

STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA – ФАКТОРИ НА ВИРУЛЕНТНОСТ И ОБРАЗУВАНЕ НА БИОФИЛМ

А. Трифонова¹, Е. Савов¹, И. Митов² и Т. Стратева²

¹Лаборатория по микробиология, Катедра по военна епидемиология и хигиена, ВМА – София

²Катедра по медицинска микробиология, Медицински факултет, Медицински университет – София

STENOTROPHOMONAS MALTOPHILIA – VIRULENCE FACTORS AND BIOFILM FORMATION

A. Trifonova¹, E. Savov¹, I. Mitov² and T. Strateva²

¹Laboratory of Microbiology, Department of Military Epidemiology and Hygiene, Military Medical Academy – Sofia

²Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Medical University – Sofia

<p>Резюме:</p> <p>Ключови думи:</p> <p>Адрес за кореспонденция:</p>	<p>Ролята на <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> като нозокомиален опортюнистичен патоген, особено сред пациенти в критично състояние в отделенията за интензивни грижи, имунокомпрометирани с хематологични и онкологични заболявания, както и при страдащи от генетичното заболяване муковисцидоза, е добре известна. В последните десетилетия се отбелязва значително повишаване честотата на изолиране на този микроорганизъм в болниците и дори се съобщават случаи на вътреболнични взривове. Инфекциите, причинени от <i>S. maltophilia</i>, често са трудни за лечение поради забележителната вродена резистентност на вида и способността му допълнително да придобива устойчивост към стратегически антимикробни лекарствени средства като trimethoprim/sulfamethoxazole. Разнообразни фактори на вирулентност участват в патогенезата на инфекциите, която е пряко свързана и със способността на бактериалните клетки да формират биофилм върху абиотични повърхности и тъкани на макроорганизма. Настоящият обзор обобщава наличните до момента литературни данни относно факторите на вирулентност на <i>S. maltophilia</i>, разделени на две групи – извънклетъчни и клетъчно свързани, както и способността за образуване на биофилм.</p> <p><i>Stenotrophomonas maltophilia</i>, фактори на вирулентност, биофилм</p> <p>Доц. д-р Тая Стратева, д.м., Катедра по медицинска микробиология, Медицински факултет, Медицински университет, ул. “Здраве” № 2, 1431 София, тел. 02 9172750, e-mail: dr.strateva@abv.bg</p>
<p>Abstract:</p> <p>Key words:</p> <p>Address for correspondence:</p>	<p>The role of <i>Stenotrophomonas maltophilia</i> as an opportunistic nosocomial pathogen, particularly among critically ill patients in Intensive care units, immunocompromised individuals with haematological malignancies or solid tumors as well as persons suffering from the genetic disorder cystic fibrosis, is well known. In recent decades there's been a noticeable increase in the frequency of isolation of this microorganism in hospitals and even reports of nosocomial outbreaks. Infections caused by <i>S. maltophilia</i> are often difficult to treat because of both the remarkable intrinsic resistance of the species and its ability to acquire further resistance to key antimicrobial agents such as trimethoprim/sulfamethoxazole. A variety of virulence factors contributes to the pathogenesis of infections, which is directly associated with the ability of bacterial cells to form biofilms on abiotic surfaces and host tissues. This review summarizes the existing literature data regarding virulence factors of <i>S. maltophilia</i>, divided into two groups – extracellular and cell-associated, as well as its biofilm formation.</p> <p><i>Stenotrophomonas maltophilia</i>, virulence factors, biofilm</p> <p>Assoc. Prof. Tanya Strateva, MD, PhD, Department of Medical Microbiology, Faculty of Medicine, Medical University, 2 Zdrave Str., Bg – 1431 Sofia, tel. +359 2 9172750, e-mail: dr.strateva@abv.bg</p>

ВЪВЕДЕНИЕ

Stenotrophomonas maltophilia е Грам-отрицателен, неферментиращ глюкозата микроорганизъм, широко разпространен в множество източници на околната среда. Понастоящем се определя като опортюнистичен патоген и се изолира най-често от пациенти на изкуствена вентилация в отделенията за интензивни грижи, имунокомпрометирани болни с хематологични и онкологични заболявания, както и от страдащите от генетичното заболяване муковисцидоза [5, 6, 8, 29, 45]. Асоциира се предимно с инфекции на дихателната система, а по-рядко и с друга локализация, като: уринарни, раневи, очни инфекции, бактериемии, сепсиси, ендокардити, менингити, остеохондрити и перитонити [3, 8, 21].

