

IN VITRO ЧУВСТВИТЕЛНОСТ НА КЛИНИЧНИ ИЗОЛАТИ *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* КЪМ АНТИБАКТЕРИАЛНИ ЛЕКАРСТВЕНИ СРЕДСТВА

Милена Божкова, Теменуга Стоева

Катедра по микробиология и вирусология,
Медицински университет - Варна

IN VITRO SUSCEPTIBILITY OF CLINICAL ISOLATES OF *STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA* TO ANTIMICROBIAL AGENTS

Milena Bozhkova, Temenuga Stoeva

Department of Microbiology and Virology,
Medical University of Varna

РЕЗЮМЕ

Цел на настоящата работа е да се проучи чувствителността на 96 клинични изолата *S. maltophilia* към набор от антимикробни лекарствени препарати. Изолатите са получени от пациенти, хоспитализирани в две университетски болници в България: УМБАЛ „Св. Марина“ - Варна (n=78) и УМБАЛ „Д-р Георги Странски“ - Плевен (n=18) в периода 2007-2015 г. Чувствителността към десетте изпитвани антибиотика е определена чрез Е-тест, а резултатите са интерпретирани според EUCAST. Антибиотиците с най-добра активност срещу *S. maltophilia*, респективно с най-ниско ниво на резистентност, са tigecycline (97.92%), trimethoprim/sulfamethoxazole (95.84%) и doxycycline (92.71%). Най-високо ниво на резистентност се установява към ticarcillin / clavulanic acid (61.46%), следван от cefazidime (56.25%) и chloramphenicol (55.21%).

Ключови думи: *Stenotrophomonas maltophilia*, резистентност, антибактериални средства

ABSTRACT

The aim of this study was to test the susceptibility of 96 clinical isolates of *S. maltophilia* to set of antimicrobial agents. The isolates were collected from patients, hospitalized in two Bulgarian University Hospitals (Varna, n=78 and Pleven, n=18) during the period 2007 – 2015. The antimicrobial susceptibility was studied by E-test and the results were interpreted according to EUCAST. The most active antibiotics (with the lowest level of resistance) were tigecycline (97.92%), trimethoprim/sulfamethoxazole (95.84%) and doxycycline (92.71%). The highest rate of resistance was detected for ticarcillin/clavulanic acid (61.46%), followed by cefazidime (56.25%) and chloramphenicol (55.21%).

Key words: *Stenotrophomonas maltophilia*, resistance, antimicrobial agents

УВОД

Stenotrophomonas maltophilia е сред най-значимите патогени от групата на грам-отрицателните неферментиращи глюкоза бактерии, причинител на разнообразни в клиничната си презентация инфекции основно в увредени и имунокомпрометирани пациенти. Вродената устойчивост на този микроорганизъм към голяма част от използваните антимикробни лекарствени препарати отнежда на проблема за лечението на асоциираните със *S. maltophilia* заболявания сериозно място в съвременната медицинска практика. С най-голямо клинично значение е първичната резистентност към повечето препарати от групата на бета-лактамните антибиотици (включително карбапенеми) поради наличието на два индуцибелни хромозомнокодирани ензима с бета-лактамазна активност: L1 и L2. Освен тези видовоспецифични вродени механизми на резистентност, допълнителен проблем представлява придобитата устойчивост на *S. maltophilia* към ограничения брой препарати с добра активност срещу този бактериален вид - trimethoprim/sulfamethoxazole, флуорохинолоните, тетра- и глицилциклините и др.

Цел на настоящата работа е да се проучи чувствителността на колекция от клинични изолати *S. maltophilia* към десет антибактериални препарата - trimethoprim/sulfamethoxazole, ciprofloxacin, levofloxacin, doxycycline, tigecycline, colistin, polymyxin B, chloramphenicol, ceftazidime и ticarcillin/clavulanic acid.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

Проучени са общо 96 недублиращи се изолата *S. maltophilia*, получени от пациенти, хоспитализирани в две университетски болници в България: УМБАЛ „Св. Марина“ - Варна (n=78) и УМБАЛ “Д-р Георги Странски“ - Плевен (n=18) в периода 2007-2015 г. Чувствителността към десетте антибактериални средства бе определена чрез епидемиологичен тест (Е-тест) съгласно инструкциите на производителя (Liophilhem, Italy) при използване на критериите на EUCAST (3).

