

# Analiza nosicielstwa patogenów alarmowych zawlekanych do Polski przez żołnierzy stacjonujących w Afganistanie i Kuwejcie

Carriage rate analysis of alert pathogens imported to Poland by soldiers deployed to Afghanistan and Kuwait

**Monika Konior, Krzysztof Korzeniewski**

Zakład Epidemiologii i Medycyny Tropikalnej w Gdyni, Wojskowy Instytut Medyczny w Warszawie;  
kierownik: płk prof. dr hab. med. Krzysztof Korzeniewski

**Streszczenie.** Cel. W pracy dokonano charakterystyki nosicielstwa patogenów alarmowych przenoszonych drogą pokarmową, zawlekanych do kraju przez polskich żołnierzy stacjonujących w Azji Centralnej i na Bliskim Wschodzie. Materiał i metody. Materiał biologiczny (kał na podłożu transportowym) został pobrany w 2018 r. od 441 żołnierzy PKW Afganistan oraz 76 żołnierzy PKW Kuwejt, a następnie zbadany w Polsce w kierunku nosicielstwa pałeczek jelitowych z rodziny *Enterobacteriaceae* i niefermentujących, ziarenkowców MRSA oraz VRE. Wyniki. Wśród żołnierzy PKW Afganistan nosicielstwo *Escherichia coli* z mechanizmem oporności ESBL wykryto aż u 308 osób, nosicielstwo *Klebsiella pneumoniae* z mechanizmem oporności ESBL u 2 osób, nosicielstwo *Enterobacter cloacae* z mechanizmem oporności ESBL u 1 osoby i KPC u 2 osób oraz *Citrobacter brakii* u 1 osoby. Wśród żołnierzy PKW Kuwejt nosicielstwo *Escherichia coli* z mechanizmem oporności ESBL wykryto u 30 osób, *Klebsiella pneumoniae* z mechanizmem ESBL u 3 osób oraz nosicielstwo *Enterobacter cloacae* z mechanizmem oporności KPC u 2 osób. Wnioski. Wysokie wskaźniki nosicielstwa patogenów alarmowych przenoszonych drogą pokarmową występujących u polskich żołnierzy stacjonujących w Afganistanie i Kuwejcie uzasadniają konieczność rozszerzenia panelu badań przesiewowych wykonywanych po powrocie ze służby poza granicami państwa.

**Słowa kluczowe:** patogeny alarmowe, nosicielstwo, żołnierze, Polskie Kontyngenty Wojskowe

**Abstract.** Aim. The article discusses carriage rates of alert pathogens transmitted via the fecal-oral route and brought from foreign countries to Poland by soldiers deployed to Central Asia and the Middle East. Material and methods. The biological material (i.e. stool samples preserved in a transport medium) was collected from 441 soldiers serving in the PMC Afghanistan and 76 soldiers serving in the PMC Kuwait in 2018, and then tested in Poland for the presence of intestinal bacilli of the *Enterobacteriaceae* genus, non-fermenting intestinal bacilli, MRSA cocci and VRE. Results. In the PMC Afghanistan soldiers, ESBL *Escherichia coli* presence was identified in as many as 308 soldiers, ESBL *Klebsiella pneumoniae* in 2, ESBL *Enterobacter cloacae* in 1, KPC *Enterobacter cloacae* in 2 and *Citrobacter brakii* in 1 individual. Among soldiers serving in the PMC Kuwait, ESBL *Escherichia coli* presence was detected in 30, ESBL *Klebsiella pneumoniae* in 3 and KPC *Enterobacter cloacae* in 2 individuals. Conclusions. High carriage rates of the alert pathogens transmitted via the fecal-oral route in soldiers deployed on military operations to Afghanistan and Kuwait justify the necessity to extend the range of screening tests conducted on returning from an overseas mission.

**Key words:** alert pathogens, carriage, Polish Military Contingents, soldiers

Nadesłano: 25.06.2020. Przyjęto do druku: 18.09.2020  
Nie zgłoszono sprzeczności interesów.  
Lek. Wojsk., 2020; 98 (4): 233–236  
Copyright by Wojskowy Instytut Medyczny

**Adres do korespondencji**

płk prof. dr hab. med. Krzysztof Korzeniewski  
Zakład Epidemiologii i Medycyny Tropikalnej WIM  
ul. Grudzińskiego 4, 81-103 Gdynia  
e-mail: kkorzeniewski@wim.mil.pl

