



# AKTUALNOŚCI NARODOWEGO PROGRAMU OCHRONY ANTYBIOTYKÓW

Numer 2/2016

## Skomplikowany *Pseudomonas aeruginosa* – portret niezwykle groźnej bakterii.

Opracowanie: Paweł Urbanowicz,

Zakład Mikrobiologii Molekularnej, Narodowy Instytut Leków, Warszawa

Pałeczka ropy błękitnej (*Pseudomonas aeruginosa*) jest szczególnie niebezpiecznym mikroorganizmem – patogenem oportunistycznym, zdolnym wywołać ostre zapalenia płuc, zakażenia łożyska krwi, czy skóry i tkanek miękkich. Obecność wielu różnorodnych mechanizmów oporności, posiadana szeroka gama czynników zjadliwości oraz pojemny i plastyczny genom czynią z *P. aeruginosa* patogen niezwykle trudny do zwalczania.

*P. aeruginosa* jest bakterią niezwykle rozpowszechnioną w środowisku naturalnym – glebie, zbiornikach wodnych i rzekach, a ponadto stanowi część mikroflory niektórych zwierząt i roślin. Co ciekawe – *P. aeruginosa* sporadycznie wchodzi w skład mikrobiomu człowieka. Bakteria ta jest określana jako patogen oportunistyczny, który na przestrzeni ostatnich kilkudziesięciu lat stał się niezwykle groźny w środowisku szpitalnym. *P. aeruginosa* odpowiedzialny jest za wywoływanie różnorodnych zakażeń, często o skomplikowanym przebiegu, u osób z osłabioną odpornością, np. pacjentów onkologicznych czy po przeszczepach. Zagrożone są także osoby starsze, a szczególnie długo lub wielokrotnie hospitalizowane, pacjenci oddziałów intensywnej terapii (OIT), osoby z ranami oparzeniowymi (D'Agata 2015). Osobną grupą o zwiększonym ryzyku zakażenia pałeczką ropy błękitnej są chorzy na mukowiscydozę, którzy często są

hospitalizowani (Alhazmi 2015). W szpitalu źródłem *P. aeruginosa* mogą być skażone elementy aparatury diagnostycznej, części sprzętu wspomagającego sztuczne oddychanie, elementy instalacji sanitarnych, urządzenia czyszczące, a także wazony na kwiaty, czy kostkarki do lodu (D'Agata 2015).

*P. aeruginosa* jest w stanie wywołać zarówno zakażenia ostre, jak i przewlekłe. *P. aeruginosa* stanowi jeden z najważniejszych czynników etiologicznych szpitalnych zapaleń płuc, zwłaszcza związanych ze sztuczną wentylacją tego organu (Kanj i Sexton 2016). Bardzo groźnymi w przebiegu i skutkach są przewlekłe zakażenia dróg oddechowych u osób chorujących na mukowiscydozę, u których za 70% tego typu zakażeń odpowiada właśnie ten patogen. Co więcej – wywołane przez *P. aeruginosa* zakażenie dróg oddechowych może towarzyszyć późnym stadiom przewlekłej obturbacyjnej choroby płuc (POChP). Pałeczka ropy błękitnej wywołuje także zakażenia skóry i tkanek miękkich, wśród których największe niebezpieczeństwo dla zdrowia i życia pacjenta wiąże się z zakażeniami ran oparzeniowych oraz pooperacyjnych. *P. aeruginosa* odpowiada również za skomplikowane zakażenia dróg moczowych oraz zakażenia łożyska krwi. Uzyskane dane z OIT polskich szpitali klasyfikują ten patogen w czołówce najważniejszych czynników etiologicznych wszystkich wymienionych wcześniej typów za-