РЕЗУЛТАТИ

Обобщените данни за чувствителността към десетте, включени в проучването, антибиотика е представена на Табл. 1.

ОБСЪЖДАНЕ

Резистентност към trimethoprim/sulfamethoxazole.

Препаратът trimethoprim/sulfamethoxazole е традиционно считан за средство на първи избор за лечение на причинените от *S. maltophilia* заболявания заради високата му активност спрямо този бактериален вид. Освен при случаите с лабораторно доказана устойчивост към препарата, основна контраиндикация за включването на trimethoprim/sulfamethoxazole в терапевтичната схема са реакциите на непоносимост или свръхчувствителност към препарата. Голямата част от проучванията, мониториращи резистентността на *S. maltophilia* към антибактериални лекарствени средства, съобщават за ви-

Таблица 1. Чувствителност на 96 клинични изолата *S. maltophilia* към антибактериални лекарствени средства, определена чрез Е-тест в брой и %

		МПК ₅₀ (µg/ml)	МПК ₉₀ (µg/ml)	S (брой/%)	I (брой/%)	R (брой/%)
SXT	0.008→32	0.8	2	92 / 95.84	-	4 / 4.16
CIP	0.25→32	1.5	>32	60 / 62.5	10 / 10.42	26 / 27.08
LVX	0.064→32	0.5	1.5	85 / 88.54	4 / 4.17	7 / 7.29
DOX	0.25→256	1.5	4	89 / 92.71	2 / 2.08	5 / 5.21
TGC	0.023→4	0.75	1	94 / 97.92	-	2 / 2.08
COL	0.064→24	1	12	82 / 86.42	-	14 / 14.58
Pol B	0.064→12	0.75	4	86 / 89.58	-	10 / 10.42
CHL	2→ >256	12	64	43 / 44.79	-	53 / 55.21
CAZ	0.75→256	4	>256	42 / 43.75	-	54 / 56.25
TIM	1.5→256	96	>256	37 / 38.54	-	59 / 61.46

Означения: МПК – минимална потискаща концентрация, SXT – trimethoprim/sulfamethoxazole, CIP – ciprofloxacin, LVX – levofloxacin, DOX – doxycycline, TGC – tigecycline, COL – colistin, Pol B – polymyxin B, CHL – chloramphenicol, CAZ – ceftazidime, TIM – ticarcillin / clavulanic acid.

соки нива на чувствителност към trimethoprim/sulfamethoxazole (5,8,13). Нашите данни също сочат съхранена чувствителност на *S. maltophilia* към trimethoprim/sulfamethoxazole (95.84%). Единствените четири изолата, резистентни към препарата, демонстрираха in vitro високи стойности на МПК над 32 µg/ml.

Резистентността на *S. maltophilia* към този препарат вече е документирана у нас. В проучване на С. Михайлова се съобщава за 15 изолата *S. maltophilia* от периода 1999-2007 г., устойчиви на trimethoprim / sulfamethoxazole, всички с високи МПК над 32 µg/ml, подобно на установените от нас (10).

Резистентност към хинолони.

Активността на различните представители от групата на хинолоновите антибиотици към *S. maltophilia* варира значително. Чувствителността към ciprofloxacin според повечето проучвания не е много висока и обичайно е в границите 20.9-55% (7,8). Нашите данни демонстрират сравнително добра активност на препарата с ниво на чувствителност 62.5%, което е по-високо от съобщаваното от повечето автори. У нас С. Събчева установява по-ниска чувствителност към ciprofloxacin - 51.1%, а според проучване на С. Михайлова активността на препарата е много висока, като не е документирана високостепенна резистентност, а единствено интермедиерна чувствителност с МПК ≤2 µg/ml (1,10).

Препаратът levofloxacin демонстрира значително по-добра in vitro активност спрямо *S. maltophilia*, като обичайно нивата на чувствителност надвишават 80%. Данните от SENTRY проучването през последните години обаче сочат тенденция към редуциране на чувствителността. Така например анализът за периода 1997-2001 г. сочи ниво на резистентност 6%, докато за периода 2009-2012 г. тя е нараснала до 15.3% (7,13). Статистически значима тенденция към намаляване на чувствителността към levofloxacin (от 83.7% през 1998 г. към 65.6% през 2008 г.) е отчетена и в проучване от Тайван (15).