S. maltophilia притежава вродена устойчивост към голям брой антимикуробни лекарствени средства (β -лактами, вкл. карбапенеми, аминогликозиди, trimethoprim и др.), дължаща се на индуцибелни хромозомно-кодирани β -лактамази, експресия на ефлукс-помпи и ниска пропускливост на външната мембрана. Затова на проблема за лечението на асоциираните с този бактериален вид инфекции се отрежда сериозно място в съвременната медицинска практика [2]. От друга страна, развитието на придобита резистентност в резултат от пренос на гени, локализирани в интегрони, транспозони и плазмиди, ограничава драстично наличните възможности за антимикуробна терапия [4, 41, 43]. Освен това *S. maltophilia* може да играе роля на резервоар на детерминанти за антибиотична резистентност в болничната среда [14].

В генома на *S. maltophilia* са кодирани различни извънклетъчни ензими, участващи в патогенезата на инфекциите, а някои клинични изолати демонстрират и цитотоксична активност [8, 14, 27]. Изследването за наличие и експресия на гени, свързани с вирулентността, и детайлното изясняване на тяхната роля е от особена важност за допълване на познанията за начина, по който този микроорганизъм причинява заболяване, както и за разработване на нови терапевтични подходи [14, 61, 68]. Друга значима особеност на *S. maltophilia* е способността му да формира биофилм върху различни абиотични повърхности и тъкани на макроорганизма, осигуряващ по-висока устойчивост към различни антимикуробни агенти и антисептични разтвори и противодействие на механизмите на имунната защита [8, 19]. Към момента факторите на вирулентност на *S. maltophilia*, както и други клетъчни и молекулярни механизми, заложили в патогенезата на инфекциите, са все още слабо изяснени.

ФАКТОРИ НА ВИРУЛЕНТНОСТ

Факторите на вирулентност са структури или молекули, произведени от бактериалната клетка, които най-общо казано увреждат организма гостоприемник: спомагат за адхезията, улесняват колонизацията и навлизането в еукариотните клетки, избягването на имунната защита и получаването на необходимите хранителни вещества [15]. Разделят се на две групи: извънклетъчни и клетъчно свързани. Извънклетъчни фактори на вирулентност са екстрацелуларните ензими, хемолизините, цитотоксините. Към клетъчно свързаните фактори спадат: липополизахарид, пили (фимбрии), непилусни адхезини и ресни (флагели).

Изследванията върху ензимната активност на *S. maltophilia* датират от 70-80-те години на миналия век. Проучени са производство на протеаза, липаза, естераза, дезоксирибонуклеаза (ДНК-аза), рибонуклеаза (РНК-аза), хиалуронидаза и фибринолизин, и е предположена тяхната роля в патогенезата на предизвиканите от тези бактерии инфекции [9, 12, 47]. При сравнение на данните от различни изследвания на клинични изолати *S. maltophilia* се откриват различия в продуцираните извънклетъчни ензими, което подсказва, че тези фактори на вирулентност могат да бъдат щамово специфични [14].

Извънклетъчни фактори на вирулентност

Протеази

Основната функция на протеазите (протеолитичните ензими) е да осигуряват свободни аминокиселини, необходими на бактериалните клетки, но са натрупани доказателства, че те играят роля и като фактори на патогенност в инфектирания гостоприемник [63]. Способността на *S. maltophilia* да произвежда протеолитични ензими му осигурява предимство за оцеляване, растеж и разпространение в неблагоприятни условия на околната среда, напр. в ризосферата. Проучване на Huang et al. е демонстрирало, че щамове *S. maltophilia*, изолирани от почва, притежават серин-протеазна активност срещу нематоди [31]. Затова може да се предположи, че вътреболничните щамове са придобили гените за тези ензими от околна среда извън болничната. Екстрацелуларните серин протеази са доказани при нозокомиални изолати *S. maltophilia* и се счита, че допринасят за способността на патогена да разрушава съединителна тъкан (колаген и фибронектин) [8, 68]. При имунокомпрометирани пациенти протеолитичната активност на тези бактериални щамове може да при-

чини фулминантна хеморагична пневмония, дори и с летален изход. При такива случаи хистологично проучване на белодробната тъкан разкрива големи кръвоизливи, причинени от увреждане на белодробния епител [25, 30]. Има и други доклади, доказващи участието на *S. maltophilia* в масивни хеморагични процеси на тънките черва и региона на подключичната артерия, придружени с тежки тъканни увреждания [48, 59]. Предполага се, че освобождаването на протеолитични ензими допринася за увреждането на белодробните тъкани на болни от муковисцидоза, инфектирани с този микроорганизъм [44, 68]. По данни от проучвания протеазната активност може да варира в широки граници сред клиничните изолати, като наблюдаваните разлики вероятно се дължат на различия в използваните субстрати и среди, или са свързани с екзоензимния потенциал на конкретните инфекциозни щамове [61].