## Wstęp

Żołnierze są jedną z największych grup zawodowych Polaków przebywających przez wiele miesięcy w uciążliwych warunkach środowiskowych strefy klimatu gorącego. Polskie Kontyngenty Wojskowe są rozlokowane m.in. w Afganistanie i Iraku, gdzie prowadzone w ostatnich latach badania wśród ludności miejscowej oraz populacji napływowej (żołnierze Sił Zbrojnych USA) wykazują występowanie nosicielstwa patogenów alarmowych przenoszonych drogą pokarmową. Łatwość przenoszenia zakażeń fekalno-oralnych poprzez korzystanie z miejsc użyteczności publicznej (toalety, stołówki, restauracje) w bazach wojskowych oraz w naturalnym środowisku ludności miejscowej krajów gorącej strefy klimatycznej, a następnie ich zawlekanie przez ludność napływową do swoich krajów macierzystych, jest poważnym wyzwaniem dla epidemiologów, mikrobiologów oraz specjalistów zdrowia publicznego. Aktualnie do najgroźniejszych patogenów przenoszonych drogą pokarmową należą pałeczki jelitowe wytwarzające karbapenemazy (zakażenia prowadzą często do braku możliwości terapeutycznych), głównie z rodziny *Enterobacteriaceae*, a także pałeczki niefermentujące wytwarzające karbapenemazy: klasy A – enzymy z rodziny KPC (*Klebsiella pneumoniae carbapenemase*), klasy B – MBL (*metallo-β-lactamases*), do których należy NDM (*New Delhi metallo-β-lactamases*), klasy D – OXA-48 (*oxacillinase*). Wśród pałeczek jelitowych należących do patogenów alarmowych są również pałeczki wytwarzające β-laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (*extended-spectrum-β-lactamases* – ESBL). W grupie ziarenkowców patogenem alarmowym są enterokoki wankomycynooporne (*vancomycin-resistant Enterococcus* – VRE). Najwięcej nosicieli patogenów alarmowych zamieszkuje Azję i Afrykę, gdzie nosicielstwo może sięgać nawet 46% populacji (w Europie wynosi 3–6% z coroczną tendencją wzrostową, a w obu Amerykach ok. 2%).[1,2] Sytuację epidemiologiczną dotyczącą patogenów alarmowych w Polsce monitoruje Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów. Największy problem dotyczący lekooporności w naszym kraju stwarza mechanizm NDM, który stanowił 53,7% wszystkich przypadków kolonizacji pacjentów zgłoszonych w latach 2011–2016. Większość wyizolowanych szczepów pochodzi od osób podróżujących do krajów Trzeciego Świata, a także od hospitalizowanych pacjentów.[3]

Celem pracy była charakterystyka nosicielstwa patogenów alarmowych przenoszonych drogą pokarmową u żołnierzy Polskich Kontyngentów Wojskowych stacjonujących w Azji Centralnej (Afganistan) i na Bliskim Wschodzie (Kuwejt) w kontekście zawlekania zakażeń do kraju macierzystego.

## Materiały i metody

### Grupa badana

Osobami zakwalifikowanymi do badań byli żołnierze obojga płci w przedziale wiekowym 23–59 lat, stacjonujący w Polskich Kontyngentach Wojskowych w Azji Centralnej (Afganistan) i na Bliskim Wschodzie (Kuwejt) przez 5–6 miesięcy, po wyrażeniu pisemnej zgody i wypełnieniu dokumentacji zawierającej dane osobowe. Stan zdrowia pacjentów nie stanowił kryterium przyjęcia do badań. Materiał biologiczny (kał na podłożu transportowym) został pobrany od 441 żołnierzy pełniących służbę w Afganistanie (VII i VIII zmiana PKW) oraz 76 żołnierzy pełniących służbę w Kuwejcie (IV zmiana PKW) w 2018 r., a następnie przetransportowany po 2–3 tygodniach samolotem Polskich Sił Zbrojnych w celu przeprowadzenia badań w Wojskowym Instytucie Medycznym w Warszawie. Zadanie badawcze pt. „Analiza nosicielstwa patogenów alarmowych (CPE, ESBL, VRE) zawlekanych do kraju przez *long-term travelers* (żołnierzy PKW) stacjonujących w Afganistanie, Iraku i Kuwejcie” otrzymało akceptację Komisji Bioetycznej Wojskowego Instytutu Medycznego (Uchwała nr 71/WIM/2017 z 15.11.2017 r.).