Levofloxacin принадлежи към групата на т. нар. „респираторни хинолони“. Освен разширения спектър на активност, друга важна причина да бъде определен като респираторен хинолон е в различните фармакокинетични свойства на препарата (в сравнение с ciprofloxacin), които позволяват изключително добрата му пенетрация в белодробната тъкан и бронхиалните секрети. Тези му характеристики, наред с по-дългия полуживот и съответно възможността за еднократен дневен прием и подобрения профил на без-

опасност, го правят един от най-предпочитаните за лечение на бронхо-пулмонални инфекции антибактериален агент. Нашите данни категорично демонстрират отчетливите предимства на levofloxacin пред ciprofloxacin за лечение на *S. maltophilia* асоциираните инфекции на дихателната система както заради по-добрата чувствителност към препарата, така и заради подобрените му фармакокинетични характеристики. В допълнение, levofloxacin има способността да разрушава биофилмите, формирани от *S. maltophilia*, и значително да ги редуцира, дори и в субинхибиторни концентрации (16).

Резистентност към ceftazidime.

Въпреки че бета-лактамите антибиотици като цяло имат ниска активност спрямо *S. maltophilia*, in vitro чувствителността на *S. maltophilia* към някои от тях е значителна. Съгласно въведените от EUCAST експертни правила, обаче, *S. maltophilia* следва да бъде считан за първично резистентен към бета-лактами като ceftazidime, независимо от факта, че значителна част от щамове демонстрират добра in vitro чувствителност към препарата (3). Над половината от изпитаните от нас изолати демонстрираха резистентност към ceftazidime с високи стойности на МПК >8 µg/ml. Сходни на нашите резултати са документираните Sader и колектив при изпитване на 2076 изолата *S. maltophilia* - 52.9% чувствителност, като ceftazidime е определен за препарата с най-добра активност сред всички представители на цефалоспориновите антибиотици (12).

Резистентност към ticarcillin/clavulanic acid.

Ticarcillin/clavulanic acid е определян от някои автори като алтернатива на trimethoprim/sulfamethoxazole за лечение на *S. maltophilia* свързани инфекции при алергични пациенти. Повечето проучвания обаче документират сравнително високи нива на резистентност към препарата. Така например у нас според данните на Събчева 68.9% от изпитаните 45 изолата са резистентни към ticarcillin/clavulanic acid (1). Резултатите на Sader и кол. разкриват относителен дял на чувствителните към препарата изолати от 55.7% (12). Нашите резултати потвърждават ниската ефективност на ticarcillin/clavulanic acid по отношение на *S. maltophilia*, като едва 38.5% от изпитаните изолати демонстрираха чувствителност с МПК под 16 µg/ml.

Резистентност към полимиксини (colistin, polymyxin B).

Сравнително отскоро антибиотиците от групата на полимиксините отново навлязоха в клинична употреба след години на ограничения заради потенциалните им сериозни странични ефекти. Днес colistin и polymyxin B се прилагат под строг контрол в болничните заведения, основно за лечение на инфекции, причинени от полирезистентни грам-отрицателни бактерии. Нашите данни сочат, че МПК на colistin при 86.42% от изолатите *S. maltophilia* е под 4 µg/ml, което ги определя като чувствителни към препарата. При използването на същите гранични стойности за polymyxin B се установи чувствителност при 89.5% от изолатите. Според Gales и кол. активността на препарата polymyxin B сред 1256 изолати *S. maltophilia* е 72.5% (9). Чувствителността към colistin според повечето проучвания също е висока. С относителен дял на чувствителните изолати от 91.2%, colistin е определен като най-активния антибактериален агент спрямо *S. maltophilia* според Samonis и кол. (14).

