from South-Eastern Asia. Essential Value of Rapid Molecular Procedures (RT-PCR)**

**Knap J.P.<sup>1,4</sup>, Cieślik P.<sup>2</sup>, Bielawska-Drózd A.<sup>2,3</sup>, Bartoszcze M.<sup>2,B,C,E</sup>**

<sup>1</sup> Warsaw's Medical University, Department of Epidemiology and Biostatistic, Warsaw, Poland; <sup>2</sup> Biologic Threat Identification and Countermeasures Centre of Military Institute of Hygiene and Epidemiology, Puławy, Poland; <sup>3</sup> 1 Military Clinical Hospital in Lublin, Poland; <sup>4</sup> Medical Center LUX MED in Warsaw, Outpatient Clinic for Tropical Diseases and Travel Medicine, Warsaw, Poland

A case of strong suspicion (epidemiological, clinical, and bacteriological – isolation of *Pseudomonas* sp. from erythematous-pustular dermal lesions) of melioidosis is presented in 28-year-old woman, who spent month in South-Eastern Asia in intensive environmental contact. Rapid molecular diagnosis, using RT-PCR, was negative for *Burkholderia pseudomallei* and *B. mallei*. Despite the negative result, this case is presented as a pattern of diagnostic procedures in case of possibility of this particularly dangerous exotic disease.

**Keywords:** melioidosis, diagnostic difficulties, value of molecular testing

## Wstęp

W Polsce, w przeciwieństwie do wielu krajów Europy i świata [1, 2], nie opisano dotąd importowanego przypadku melioidozy, jednej z najgroźniejszych chorób bakteryjnych, występującej ze szczególną częstością w krajach Azji Południowo-Wschodniej (np. Tajlandia) i nabywanej zwykle przez kontakt z zakażonym środowiskiem (woda, gleba i jej pył).

## Opis przypadku

Polka, lat 28, nigdy dotąd nie odwiedzająca tropików, odbyła w drugiej połowie października i listopadzie 2015 r. miesięczną podróż do Azji Południowo-Wschodniej (kolejno: Malezja, Tajlandia – wyspa Pucket i podróż lądowa do Kambodży, Indonezja – głównie wyspa Bali). Przed wyjazdem szczepiona na WZW A i B, tężec i błonicę oraz dur brzuszny. Nie stosowała chemioprophylaktyki przeciw malarii: lekarz poradni medycyny podróży (spoza ośrodków, w których pracują autorzy) odradził stosowanie profilaktyki przy użyciu preparatu Malarone (połączenie atowakwonu z proguanilem) (?!). W trakcie dwuosobowej podróży korzystała z różnych środków transportu: samolot, prom, kolej, lokalne taksówki i wynajęte samochody terenowe. W wywiadzie zgłasza jazdę po lokalnych drogach Azji, w kurzu, np. przy pchaniu samochodu. W trakcie pobytu czuła się dobrze, nie miała stanów gorączkowych ani biegunek. W końcowym okresie podróży na dole pleców zaczęły pojawiać się zmiany o charakterze grudkowym (ryc. 1), które stopniowo nasilały się i przybrały charakter licznych krost na podstawie rumieniowej, zaś obszar za-

jęty tymi zmianami rozszerzył się na pośladki. Obraz po 3 tygodniach od pojawienia się pierwszych zmian skórnych, modyfikowany skuteczną antybiotykoterapią, przedstawia rycina 2. Nadal nie gorączkowała.

Powróciła do kraju pod koniec listopada 2015 r. W wywiadzie ze zmiany ropnej na pośladku (27.12.2015 r.) z hodowli namnażającej po wykonaniu badań biochemicznych izolowano *Pseudomonas luteola* wrażliwe na piperacylinę, ceftazydym, gentamycynę, amikacynę, tobramycynę, ciprofloksacynę, odporne na tikarcylinę antybiogram zgodnie z wytycznymi EUCAST, wersja 5.0 z 2015 r. i rekomendacjami KORLD (badanie w Laboratorium Synevo, Warszawa, autoryzacja: mgr Magdalena Chefczyńska). Całokształt obrazu klinicznego, wywiad epidemiologiczny oraz izolacja z nasilonych wrzodzących krost *Pseudomonas sp.*, silnie przemawiały za podejrzeniem melioidozy (choroby Whitemore'a).