Голямата извънклетъчна протеаза StmPr1 (наричана още **алкална серин протеаза**), кодирана от гена *StmPr1*, функционира като фактор на вирулентност и освен съединителна тъкан може да разрушава *in vitro* и някои човешки серумни протеини, а също и да инактивира компоненти на имунната защита [68]. В генома на *S. maltophilia* е установен и структурен ген, кодиращ **малка извънклетъчна протеаза** – *StmPr2*. Мутации с изместване на рамката на четене (т. нар. “frameshift” мутации) в тези гени водят до липса на протеазна активност. Според проучване на Nikoletti et al. съществува степен на вариативност сред нуклеотидните последователности на *StmPr1* гените на различни щамове, докато *StmPr2* е високо консервативен. Същото изследване чрез полимеразна верижна реакция и ДНК секвениране доказва наличието на два алелни варианта на *StmPr1* (изследваните клинични изолати притежават единия, другия, двата или нито един), а *StmPr2* се амплифицира при всички изследвани щамове [44].

Серин протеазите *StmPr1* и *StmPr2* са субстрати на Xps тип 2 секреторната система (T2S) – един от шестте механизма на секреция при Грам-негативните бактерии [23]. Проведени опити с мутантни щамове са доказали увреждащ ефект на Xps T2S върху клетъчна култура от човешки белодробни епителни клетки. Конкретно, супернатанти от бульонна култура на *S. maltophilia* предизвикват окръгляне на клетките, отделянето им и пренареждане на актина [38]. Последващо проучване докладва, че двете серин протеази допринасят и за Xps-медираната деградация на протеините на екстрацелуларния матрикс (колаген, фибриноген и фибронектин) и

на цитокина интерлевкин-8 (IL-8), но също така и че в този процес участват допълнителни протеази. Чрез Basic Local Alignment Search Tool (BLAST) анализи в генома на *S. maltophilia* щам K279a са открити още три пептидаза-кодиращи гена, хомоложни на *StmPr1* и *StmPr2* [23].

Производството на **желатиназа** (също ензим с пролеолитични свойства) от *S. maltophilia* е важна биохимична характеристика на вида – над 85% от щамовете са продуценти. Въпреки че при други микроорганизми е известно участието на ензима в разграждане на тъкани на макроорганизма, формиране на биофилм и избягване на имунния отговор на гостоприемникова организъм чрез инактивиране на системата на комплемента [1, 22], данните за него като фактор на вирулентност при *S. maltophilia* са оскъдни [8, 21]. В литературата е докладван случай на кожна естхума gangrenosum вследствие на бактериемия, предизвикана от щам *S. maltophilia*, при пациент с левкемия. Изследването на екзоензимния профил на този изолат е отчело желатиназна и еластазна активност. Една от функциите на **еластазата** е разграждане на еластичната стена на кръвоносните съдове, което улеснява освобождаването на бактериалните клетки в подкожната тъкан [12].

Естерази, липази и фосфолипази

Естеразите са група хидролитични ензими, които в някои случаи се асоциират с вирулентността. Тази хипотеза се подкрепя от споменатото проучване на Nikoletti et al., според което експресия на естеразна активност се доказва при повечето изолати *S. maltophilia* от пациенти с муковисцидоза. В генома на щам *S. maltophilia* K279a предполагаемата **външноембранна естераза** е кодирана в т. нар. *Smlt3773* локус. На базата на неговата ДНК последователност, авторите са разработили двойка праймери за откриване на естераза-кодиращ ген в щамове *S. maltophilia*. Сред тях са открити и такива, при които въпреки наличието на гена липсва естеразна активност. За установяване на причината са секвенирани амплифицираните фрагменти от естераза-негативните щамове. Както е очаквано, в тях се откриват “frameshift” мутации, които формират неактивни стоп кодони, докато анализът на ампликони, получени от естераза-продуциращи щамове, потвърждава наличието на дивия тип. Тези резултати показват, че локусът, кодиращ естеразата, е високо консервативен и че при клиничните изолати *S. maltophilia* от пациенти с муковисцидоза със значителна честота възникват нефункционални варианти [44].