### Diagnostyka laboratoryjna

Zadanie badawcze opierało się na diagnostyce kału w kierunku występowania nosicielstwa patogenów alarmowych: pałeczek jelitowych z rodziny *Enterobacteriaceae* i niefermentujących, ziarenkowców MRSA (*methicillin-resistant Staphylococcus aureus*) oraz VRE; kolonizacja jelit została określona za pomocą mikrobiologii klasycznej. Kał z jałowej próbki był wysiewany na podłoża CARBA, OXA-48, ESBL, VRE i inkubowany przez 18–48 godzin (wg zaleceń producenta) w temperaturze 35 ±1°C. Kolonie bakteryjne, które wyrosły na podłożach CARBA, OXA-48 i ESBL, zostały izolowane na podłożu MacConkeya. Z płytki VRE kolonie były izolowane na podłożu agar krwawy z dodatkiem 5% krwi baraniej i inkubowane w temperaturze 35 ±1°C przez 18 ±2 godziny. Wszystkie testy fenotypowe w kierunku wykrywania mechanizmów oporności były wykonywane według zaleceń Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów (KORLD).

### Postępowanie ze szczepami podejrzanymi o wytwarzanie karbapenemaz

Dla bakterii rosnących na podłożu CARBA wykonane zostały testy fenotypowe z użyciem krążków anybiotykowych w kierunku karbapenemaz zgodnie z algorytmem KORLD ([www.korld.edu.pl](http://www.korld.edu.pl)). Do każdego testu zostało wykorzystane podłoże Müller-Hinton wraz z naniesioną zawiesiną bakteryjną w 0,9% NaCl o gęstości 0,5 McFarlanda. Do określenia karbapenemazy typu MBL został

wykorzystany test z krążkiem nasączonym 10 µg EDTA, ceftazydymem 30 µg i imipenemem 10 µg. Na przygotowanej płytce z naniesioną zawiesiną bakteryjną został ułożony krążek z EDTA. Krążki z antybiotykami były położone po obu stronach krążka EDTA w odległości 2 cm. Inkubacja następowała w temperaturze 35 ±1°C. Za wynik dodatni testu zostało uznane pojawienie się i powiększenie strefy wokół krążka z ceftazydymem i/lub karbapenemem od strony krążka EDTA. Do wykrycia karbapenemazy typu KPC został wykorzystany test z krążkiem meropenemu 10 µg nasączonym 300 µg kwasu fenyloboronowego i inkubowanym przez 30 minut w temperaturze pokojowej, a także z krążkiem z meropenemem 10 µg. Krążki zostały ułożone w odległości nie mniejszej niż 3 cm. Płytki były inkubowane w temperaturze 35 ±1°C przez 18 ±2 godziny. Za wynik dodatni testu dla pałeczek z rodziny *Enterobacteriaceae* zostały uznane: różnica (powiększenie) wielkości średnicy strefy zahamowania wzrostu wokół krążka z meropenemem w stosunku do krążka z meropenemem + kwasem fenyloboronowym o 4 mm lub więcej.

Do wykrycia karbapenemazy OXA-48 został wykonany test z krążkiem temocylina 30 µg na podłożu Müller-Hinton z zawiesiną bakteryjną. Inkubacja była przeprowadzona w podobnych warunkach, jak przy poprzednich testach. Za wynik dodatni testu i podejrzenie produkcji OXA-48 została uznana średnica zahamowania wzrostu ≤10 mm.

#### Postępowanie ze szczepami podejrzanymi o wytwarzanie ESBL

Do wykrycia β-laktamaz o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) została wykorzystana metoda dwóch krążków DDST zgodnie z zaleceniami KORLD ([www.korld.edu.pl](http://www.korld.edu.pl)). Krążki z ceftazydymem 30 µg i cefotaksymem 30 µg zostały nałożone po obu stronach krążka z amoksycyliną z kwasem klawulanowym 20/10 µg w odległości 2 cm. Dla szczepów o dużej ekspresji β-laktamazy AmpC został zastosowany krążek z cefepimem 30 µg/g położony nad krążkiem z amoksycyliną z kwasem klawulanowym 20/10 µg w odległości 2 cm i/lub test dwóch krążków DDST wykonany na podłożu Müller-Hinton z klosacyliną 250 µg/ml. Inkubacja została przeprowadzona w taki sam sposób, jak przy wykrywaniu karbapenemazy. Wynikiem pozytywnym, sugerującym obecność ESBL, było wyraźne asymetryczne powiększenie strefy zahamowania wzrostu wokół krążka z ceftazydymem, cefotaksymem lub cefepimem od strony krążka zawierającego amoksycylinę z kwasem klawulanowym.