В публикувано през 2014 г. проучване Rodriguez и кол. установяват директна корелация между увеличената консумация на colistin и нарастването на относителния дял на резистентните към препарата изолати *S. maltophilia* - от 8 на 45% в периода 1996-2013 г. (11). Авторите съобщават, че 80% от пациентите с изолирани colistin-резистентни щамове *S. maltophilia* са преминали курс на терапия с colistin. Сред тестваните от нас изолати не се наблюдава тенденция за увеличаване на устойчивостта към полимиксини поради факта, че у нас colistin практически е въведен в употреба в самия край на периода на нашето проучване.

Резистентност към тетрациклини и глицилциклини.

Препаратите от тетрациклиновата група като цяло имат сравнително добра активност срещу *S. maltophilia*. Нашите данни демонстрират отличната активност на doxycycline с едва 5.21% устойчивост заради високи МПК (над 16 µg/ml). Поради достигането на високи концентрации в белодробния паренхим, едно от основните показания за употреба на doxycycline са респираторните инфекции, които са и сред най-честите клинични изяви на *S. maltophilia*. Заради удобния перорален прием основната употреба на препарата е в извънболнични условия. Използването на doxycycline в болнични условия е сведено до минимум поради липсата на парентерална форма у нас (макар такава да е налична по принцип), което е необходимо условие за прецизното дозиране

не при тежки нозокомиални пневмонии и такива при пациенти на механична вентилация.

Глицилциклиновият препарат tigecycline е сред най-активните антибактериални средства срещу *S. maltophilia*. Отскоро въведен в клинична употреба, той демонстрира впечатляваща активност по отношение на различни проблемни за лечение патогени, включително и *S. maltophilia*. Почти всички проучвания сочат ниво на чувствителност, надвишаващо 90% (15). Нашите данни също доказват много добра *in vitro* активност, дори превишаваща тази на trimethoprim/sulfamethoxazole, като резистентност установихме едва в два клинични изолата, съставляващи 2.08% от всички изпитани. Възможността за парентерално приложение на tigecycline, наред с отличните му фармакокинетични свойства, го правят отличен избор, особено при лечение на бронхо-пулмонални или мекотъканни инфекции. Серумните нива на този антибиотик обаче след интравенозно приложение са ниски, което принципно поставя под съмнение ефикасността му при лечение на бактериемии. В скорошно проучване високи дози tigecycline успешно са прилагани за лечение на *S. maltophilia* асоциирана бактериемия (17). Други автори обаче докладват за значими странични ефекти при прилагане на високи дози tigecycline (4).

Резистентност към chloramphenicol.

Друг антибактериален препарат, който може да влезе в съображение при лечение на инфекции, причинени от *S. maltophilia*, е chloramphenicol. Приложението на този антибиотик в настоящия момент е силно ограничено поради риска от сериозни странични ефекти, включително необратимо потискане на кръвотворните функции на костния мозък, макар такива да са регистрирани сравнително рядко. Активността на препарата спрямо *S. maltophilia* варира в много широко граници. При проучване на 206 клинични изолата от университетски болници в Корея през 2010 г. е установена едва 7% чувствителност към chloramphenicol (2). Значително по-висока чувствителност е демонстрирана при изследвания в Мексико (45.5%) и Тайван (68.7%) (6, 15). Определената и от нас сравнително ниска чувствителност (44.79%) допълнително ограничава приложението на chloramphenicol за лечение на причиняваните от *S. maltophilia* инфекции. Подобен избор би бил основателен само при тежки инфекции, причинени от изолати *S. maltophilia*, резистентни към препаратите на първи избор за лечение.

В заключение, данните от настоящото проучване сочат, че най-висока активност спрямо *S. maltophilia* in vitro демонстрират tigecycline, trimethoprim/sulfamethoxazole и doxycycline. С най-ниска активност е препаратът ticarcillin/clavulanic acid. Получените данни могат да подпомогнат избора на подходяща антибактериална терапия при асоциираните със *S. maltophilia* инфекции.