Извънклетъчните **липази** подпомагат преживяването на бактериите в бедна на въглехидрати среда, където липидите са единствен източник на въглерод, а също така участват в прикрепването към тъканите на гостоприемника [60]. Производството на липази при микроорганизми, причинители на белодробни инфекции, допринася за вирулентността им по два начина – чрез хидролизиране на богатите на липиди тъканни компоненти на белите дробове или предизвиквайки интензивен възпалителен имунен отговор [40]. Различни изследвания на клинични изолати *S. maltophilia* доказват, че всички те продуцират липаза във високи количества и това предполага важната роля на тези ензими в патогенезата [60, 61]. В допълнение може да се отбележи, че при пациенти, страдащи от муковисцидоза, са доказани IgG антитела срещу липаза и фосфолипаза С [57].

В генома на *S. maltophilia* са открити гени, кодиращи **нехемолитична фосфолипаза С**, както и **фосфолипази от клас D** [14]. Фосфолипазите разграждат фосфолипидите до мастни киселини и участват във вирулентността със способността си да разрушават клетъчни мембрани, но механизмът им на патогенност е силно вариабелен сред бактериалните видове [55, 61]. Доказано е, че представляват фактор на вирулентност при някои Грам-отрицателни неферментиращи глюкозата бактерии, като напр. *Pseudomonas aeruginosa* [58] и *Burkholderia pseudomallei* [37]. Фосфолипазите осигуряват възможност на патогените да навлязат в тъканите и клетките на макроорганизма и да засегнат нормалното клетъчно функциониране. Като фактори на вирулентност те участват в разрушаването на защитни макромолекули на гостоприемника като мукус, липопротеинови мембрани и имуноглобулини [27]. При изследване на клинични изолати *S. maltophilia* активност е отчетена само при щамове, изолирани от черен дроб и трахея. Същото проучване демонстрира лецитиназна активност само при щамове, които същевременно проявяват и хемолитична активност [27]. Travassos et al. отчитат фосфолипаза С (лецитиназа) при всички тестови от тях клинични щамове, но в много ниски количества. Въпреки това авторите не изключват участието им в патогенезата [61]. Трето проучване, обхващащо 108 клинични щамове *S. maltophilia*, установява, че нито един изолат от урина не продуцира лецитиназа, докато тази активност варира при щамовете, изолирани от други материали (трахеален секрет, кръв, ликвор, хрчка, рана) – от 43,5% до 100%; лецитиназна продукция липсва при 19,1% изолати от трахеален секрет и 56,5% от кръв [60].

Нуклеази

Продукцията на извънклетъчни нуклеази (ДНК-аза и РНК-аза) е регистрирана и доказана при всички изследвани щамове *S. maltophilia* още в ранните проучвания върху ензимната активност на този микроорганизъм. Неговата способност да разгражда ДНК със специфични ДНК-ази е предложена за диагностична характеристика, но все още не е била изяснена ролята на тези ензими като фактор на вирулентността [7, 47, 65].

При изследване на 39 нозокомиални изолата *S. maltophilia* от Бразилия, резултатите от качествени ензимни тестове показват ДНК-азна активност при 97,6% от щамовете. Научната работа на Thomas et al. регистрира ДНК-азна продукция при всички клинични изолати *S. maltophilia* от трахеален секрет, хрчка, ликвор, рана и урина; по-малък е процентът (94,8%) само при щамовете от кръв. Тези данни са в съответствие с получените в предходни проучвания [47, 60, 61].

За ДНК-азата понастоящем е известно, че допринася за избягване на вродения имунен отговор на гостоприемника чрез деградиране на неутрофилните екстрацелуларни „капани“ (neutrophil extracellular traps – NETs). Те представляват мрежовидни структури, отделяни от активирани неутрофилни левкоцити, способни да улавят и убиват бактериалните клетки в извънклетъчните пространства. Съдържат протеини, но техен основен структурен компонент е ДНК. Освен че пречат за разпространението на микроорганизмите, NETs осигуряват високи локални концентрации на антимикробни молекули, противодействащи на бактериалните фактори на вирулентност [11, 60].