W ośrodku w Puławach 29.12.2015 r. wykonano zeskrobiny ze strupów lewego pośladka. Materiał ten posiano na płytki odżywcze TSA (Tryptic Soy Agar) oraz Columbia Agar (oba podłoża firmy Graso Biotech, Starogard Gdański) i inkubowano w temperaturze 37°C przez 48 godzin. W hodowli stwierdzono wzrost *Pseudomonas sp.* na podstawie uzupełniającej analizy biochemicznej uzyskanego szczepu. Lekowrażliwość oznaczono metodą krążkową na agarze Mullera–Hintona; wykazano wrażliwość na 6 antybiotyków, jak w poprzednim badaniu, i oporność na tikarcylinę. Badany materiał poddano również analizie molekularnej metodą RT-PCR (real-time PCR), czyli polimerazowej reakcji łańcuchowej w czasie rzeczywistym, przy pomocy termocyklera FilmArray (BioFire



Rycina 1. Zmiany skórne wkrótce po przyjeździe do kraju



Rycina 2. Zmiany skórne po 3 tygodniach leczenia antybiotykami

Diagnosics, Utah, USA) z zastosowaniem zestawu FilmArray BioThreat (BioFire Diagnostics, USA) w kierunku diagnostyki zakażenia *Burkholderia mallei* (nosacizna) i *B. pseudomallei* (melioidoza). Nie stwierdzono obecności materiału genetycznego żadnego z czynników panelu, wliczając *B. mallei* i *B. pseudomallei*. Dalsza obserwacja wykazała powrót do zdrowia chorej.

## Omówienie

O wysunięciu uzasadnionego i bardzo poważnego, naszym zdaniem, podejrzenia melioidozy z objawami skórnymi zdecydowały następujące elementy:

1. Obraz zmian skórnych u osoby po powrocie z miesięcznej podróży w bliskim kontakcie (wdychanie pyłu) ze środowiskiem wiejskich rejonów hiperendemii choroby (Malezja, a zwłaszcza północno-wschodnia Tajlandia i Kambodża);
2. Dwukrotne wyhodowanie ze zmian ropnych *Pseudomonas luteola* i *Pseudomonas sp.* o tym samym profilu lekooporności na tetracyklinę i wrażliwości na pozostałe 6 antybiotyków, sugerujące identyczność szczepu. Pałeczka *Pseudomonas luteola* jest bakterią o potwierdzonej, lecz stosunkowo nieznacznej patogenności dla człowieka. Hodowano ją na przykład ze zmian na skórze twarzy o charakterze *cellulitis* [3] u dotychczas zdrowej osoby, a także z owrzodzenia podudzi u chorego z drepanocytózą (niedokrwistość sierpowatokrwinkowa) [4]. Izolacja uzyskanego w hodowli szczepu wykazującego cechy biochemiczne zbliżone do *Pseudomonas luteola* mogła więc – w naszym przypadku – nasuwać podejrzenie, że chodzi w istocie o *Burkholderia pseudomallei*. Przez wiele bowiem lat do dużego rodzaju *Pseudomonas* zaliczano zarówno pałeczkę melioidozy, jak i nosacizny ze względu na podobieństwo morfologiczne i biochemiczne przy zastosowaniu klasycznej („mokrej”) bakteriologii. Dopiero postęp genetyki molekularnej spowodował przeniesienie w roku 1992 7 gatunków – w tym wywołujących nosaciznę i melioidozę – do nowo utworzonego rodzaju [5] (rodzina *Burkholderiaceae*, rząd *Burkholderiales*), który z czasem znacznie się poszerzył. Jeden z najwybitniejszych znawców melioidozy, Bart J. Currie z Darwin w północnej Australii, napisał: „Mimo iż *Burkholderia* łatwo wzrasta na komercyjnie dostępnych pożywkach służących do posiewów krwi, nie jest niczym niezwykłym – zwłaszcza w laboratoriach poza strefami endemii – błędna identyfikacja izolatów jako *Pseudomonas sp.*, zwłaszcza iż wiele handlowych systemów identyfikacji nie umożliwia identyfikacji *Burkholderia pseudomallei*” [6], potwierdzając w ten sposób podobne spostrzeżenia Lowe’a i in. [7]. Mając powyższe na uwadze, wobec wysoce prawdopodob-

nego podejrzenia klinicznego i epidemiologicznego melioidozy oraz niewystarczającej do postawienia ostatecznej diagnozy możliwości bakteriologii klasycznej, sięgnięto od razu do możliwości genetyki molekularnej. Tylko ona pozwoliła na szybkie i prawdopodobne, choć nie definitywne, wykluczenie melioidozy (badanie wykonano jednokrotnie, po 2 miesiącach antybiotykoterapii i przy ustępowaniu zmian) – choroby, której potwierdzenie oznaczałoby doraźne zagrożenie życia chorej, ale i stwarzałoby niebezpieczeństwo jej transmisji na otoczenie.