ЛИТЕРАТУРА

1. Събчева, С. Чувствителност към бета-лактамни антибиотици, ципрофлоксацин и триметоприм-сулфаметоксазол на *Stenotrophomonas maltophilia* – причинител на инфекциозни процеси при болни със злокачествени новообразувания // Онкологичен преглед. 1998; 5: 8-12.
2. Chung HS, Hong SG, Kim YR, Shin KS, Whang DH, Ahn JY et al. Antimicrobial susceptibility of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from Korea, and the activity of antimicrobial combinations against the isolates. J Korean Med Sci. 2013; 28: 62-6.
3. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST [Internet]. Expert rules in antimicrobial susceptibility testing Available from: http://www.eucast.org/expert_rules/.
4. Falagas ME, Vardakas KZ, Tsiveriotis KP, Triarides NA, Tansarli GS. Effectiveness and safety of high-dose tigecycline-containing regimens for the treatment of severe bacterial infections. Int J Antimicrob Agents. 2014; 44: 1-7.
5. Farrell DJ, Sader HS, Jones RN. Antimicrobial susceptibilities of a worldwide collection of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates tested against tigecycline and agents commonly used for *S. maltophilia* infections. Antimicrob Agents Chemother. 2010; 54: 2735-7.
6. Flores-Trevino S, Gutiérrez-Ferman JL, Morfín-Otero R, Rodríguez-Noriega E, Estrada-Rivadeneira D, Rivas-Morales C, et al. *Stenotrophomonas maltophilia* in Mexico: antimicrobial resistance, biofilm formation and clonal diversity. J Med Microb. 2014; 63: 1524-30.
7. Jones R, Sader H, Beach M. Contemporary in vitro spectrum of activity summary for antimicrobial agents tested against 18 569 strains non-fermentative Gram-negative bacilli isolated in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997–2001). Int J Antimicrob Agents. 2003; 22: 551-6.
8. Gales AC, Jones RN, Forward KR, Liñares J, Sader HS, Verhoef J. Emerging importance of multidrug-resistant *Acinetobacter* species and *Stenotrophomonas maltophilia* as pathogens in seriously ill patients: geographic patterns, epidemiological features, and trends in the SENTRY antimicrobial surveillance program (1997–1999). Clin Infect Dis. 2001; 32: 104–13.
9. Gales AC, Jones RN, Sader HS. Global assessment of the antimicrobial activity of polymyxinB against 54731 clinical isolates of Gram-negative bacilli: report from the SENTRY antimicrobial surveillance programme (2001–2004). Clin Microbiol Infect. 2006; 12: 315-21.
10. Mihaylova S, Sredkova M, Svensson L, Edward M. Emergence of clinical strains of *Stenotrophomonas maltophilia* resistant to trimethoprim – sulfamethoxazole in a Bulgarian university hospital. J Biomed Clin Research. 2008; 1:18-25.
11. Rodríguez CH, Nastro M., Calvo J, Fariña ME, Dabos L, Famiglietti A. In vitro activity of colistin against *Stenotrophomonas maltophilia*. J Global Antimicrob Resistance. 2014; 2: 316-7.
12. Sader HS, Jones RN. Antimicrobial susceptibility of uncommonly isolated non-enteric Gram-negative bacilli. Int J Antimicrob Agents. 2005; 25: 95–109.
13. Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalised with pneumonia in US and European hospitals: Results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2009–2012 Int J Antimicrob Agents. 2014; 43: 328–34.
14. Samonis G, Karageorgopoulos DE, Maraki S, Levis P, Dimopoulou D, Sperno-vasilis NA, et al. *Stenotrophomonas maltophilia* infections in a general hospital: patient characteristics,

- antimicrobial susceptibility, and treatment outcome. PLoS ONE. 2012; 7:373-5.
15. Wu H, Wang JT, Shiau YR, Wang HY, Lauderdale TL, Chang SC. A multicenter surveillance of antimicrobial resistance on *Stenotrophomonas maltophilia* in Taiwan. J Microbiol Immunol Infect. 2012; 45:120-6.
 16. Wu K, Yau YC, Matukas L, Waters V. Biofilm compared to conventional antimicrobial susceptibility of *Stenotrophomonas maltophilia* Isolates from cystic fibrosis patients. Antimicrob Agents Chemother. 2013; 57:1546-8.
 17. Wu Y. and Shao Z. High-dosage tigecycline for *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia. Chin Med J. 2014; 127:3199.

Адрес за кореспонденция:

д-р Милена Божкова
Медицински университет - Варна
Катедра по микробиология и вирусология
9002 Варна, ул. „Марин Дринов“ 55
България
тел: +359 887 997 762
e-mail: Milena.Bozhkova@mu-varna.bg