każeń (Deptuła i współaut. na podstawie wyników badania PPS). Śmiertelność wśród pacjentów cierpiących w wyniku zakażenia *P. aeruginosa* ogółem sięga 20%, ale w przypadku respiratorowego zapalenia płuc jest wyższa (ponad 30%), zaś w efekcie zakażenia łożyska krwi może wynieść nawet 50% (Lautenbach i współaut. 2010, Cenicerós i współaut. 2016). W środowisku pozaszpitalnym *P. aeruginosa* może wywołać zapalenie ucha zewnętrznego (tzw. ucho pływaka), zapalenie mieszków włosowych, zapalenie szpiku kostnego oraz wsierdzia, a u chorujących na AIDS – również zapalenie płuc i bakterie (Kanj i Sexton, 2016). *P. aeruginosa* dysponuje wieloma czynnikami wirulencji, które pełnią istotną rolę w rozwoju zakażenia. Stwierdzono, że posiada ich więcej niż inne patogeny, np. *Staphylococcus aureus*, czy paciorkowce z grupy A (Kanj i Sexton, 2016). Pałeczka ropy błękitnej produkuje m. in. liczne i różnorodne toksyny i enzymy, które są w stanie spowalniać lub uniemożliwiać odpowiedź immunologiczną (poprzez hamowanie fagocytozy, uszkodzenie makrofagów lub inaktywację immunoglobulin IgG oraz IgA), uszkadzać lub niszczyć komórki i tkanki infekowanego organizmu, a nawet osłabiać (poprzez uśmiercanie komórek ją tworzących) naturalną mikroflorę gospodarza (Alhazmi 2015, Galloway 1991). O ile toksyny, enzymy oraz inne elementy wirulomu *P. aeruginosa* wraz z ich wpływem na linie komórkowe i zwierzęta zbadano szczegółowo, to ich dokładna rola w rozwoju infekcji u człowieka nie jest tak dobrze poznana (D'Agata 2015). Regulacja wytwarzania czynników wirulencji u *P. aeruginosa* jest niezwykle skomplikowanym i wieloetapowym procesem, angażującym wiele różnorodnych mechanizmów. Doskonale rozwinięta sieć regulatorowa pozwala dostosować konkretny mechanizm patogenezы do określonych warunków (rodzaj infekowanego organizmu, czynniki środowiskowe). Pierwsza ze strategii dotyczy ograniczenia występowania w zakażonym organizmie do rejonu płuc, w których, poprzez długotrwałą (trwającą nawet 40 lat) kolonizację wywołany jest przewlekły stan zapalny, bardzo często prowadzący do upośledzenia funkcji oddechowych. Ten rodzaj zakażenia jest charakterystyczny dla chorych na mukowiscydozę (Kanj i Sexton 2016). Warto zaznaczyć, że charakterystyczny dla tego typu zakażeń jest śluzowaty fenotyp tworzonych kolonii przez bakterie *P. aeruginosa*, o czym decyduje wydzielany pozakomórkowo polisacharyd – alginian. Jest on jednym z głównych składników struktury biofilmu (definiowanego jako osiadłe skupisko komórek otoczonych zewnętrzną matriks zewnątrzkomórkową), pełniącego ważną rolę w procesie adhezji do komórek gospodarza. Jego wzmożone wydzielanie do przestrzeni międzykomórkowej

*P. aeruginosa* zwiększa oporność tej bakterii na antybiotyki i podwyższa oporność na fagocytozę (Schurek i współaut. 2012, Alhazmi 2015). O ile przy zakażeniach tego typu *P. aeruginosa* ogranicza wytwarzanie czynników wirulencji i wzmacnia procesy prowadzące do wytworzenia biofilmu, o tyle obierając drugą strategię, bakteria kieruje się odwrotnymi tendencjami. Efektem tego jest zakażenie ostre, które prowadzić może do zapalenia płuc, a nawet bakteriemii z właściwymi dla niej komplikacjami (sepsa). Warto pamiętać, że za wywołanie choroby nie jest odpowiedzialny żaden konkretny czynnik – mamy do czynienia raczej z syntezą wszystkich elementów mających wpływ na poszczególne fazy rozwoju zakażenia (Kanj i Sexton, 2016).

Bakteria *P. aeruginosa* jest naturalnie oporna na szeroką gamę zróżnicowanych strukturalnie antybiotyków; dotyczy to części antybiotyków  $\beta$ -laktamowych (aminopenicyliny wraz z ich połączeniami z inhibitorami  $\beta$ -laktamaz, cefalosporyny I i II generacji), chloramfenikolu, trimetoprimu czy tetracyklin. Zjawisko to określane jest jako oporność naturalna lub własna. Mechanizmami leżącymi u podstaw tego fenomenu jest niska przepuszczalność błony zewnętrznej, aktywność molekularnych pomp zdolnych pozbywać się aktywnie antybiotyku z przedziałów wewnątrzkomórkowych, a także chromosomowo kodowane enzymy, zdolne do inaktywacji określonych leków (Lister i współaut. 2009). W terapii zakażeń *P. aeruginosa* najpowszechniej wykorzystywanymi antybiotykami są:

- karboksypenicyliny (np. tikarcylina),
- ureidopenicyliny (np. piperacylina) oraz ich połączenia z inhibitorami  $\beta$ -laktamaz,
- niektóre cefalosporyny III i IV generacji (np. ceftazydim, cefepim),
- aztreonam,
- karbapenemy (np. imipenem, meropenem, doripenem),
- fluorochinolony (ciprofloksacyna, lewofloksacyna),
- aminoglikozydy (amikacyna, gentamicyna, tobramycyna)
- polimyksyny (np. kolistyna)