Rozpoznanie importowanej (przywlekanej) melioidozy w krajach, gdzie nie występuje ona endemicznie (jak Europa i Ameryka Północna), jest bardzo trudne; jest wręcz „wyzwaniem diagnostycznym” (*diagnostic challenge*), wedle bardzo trafnego określenia duńskich autorów, którzy takiemu wyzwaniu sprościli, opisując 5 chorych [8]. Na trudność taką składają się głównie: bogactwo obrazu klinicznego choroby (nazywanego „wielkim imitatorem”) i znaczna skala ciężkości przebiegu, bardzo zróżnicowany (aż do kilkudziesięcioletniego) okres jej wylegania oraz fakt, że dla większości lekarzy europejskich hasło „melioidoza” jest całkowitą abstrakcją. Pierwszy przypadek rozpoznano w Danii w roku 1982 [9]. W kolejnych latach liczba przywlekanych przypadków zaczęła narastać, głównie w Skandynawii. W ostatniej dekadzie izolowano *Burkholderia pseudomallei* od 49 chorych w Europie [10], w tym w Wielkiej Brytanii melioidozę zdiagnozowano u 33 chorych. W okresie tym przywlekane przypadki rozpoznawano w Danii [8, 9], Holandii [11], Norwegii [12], Szwecji [13], Finlandii [9, 14] i Francji [15]. Metaanaliza przypadków przywleczonych w latach 1985–2018 do Holandii ujawniła 33 chorych. Zmarły 4 osoby (12%), zaś w autopsji stwierdzano liczne ropnie wielu narządów [11]. Podobna metaanaliza wykazała, że w latach od 2000 do listopada 2019 roku do Europy przywleczono 77 przypadków melioidozy [1]. Według metaanalizy z roku 2023, dotyczącej skali świata, do różnych krajów i kontynentów przywleczono 177 przypadków choroby, z tego 77% z Azji, w tym 41 z Tajlandii, 25% pacjentów chorowało na cukrzycę [2]. W Polsce nie opisano dotąd importowanego przypadku melioidozy, jednak w roku 2020 na blogu dra med. Dariusza Mamczura, opisującym przypadki trudne diagnostycznie, autor opisał bardzo podobny do naszego przypadek zachorowania po powrocie z Tajlandii, gdzie młoda osoba uprawiała turystykę w bliskim kontakcie ze środowiskiem. Wystąpiła u niej gorączka, zmiany skórne, bóle mięśniowo-kostne, czasowe ustąpienie objawów w okresie podawania Azytromycyny. Autor blogu podejrzewał melioidozę, jednak – mimo intensywnych poszukiwań – nie natrafił w kraju na możliwości jej diagnostyki [16].

Badania molekularne nie potwierdziły w naszym przypadku bardzo uzasadnionego epidemiologicznie, bakteriologicznie i klinicznie podejrzenia melioidozy, lecz – wykonane po 2 miesiącach choroby i skutecznej antybiotykoterapii – także nie wykluczyły diagnozy. Były jednak, naszym zdaniem, niezbędne w przedstawionej sytuacji nasilonego przywlekania tej choroby do Europy. Stały się ponadto praktycznym sprawdzianem postępowania diagnostycznego choroby egzotycznej niewystępującej w kraju. Potwierdziły ponadto konieczność istnienia w Polsce zarówno ośrodków klinicznych o udokumentowanym doświadczeniu lekarzy oraz referencyjnych ośrodków diagnostyki laboratoryjnej chorób rzadkich i wysoce niebezpiecznych chorób importowanych (takich jak ośrodek WIHE w Puławach), mających możliwości szybkiego, opartego o metody genetyki molekularnej, bezpiecznego dla wysoce wykwalifikowanego personelu (poziom bezpieczeństwa BSL-3) rozpoznania chorób egzotycznych, w tym szczególnie niebezpiecznych.