Хиалуронидаза

За хиалуронидазата като фактор на вирулентност при *S. maltophilia* има малко данни, но като цяло е известно, че този ензим улеснява тъканната инвазия [60]. Добре проучена и доказана е ролята ѝ при Грам-положителни бактерии, продуциращи ензима в големи количества. Той действа, като деполимеризира хиалуроновата киселина (важен компонент на съединителната тъкан при хората) и така способства за разпространението на бактериалните клетки в тъканите на макроорганизма. Освен това продуктите на ензимното действие са дизахариди, които могат да бъдат усвоявани от патогените [1, 33]. Ролята на хиалуронидазите да осигуряват нутриенти за бактериите се счита за тяхна главна функция при Грам-отрицателните микроорганизми [18].

В проучването на Thomas et al. 108 клинични изолата са изследвани за продукция на хиалуронидаза. Прави впечатление, че всички изследвани щамове продуцират ензима с изключение на изолатите от урина [60].

Хепариназа

Хепариназата е ензим, който играе важна роля при разграждането на извънклетъчния матрикс в тъканите на макроорганизма (основно в дихателната система) и допринася за повишаване инвазивността на патогена [39]. Субстрат на този ензим е хепарин сулфатът, който е компонент на протеогликаните от извънклетъчния матрикс на бронхиалните дихателни пътища. Посредством действието му се отключват патологични процеси, водещи до трахеобронхиална инфекция [53]. Сред всички анализирани ензими в изследването на Thomas et al. само при хепариназата се отбелязват вариации според клиничния материал, от който са изолирани щамове. Позитивни за продукция на хепариназа са съответно 80% от щамове, изолирани от храчки, 71,4% от трахеален секрет, 69,2% от кръв, 69,2% от рани и 66,6% от ликвор; щамове, изолирани от урина, не са показали хепариназна активност. Също така се отбелязва малка разлика според това дали щамове са изолирани от медицински устройства, или не – малко по-голям е процентът на продуциращите хепариназа щамове, асоциирани с медицински устройства (73,2%), отколкото на останалите (62,1%) [60].

Хемолизин

Производството на хемолизин е от ключово значение за вирулентността на Грам-отрицателните неферментиращи глюкозата бактерии [61]. При изследване на ензимния профил на клинични изолати *S. maltophilia* с различен произход е доказана продукцията му от всички тях [60]. От друга страна, при проучване на Figueirêdo et al. хемолитична активност (главно спрямо овнешки еритроцити) е отчетена при половината от изследваните щамове, като те са демонстрирали и продукция на липазни, протеазни и лецитиназни ензими, разрушаващи клетъчните мембрани, което навежда авторите на предположението, че ензимната активност може да корелира с хемолитичната [27]. Това схващане се подкрепя и от доказаната в по-ранни изследвания зависимост на хемолитичната активност на *S. maltophilia* от източника на кръв [47]. В едно от тях всички изследвани щамове са били хемолитични на агар, съдържащ овнешка кръв, 90,4% със заешка, докато на агар с човешка кръв –

само 64,3% от тестваните щамове. Тези резултати могат да бъдат обяснени с различията във фосфолипидното съдържание на клетъчните мембрани на еритроцитите [61]. Figueirêdo et al. отбелязват температурно зависим ефект, изразяващ се в проява на хемолизата само след като културални супернатанти и овнешки еритроцити са инкубирани за 1 час на 37° C, последвано от поддържане на 4° C за цяла нощ. Това води до заключението, че *S. maltophilia* произвежда хемолизин, сходен на по-рано описаните "hot-cold" хемолизини [27, 54].

Цитотоксини

Споменатото изследване на Figueirêdo et al. демонстрира, че цитотоксичните ефекти, предизвикани от клинични изолати *S. maltophilia*, се различават от действието на повечето описани до момента токсини. Филтрати от културални супернатанти на щамове *S. maltophilia* предизвикват окръгляне, загуба на междуклетъчни връзки и мембранни изменения, като образуване на мехурчета, последвано от смърт на HEp-2 клетъчни линии след 24 часа. При Vero и HeLa клетки цитотоксичните ефекти се проявяват първоначално чрез окръгляне, засилена ендцитоза и клетъчна агрегация в рамките на 30-минутна инкубация и напълно разрушаване и клетъчна смърт след 72 часа. При същото проучване е установено, че цитотоксичният компонент е термолабилен – при загряване на супернатантите на 56° C се загубва цитотоксичната им активност и не се наблюдават морфологични промени след 48 часа инкубация на животински клетки [27].

Клетъчно свързани фактори на вирулентност

Липополизахарид

Както всички Грам-отрицателни бактерии, *S. maltophilia* притежава външномембранен липополизахарид (ЛПЗ), съставен от липид А, сърцевинен (core) олигозахарид и О-специфичен полизахарид (О-антиген) [46]. ЛПЗ е фактор на вирулентност, който участва в колонизацията и резистентността към комплемент-зависимата клетъчна цитотоксичност [41, 42].