#### Postępowanie ze szczepami enterokoków podejrzanymi o fenotyp VRE

Do wykrycia mechanizmu oporności *Enterococcus* spp. na glikopeptydy-VRE zostały wykorzystane E-testy z wankomycyną i teikoplaniną. Płytki z E-testami były inkubowane przez pełne 24 godziny w temperaturze

35 ±1°C. Za wynik wskazujący na podejrzenie mechanizmu oporności VRE została uznana oporność na wankomycynę zgodnie z wytycznymi EUCAST. Wszystkie szczepy, dla których została wykryta obecność karbapenemazy, ESBL lub został potwierdzony fenotyp VRE, zostały zidentyfikowane na podstawie właściwości biochemicznych metodą automatyczną przy użyciu aparatu Vitek.

#### Analiza statystyczna

Obliczenia statystyczne zostały przeprowadzone z użyciem pakietu statystycznego STATISTICA version 10.0 oraz arkusza kalkulacyjnego Excel. Zmienne ilościowe zostały scharakteryzowane za pomocą średniej arytmetycznej, wartości minimalnej i maksymalnej (zakres). Zmienne typu jakościowego były przedstawiane za pomocą licznosci oraz wartości procentowych (odsetka). We wszystkich obliczeniach za poziom istotności przyjęto  $p = 0,05$ .

#### Wyniki

W zadaniu badawczym wzięło udział 517 żołnierzy Polskich Kontyngentów Wojskowych pełniących służbę w VII i VIII zmianie PKW Afganistan ( $n = 441$ ) oraz w IV zmianie PKW Kuwejt ( $n = 76$ ) przez 5–6 miesięcy.

Wśród 441 żołnierzy PKW Afganistan nosicielstwo *Escherichia coli* z mechanizmem oporności ESBL wykryto aż u 308 osób, nosicielstwo *Klebsiella pneumoniae* z mechanizmem oporności ESBL u dwóch osób, nosicielstwo *Enterobacter cloacae* z mechanizmem oporności ESBL u jednej osoby i KPC u dwóch osób oraz *Citrobacter braunii* u jednej osoby. U 9 osób wystąpiły dwa różne fenotypowo szczepy *E. coli* ESBL, u jednej osoby szczep *E. coli* ESBL i *K. pneumoniae* ESBL, u jednej osoby *E. coli* ESBL i *C. braunii* ESBL oraz u jednej osoby *E. coli* ESBL i *E. cloacae* KPC (tab. 1.).

Wśród 76 żołnierzy PKW Kuwejt nosicielstwo *Escherichia coli* z mechanizmem oporności ESBL wykryto u 30 osób (u 3 osób po dwa szczepy *E. coli* ESBL różne fenotypowo), *Klebsiella pneumoniae* z mechanizmem ESBL u 3 osób oraz nosicielstwo *Enterobacter cloacae* z mechanizmem oporności KPC u 2 osób (tab. 2.).

#### Dyskusja

Do chwili obecnej brakuje doniesień na temat nosicielstwa patogenów alarmowych wśród polskich żołnierzy pełniących służbę poza granicami państwa, w rejonach zwiększonego ryzyka występowania lekooporności, gdzie panują złe warunki sanitarne, a ludność miejscowa ma ograniczony dostęp do placówek

**Tabela 1. Nosicielstwo patogenów alarmowych u żołnierzy VII i VIII zmiany PKW Afganistan w 2018 r. (n=441)**

**Table 1. Carriage of emergency pathogens in soldiers of VII and VIII PMC Afghanistan rotation in 2018 (n=441)**

patogen	ESBL	KPC	MBL	OXA-48
<i>Escherichia coli</i>	308	–	–	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2	–	–	–
<i>Enterobacter cloacae</i>	1	2	–	–
<i>Citrobacter brakii</i>	1	–	–	–

**Tabela 2. Nosicielstwo patogenów alarmowych u żołnierzy IV zmiany PKW Kuwejt w 2018 r. (n=76)**

**Table 2. Carriage of emergency pathogens in soldiers of IV PMC Kuwait rotation in 2018 (n=76)**

patogen	ESBL	KPC	MBL	OXA-48
<i>Escherichia coli</i>	28	–	–	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	3	–	–	–
<i>Enterobacter cloacae</i>	–	2	–	–