## Piśmiennictwo

1. Le Tohic S., Montana M., Koch L. i in.: A review of melioidosis cases imported into Europe. *Eur J Clin Microb Infect Dis* 2019; 38(8): 1395-1408.
2. Norman F.F., Chen L.L.: Travel-associated melioidosis: a narrative review. *J Travel Med* 2023; 30(3).
3. Tsakris A., Hassapoulou H., Skoura I. i in.: Leg ulcer due to *Pseudomonas luteola* in a patient with sickle cell disease. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2002; 42: 141-143.
4. Rastogi S., Sperber S.J.: Facial cellulitis and *Pseudomonas luteola* bacteremia in an otherwise healthy patient. *Diagn Microbiol Infect Dis* 1998; 32: 303-305.
5. Yabuuchi E., Kosako Y., Oyaizu H. i in.: Proposal of *Burkholderia* gen. nov. and transfer of seven species of the genus *Pseudomonas* homology group II to the new genus, with the type species *Burkholderia cepacia* (Pelleroni et Holmes 1981) comb. nov. *Microbiol Immunol* 1992; 36(12): 1251-1275.
6. Currie B.J.: *Burkholderia pseudomallei* and *Burkholderia mallei*: Melioidosis and glanders. W: Mandell D., Bennett J.E., Dolin R., red. *Bennett's Principles and Practice of Infectious Diseases*. Philadelphia: Churchill Livingstone Elsevier; 2010. 2869-2879.
7. Lowe P., Engler C., Norton R.: Comparison of automated and nonautomated systems for identification of *Burkholderia pseudomallei*. *J Clin Microbiol* 2002; 40: 4625-4627.
8. Badran S., Pedersen T.J., Roed C. i in.: Imported melioidosis in Danish travelers: a diagnostic challenge. *Scand J Infect Dis* 2010; 42(6-7): 445-449.
9. Bremmelgaard L., Bygbjerg I., Hoiby N.: Microbiological and immunological studies in a case of human melioidosis diagnosed in Denmark. *Scand J Infect Dis* 1982; 14: 271-275.
10. Perumal Samy R., Stiles B.G., Sethi G. i in.: Melioidosis: clinical impact and public health threat in the tropics. *PLoS Negl Trop Dis* 2017; 11(5): e0004738.
11. Birnie E., Savelkoel J., Reubsaet F. i in.: Melioidosis in travellers: an analysis of Dutch melioidosis date 1985–2018. *Travel Med Infect Dis* 2019; 32: 101461.
12. Hesstvedt L., Wilhelmsen M., Mengshoel A.T. i in.: Two Norwegian patients with melioidosis presenting with bacteraemia and splenic and prostatic abscesses. *J Travel Med* 2011; 18(6): 418-421.
13. Svensson N., Weiland-Ollson C., Classon B.A. i in.: Cutaneous melioidosis in a Swedish tourist after the tsunami in 2004. *Scand J Infect Dis* 2006; 38: 71-74.
14. Nieminen T., Vara M.: *Burkholderia pseudomallei* infections in Finnish tourist injured by the December 2004 tsunami in Thailand. *Euro Surveillance* 2005; 10: E050303.4.
15. Gauthier J., Gerome P., Defez M. i in.: Melioidosis in travellers returning from Vietnam to France. *Emerg Infect Dis* 2016; 22(9): 1671-1673.
16. Dr Mamczur (pseud.): Poważna choroba z Tajlandii. <https://www.dr-mamczur.pl>blog>. (dostęp 13.11.2020).
17. Carlson P., Seppanen M.: Melioidosis presenting as urinary tract infection, in previously healthy tourist. *Scand J Infect Dis* 2000; 32(1): 92-93.
18. Holmes B., Steigerwalt A.G., Weaver R.E. i in.: *Chryseomonas luteola* comb. nov. and *Flavimonas oryzihabitans* gen. nov. comb. nov. *Pseudomonas*-like species from human clinical specimens and formerly known, respectively, as groups Ve-1 and Ve-2. *Intern J Systemic Bacteriol* 1987; 37: 245-250.

## Podziękowanie

Autorzy dziękują Pani dyrektor dr Małgorzacie Zwolińskiej-Praga z Centrum Medycznego LUX MED za wyrażenie zgody na opublikowanie przypadku.

Autorzy nie zgłaszają konfliktu interesów.

## Adres do korespondencji:

Józef Knap  
e-mail: panknap1@gmail.com