Może się wydawać, że arsenał jakim dysponuje współczesna medycyna przeciwko zakażeniom *P. aeruginosa* jest obszerny. Niestety – skutek masowego stosowania antybiotyków, w tym często ich niewłaściwego lub nadmiernego użycia (w leczeniu szpitalnym i ambulatoryjnym, weterynarii oraz przemyśle hodowlanym), zjawisko globalnej antybiotykkooporności wśród bakterii rośnie na niewyobrażalną skalę. Dotyczy to także *P. aeruginosa*, który bywa określany jako

jeden z najbardziej opornych bakteryjnych patogenów szpitalnych w ogóle (Poole 2011). Występujące same naturalne mechanizmy wraz z towarzyszącymi im mutacjami czynią z *P. aeruginosa* trudną do zwalczania bakterię chorobotwórczą. Co więcej – głównie to one decydują o zjawisku jej wielooporności. Tak determinowana oporność stanowi jednak także dobre tło dla pochodzących z zewnątrz, kolejnych mechanizmów; połączenie obu tych źródeł poszerza profile i znacznie podwyższa poziomy oporności *P. aeruginosa* na różne antybiotyki. Za nabywanie nowych cech, najczęściej formie enzymów zdolnych inaktywować cząsteczki aminoglikozydów i  $\beta$ -laktamów, odpowiedzialny jest horyzontalny transfer genów (ang. *horizontal gene transfer*, HGT), zachodzący głównie za sprawą plazmidów (Frost i współaut. 2005).

Za nabytą oporność na antybiotyki z grupy  $\beta$ -laktamów odpowiadają  $\beta$ -laktamazy. Zaczęto je identyfikować już pod koniec lat 60. ubiegłego wieku i wraz z upływem czasu przypisywano im coraz większy udział w zjawisku szerzącej się antybiotykooporności (szczególnie na stosowane wówczas cefalosporyny i penicyliny) (Livermore 1998). Kilkanaście lat później u przedstawicieli *Enterobacteriaceae* odkryto nowy typ enzymów, zdolnych rozkładać oksymino- $\beta$ -laktamy (nowsze generacje cefalosporyn, aztreonam) i nadających tym samym oporność na tą grupę antybiotyków. Były to tzw.  $\beta$ -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym (ang. *extended-spectrum  $\beta$ -lactamases*, ESBL). Liczba i rodzaj odkrywanych ESBL z czasem rosła – dzisiaj wyróżnia się ich 12 rodzin, z których 8 występuje u *P. aeruginosa*. Pierwszą zidentyfikowaną u *P. aeruginosa* ESBL, a jednocześnie najpowszechniej występującą u tego gatunku jest PER-1, a stosunkowo często znajdowane są również enzymy z grup VEB oraz GES. Inną grupą enzymów rozkładających antybiotyki oksymino- $\beta$ -laktamowe są oksacylinyazy (OXA) o rozszerzonym spektrum substratowym, ES-OXA (ang. *extended-spectrum oxacillinases*). Co ciekawe, ES-OXA są charakterystyczne niemal wyłącznie dla *P. aeruginosa* i przypuszcza się, że jest to częściej występująca grupa enzymów od ESBL u tej bakterii, ale by móc jednoznacznie to potwierdzić potrzebna jest większa ilość danych (Livermore 1998, Potron i współaut. 2015).

Wymienione wyżej grupy  $\beta$ -laktamaz – ESBL i ES-OXA są bardzo istotne z punktu widzenia klinicznego, jednak większą rolę w antybiotykooporności *P. aeruginosa* przypisuje się metalo- $\beta$ -laktamazom (ang. *metallo- $\beta$ -lactamases*, MBL). Jest to zupełnie odrębna gałąź drzewa ewolucyjnego  $\beta$ -laktamaz, charakteryzująca się specyficzną strukturą i me-

chanizmem katalizy. Jako jedyne znane  $\beta$ -laktamazy potrzebują obecności kofaktora w postaci jonów  $Zn^{2+}$ . Podobnie do ESBL i ES-OXA, MBL cechuje niezwykle szerokie spektrum substratowe, obejmujące wszystkie penicyliny, cefalosporyny i karbapenemy, a w dodatku są to enzymy całkowicie niewrażliwe na dostępne, stosowane klinicznie inhibitory  $\beta$ -laktamaz. Największe znaczenie ma zdolność MBL do efektywnej inaktywacji karbapenemów, często określanych jako leki ostatniej szansy w leczeniu zakażeń wywołanych przez wielooporne szczepy bakterii Gram-ujemnych (Potron i współaut. 2015).