Доказано е, че мутации, водещи до недостатъчна дължина на ЛПЗ, значително редуцират вирулентността на *S. maltophilia* при модел на белодробна инфекция в плъхове. Ефектът се изразява в неспособност на мутантен щам с неактивен *spgM* ген (кодиращият от него ензим участва в сглобяването на полизахаридната верига на О-антигена) да колонизира бели дробно-

ве на плъхове за разлика от дивия родителски щам. Белодробните тъкани, инокуирани с мутантния щам, не са показали хистопатологични промени, а такива са наблюдавани при инфектираните с дивия щам. В допълнение, същото изследване демонстрира, че мутантният щам е чувствителен на комплемент-зависимата клетъчна цитотоксичност, а дивият – не. Всички тези наблюдения подчертават значението на ЛПЗ като фактор на вирулентност при инфекциите със *S. maltophilia* [8, 42].

Липид А-компонентът на ЛПЗ се включва в патогенезата на възпалението на дихателните пътища, като стимулира мононуклеарните клетки от периферна кръв и алвеоларните макрофаги да продуцират тумор-некротизиращ фактор- α (TNF- α). Той от своя страна индуцира активирането на неутрофили и макрофаги, чието натрупване и продукти нарушават нормалното функциониране на белите дробове. Чрез маспектрометричен анализ на липид А-компонента на клинични изолати *S. maltophilia* е установена висока степен на хетерогенност сред тях. Тези вариации между щамовете могат да бъдат свързани с различните нива на тяхната вирулентност [41, 66, 67].

Пили (фимбрии)

Прикрепването към епителни клетки е от ключово значение за иницирането на колонизация, със или без последваща инвазия, на тъканите на гостоприемника при много видове бактерии. Често то бива медирано от нишковидни структури – пили (фимбрии) [19, 26]. Фимбриалните (пилусни) адхезини опосредстват директното свързване на бактериите към таргетни клетки на макроорганизма или играят ролята на свързващо звено между бактериалните клетки и по този начин благоприятстват колонизацията и повлияват патогенезата. Установено е, че при много бактериални видове мутантите с дефект в продукцията на фимбрии са по-слабо вирулентни, отколкото родителските щамове и вероятно това се дължи на неефективното взаимодействие между бактериите и епителните клетки. Наличието на антитела срещу фимбриите при оздравели пациенти е маркер за инфекция и продукция на тези антигени *in vivo* [19, 36].

В изследване на de Oliveira-Garcia et al. са идентифицирани и охарактеризирани фимбриални структури, продуцирани от *S. maltophilia* – т. нар. SMF-1 фимбрии (*S. maltophilia* fimbriae 1). Авторите представят убедителни доказателства за участието на SMF-1 в хемаглутинацията, адхезията към клетки и образуването на биофилм. В проучването са използвани антитела срещу

SMF-1 фимбриите, които са оказали инхибиращ ефект върху аглутинацията на животински еритроцити (миши и кокоши), адхезията към HEp-2 клетки и формирането на биофилм от щамове *S. maltophilia*. В допълнение е доказана продукцията на SMF-1 фимбрии при всичките проучени клинични изолати и се предполага, че те са обичайна антигенна детерминанта за този вид [19]. Изследване на щамове *S. maltophilia*, изолирани от болни от муковисцидоза, доказва наличие на *smf-1* ген при всички тях, за разлика от изолати от околна среда. Това откритие подкрепя хипотезата, че SMF-1 фимбриите имат роля при колонизирането на тези пациенти от *S. maltophilia* [44]. Чрез електронна микроскопия с висока резолюция е показано още, че фимбриите действат като мостове между бактериите, прикрепени към инертни повърхности или към клетъчни култури от епителни клетки. Възможно е по този начин патогените да се свързват директно с клетките на гостоприемника или с повърхностите, както и да се увеличава и поддържа стабилността на биофилма [19].