służby zdrowia. W Kuwejcie, wśród ludności miejscowej, ponad 34% wszystkich wyizolowanych pałeczek karbapenemoopornych stanowiły szczepy NDM-1 [4]. W 2011 r. w Szpitalu U.S. Forces w Afganistanie stwierdzono zakażenie NDM-1 u poparzonego Afgańczyka. W 2013 r. z Polskiego Kontyngentu Wojskowego w Afganistanie został przetransportowany na leczenie do Polski afgański policjant z pourazową amputacją kończyny dolnej, u którego zidentyfikowano *Proteus mirabilis* NDM-1. Wśród żołnierzy kontyngentu francuskiego stacjonującego w Afganistanie przeprowadzono badania przesiewowe, na podstawie których zaobserwowano znaczne zwiększenie nosicielstwa patogenów z mechanizmem oporności ESBL [5,6]. Kompleksową diagnostykę wykrywania szczepów wielolekoopornych przeprowadzono w Siłach Zbrojnych Niemiec, gdzie u żołnierzy wykryto nosicielstwo ESBL oraz VRE [7]. Podobną diagnostykę przesiewową przeprowadzono u żołnierzy duńskich, u których jednak nie prowadzono badań w kierunku występowania patogenów alarmowych produkujących karbapenemazy, które aktualnie w środowisku cywilnym stają się problemem dominującym [8]. Biorąc pod uwagę specyfikę służby poza granicami kraju, wydaje się, że monitoring zakażeń patogenami alarmowymi jest w pełni uzasadniony. Według epidemiologów Unii Europejskiej badania przesiewowe są jedynym skutecznym narzędziem nadzoru nad patogenami zawlekanymi z rejonów o dużej częstotliwości nosicielstwa szczepów wielolekoopornych [9-11].

## Wnioski

Łącznie u 71,2% (PKW Afganistan) i 43,4% (PKW Kuwejt) badanych rozpoznano występowanie szczepów wielolekoopornych przenoszonych drogą pokarmową, świadczących o bardzo dużych wskaźnikach nosicielstwa w środowisku wojskowym. Przedstawione wyniki uzasadniają konieczność rozszerzenia panelu badań przesiewowych żołnierzy wykonywanych po powrocie ze służby poza granicami państwa. Występowanie patogenów alarmowych z mechanizmem oporności (ESBL, KPC) nie daje objawów klinicznych choroby, stanowi jednak zagrożenie epidemiologiczne w aspekcie rozprzestrzeniania się zakażeń w środowiskach zamkniętych.

## Piśmiennictwo

- Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Worldwide dissemination of the NDM-type carbapenemases in Gram-negative bacteria. *Biomed Res Int*, 2014; 2014: 249856
- Nordmann P, Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase producers among Enterobacteriaceae worldwide. *Clin Microbiol Infect*, 2014; 20 (9): 821–830
- Krajowy Ośrodek Referencyjny ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów. Rekomendacje. [www.korld.nil.gov.pl/spec\\_rekomendacje.php](http://www.korld.nil.gov.pl/spec_rekomendacje.php). Narodowy Instytut Leków, KORDL, Warszawa 2020
- Jamal W, Albert M, Rotimi O. High prevalence of New Delhi metallo- $\beta$ -lactamase-1 (NDM-1) producers among carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in Kuwait. *PLoS One* 2016; 11 (3): e0152638
- Dadashi M, Fallah F, Hashemi A, et al. Prevalence of bla NDM-1 producing *Klebsiella pneumoniae* in Asia: A systematic review and meta-analysis. *Journal des Anti-infectieux* 2017; 19 (2): 58–65
- Janvier F, Delacour H, Tess S, et al. Faecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing enterobacteria among soldiers at admission in a French military hospital after aeromedical evacuation from overseas. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 2014; 33 (10): 1719–1723
- Frickmann H, Wiemer D, Frey C, et al. Low enteric colonization with multi-drug-resistant pathogens in soldiers returning from deployments-experience from the years 2007–2015. *PLoS One*, 2016; 11 (9): e0162129
- Hammerum A. Faecal carriage of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing and AmpC  $\beta$ -lactamase-producing bacteria among Danish army recruits. *Clin Microbiol Infect*, 2011; 17 (4): 566–568
- Nitsch-Osuch A. Podróże a szerzenie się bakterii wieloopornych. *Pol Merkur Lek*, 2017; 42 (251): 219–222
- Nikonorow E, Baraniak A, Gniadkowski M. Oporność bakterii z rodziny Enterobacteriaceae na antybiotyki beta-laktamowe wynikająca z wytwarzania beta-laktamaz. *Post Mikrobiol*, 2013; 52 (3): 261–271
- Rechel B, Mladovsky P, Ingleby D, et al. Migration and health in an increasingly diverse Europe. *Lancet* 2013; 381: 1235–1245