Oprócz  $\beta$ -laktamaz, *P. aeruginosa* bardzo często nabywa geny enzymów inaktywujących inną klasę antybiotyków – aminoglikozydy (ang. *aminoglycoside-modifying enzymes*, AME). AME są heterogenną grupą enzymów o odmiennych mechanizmach działania (Poole 2005). Z kolei oporność na fluorochinolony, wynikająca z obecności genów nabytych, występuje rzadziej u *P. aeruginosa* niż u *Enterobacteriaceae*. Do tej pory udało się zidentyfikować tylko kilka przypadków obecności enzymu AAC(6')-Ib-cr, będącego wariantem AME i zdolnego oprócz aminoglikozydów inaktywować również niektóre fluorochinolony (Kos i współaut. 2015).

## Piśmiennictwo:

- ALHAZMI A., 2015. *Pseudomonas aeruginosa – Pathogenesis and Pathogenic mechanisms*. Int. J. Biol. 7, 44-67.
- CENICEROS A., PERTEGA S., GALEIRAS R., MOURELO M., LÓPEZ E., BROULLÓN J., SOUSA D., FREIRE D., 2016. *Predicting mortality in burn patients with bacteraemia*. Infection 44, 215-222.
- D'AGATA E., 2015. *Pseudomonas aeruginosa and Other Pseudomonas Species [W:] Principles and Practice of Infectious Diseases 8<sup>th</sup> Edition*. BENNET J. E., DOLIN R., BLASER M. (red.) ELSEVIER-SAUNDERS, Philadelphia, 2518-2532.
- FROST L. S., LEPLAE R., SUMMERS A. O., TOUSSAINT A., 2005. *Mobile genetic elements: the agents of open source evolution*. Nat. Rev. Microbiol. 3, 722-32.
- GALLOWAY D. R., 1991. *Pseudomonas aeruginosa elastase and elastolysis revisited: recent developments*. Mol. Microbiol. 10, 2315-2321.
- KANJ S. S., SEXTON D. J., 2015. *Epidemiology, microbiology, and pathogenesis of Pseudomonas aeruginosa infection*. UpToDate.
- KOS V. N., DÉRASPE M., MCLAUGHLIN R. E., WHITEAKER J. D., ROY P. H., ALM R. A., CORBEIL J., GARDNER H., 2015. *The resistome of Pseudo-*

*monas aeruginosa in relationship to phenotypic susceptibility.* Antimicrob. Agents Chemother. 59, 427-436.

LISTER P. D., WOLTER D. J., HANSON N. D., 2009. *Antibacterial-Resistant Pseudomonas aeruginosa: Clinical Impact and Complex Regulation of Chromosomally Encoded Resistance Mechanisms.* Clin. Microbiol. Rev. 22, 582-610.

LIVERMORE D. M., 1998. *Beta-lactamase-mediated resistance and opportunities for its control.* J Antimicrob. Chemother. 41, 24-41.

LAUTENBACH E., SYNNESTVEDT M., WEINER M. G., BILKER W. B., VO L., SCHEIN J., KIM W., 2010. *Imipenem resistance in Pseudomonas aeruginosa: emergence, epidemiology, and impact on clinical and economic outcomes.* Infect. Control. Hosp. Epidemiol. 31, 47-53.

POOLE K., 2005. *Aminoglycoside resistance in Pseudomonas aeruginosa.* Antimicrob. Agents Chemother. 49, 479-487.

POOLE K., 2011. *Pseudomonas aeruginosa – resistance to the max.* Front. Microbiol. 65, 1-13.

POTRON A., POIREL L., NORDMANN P., 2015. *Emerging broad-spectrum resistance in Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii: Mechanisms and epidemiology.* Int. J. Antimicrob. Agents 45, 568-585.

SCHUREK K. N., BREIDENSTEIN E. B. M., HANCOCK R. E. W., 2012. *Pseudomonas aeruginosa: A persistent pathogen in cystic fibrosis and hospital-associated infections.* [W:] *Antibiotic Discovery and Development.* DOUGHERTY T. J., PUCCI M. J. (red.). Springer, 679-715.

Narodowy Program Ochrony Antybiotyków – program polityki zdrowotnej ministra zdrowia na lata 2016-2020 finansowany przez ministra zdrowia.