Освен *Smf-1* фимбриалния оперон, в генома на *S. maltophilia* присъстват още два отделни локуса, които съдържат допълнителни гени, кодиращи предполагаеми фимбрии (пили), но те още не са проучени и охарактеризирани. Локализиран са още генен клъстер, кодиращ TadE-подобни пили/фимбрии (съществени за адхезията и формирането на биофилм), и клъстер, който притежава значително сходство с локуса за т.нар. "giant cable pilus" на *Burkholderia cenocepacia*, допринасящ за патогенността на този микроорганизъм при пациенти с муковисцидоза [14, 62, 64]. Идентифицирани се още и разпръснати в генома на *S. maltophilia* гени, които кодират субединиците и свързаните с тях апарати, специфични за тип IV пили [14]. Тези структури и участието им във вирулентността са регистрирани при някои Грам-отрицателни (*Neisseria* spp., *P. aeruginosa*, *Vibrio cholerae*, ентеропатогенни *Escherichia coli*) и Грам-положителни (*Clostridium perfringens*, *Streptococcus sanguis*) бактерии. Притежават редица функции, сред които са: адхезия към клетки на гостоприемника, осигуряване на подвижност чрез „трептене“ ("twitching" подвижност) и модулация на специфичността на таргетната клетка [35, 56]. При *S. maltophilia* не е открита статистически значима корелация между подвижността, медирана от тип IV пили, както с адхезията, така и с образуването на биофилм. Затова се счита, че тези структури могат да действат като биофилм адхезини качествено, независимо от тяхната функционалност [52]. При изолати от болни от муко-

висцидоза е установено, че макар да не участват в първоначалното прикрепяне на *S. maltophilia*, тип IV пилите играят съществена роля във формирането на биофилм. Това предполага наличието на специфичен механизъм, участващ в контрола на образуването на биофилм в бели дробове на такива пациенти [51].

Непилусни адхезини

Непилусните адхезини представляват къси мономерни или тримерни структури, прикачени директно към външната клетъчна мембрана. Поради относително късия си размер обикновено медиират близкия контакт между бактериалната клетка и субстрата. Също така участват във взаимодействията между клетките и тяхната агрегация, включват се в прикрепването на бактериите към абиотични повърхности и/или към клетки на макроорганизма, както и във формирането на биофилм. Освен това взаимодействат с различни компоненти на екстрацелуларния матрикс на биофилма, свързвайки го с бактериалните клетки и поддържайки неговата структура [10].

В генома на *S. maltophilia* K279a (изолат от болен с онкологично заболяване, с установена бактериемия) е открит участък, кодиращ потенциален непилусен адхезин. Това, както изглежда, е първото съобщение за наличието на подобен фактор на вирулентност при тези бактерии, който до момента не е проучен и охарактеризиран в детайли [14].

Ресни (флагели)

Флагелите, които са силно имуногенни структури, освен че осигуряват подвижността на бактериалните клетки, могат да играят и роля на адхезини – участват в прикрепването на бактериите към лигавици на гостоприемника, а също и към абиотични повърхности. Чрез електронна микрография при *S. maltophilia* са установени вариации в броя на флагеларните структури – от една до няколко, които са полярно разположени. Основен структурен компонент на ресните е белтъкът флагелин [8, 20, 50].

Визуализацията на бактериални монослоеве върху синтетични повърхности чрез сканираща електронна микроскопия с висока резолюция е показала, че флагелите участват в адхезията, свързвайки бактериалните клетки както една с друга, така и с повърхността. Авторите De Oliveira-Garcia et al. считат, че способността на *S. maltophilia* да се прикрепва към синтетична повърхност е от значение за установяването на опортюнистични инфекции при хоспитализирани и имунокомпрометирани пациенти [20].

Проучване на Zgair & Chhibber показва, че флагелите участват пряко в адхезията на клинични изолати *S. maltophilia* към трахеална лигавица от мишки, а също и се демонстрира ролята на флагелина като адхезин. В това изследване се съобщава, че свързването към мукуса чрез флагели възпрепятства свободното движение на бактериалните клетки в респираторния тракт и по този начин косвено влияе върху установяването на микроорганизмите. Също се изказва предположение, че формираните биофилми биват прикрепени към мукуса на лигавиците чрез флагели и така бактериите са защитени от имунния отговор на макроорганизма [69].

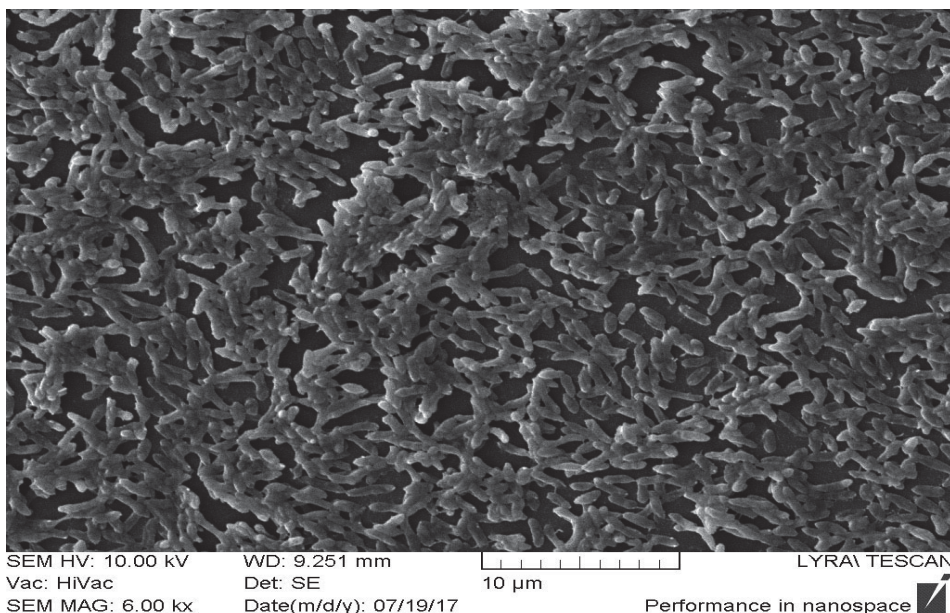
За оценяване ролята на ресните за способността на *S. maltophilia* да адхерира към монослой от IB3-1 клетки (човешки бронхиални епителни клетки от пациенти с муковисцидоза) е сравнена адхезивността на мутантни щамове с дефект във флагелума и дивия тип щамове. Резултатите са отчели, че загубата на флагели значително намалява бактериалната адхезивност, без да я премахва напълно. От друга страна, същото изследване е показало, че подвижността на бактериалните клетки не корелира значително с адхезивността към IB3-1 клетките. Взети заедно, тези резултати предполагат, че ролята на флагелите в адхезията на *S. maltophilia* не зависи от тяхната функционалност и вероятно други структури също участват в този процес [50].

Изследвания, сравняващи адхезията и количеството формиран биофилм върху поливинилхлоридни повърхности на мутантен щам *S. maltophilia* с дефект във флагелума (и съответно в подвижността), и неговия родителски, див тип изолат, не са отчели голяма разлика между тях. Тези данни са подсказали, че флагелите не повлияват значително формирането на биофилм, но вероятно играят важна роля в ранните етапи на прикрепването [8, 13]. От друга страна, проучване, сравняващо изолати от болни от муковисцидоза с такива, получени от немукковисцидозни пациенти, е отчело, че подвижността, основаваща се на флагели, само при първите е от съществено значение за развитието на биофилм, въпреки че не е задължителна за неговата инициация. На базата на тези резултати, авторите правят заключението, че адаптирайки се към средата в белите дробове на болни от муковисцидоза (по-екстремна в сравнение с други условия и изискваща в по-голяма степен клетъчни ресурси), при щамовете *S. maltophilia* се осъществява селекция на т.нар. CF (cystic fibrosis) фенотип [51].

БИОФИЛМ

Способността на *S. maltophilia* да формира биофилм върху различни абиотични повърхности и тъкани е важна характеристика на неговата вирулентност [49]. Биофилмът се състои от свързана с повърхността общност от бактериални клетки, които са включени в екстрацелуларен матрикс, изграден от полизахариди и протеини. Тази специфична структура осигурява висока устойчивост към различни антимикробни лекарствени средства, антисептични разтвори и действието на имунната защита на макроорганизма [8, 16, 19]. Образуването на биофилм допринася за прогресиране на белодробното заболяване при болни от муковисцидоза и други болести на дихателните пътища, свързани с установяването на хронични инфекции [17, 50].

Формирането на биофилм от *S. maltophilia* е проучвано на различни абиотични повърхности (тефлон, стъкло, полистирен (фиг. 1), поливинилхлорид); клетъчни култури (HEp-2, IB3-1) и тъкани [8]. Обобщените резултати от различни изследвания показват, че образуването на биофилм върху абиотични повърхности се различава от наблюдаваното върху клетъчни култури (напр. епителни клетки от бронхиалното дърво на пациенти с муковисцидоза) или биотични повърхности при животински модели. От съществено значение е проблемът за наличието на биофилми върху влажни повърхности в болничната среда, които могат да влязат в директен или индиректен контакт с пациенти: при дихателни тръби, катетри, абокати, диализна апаратура, зъболекарско оборудване, болнични водопроводни системи (мивки и смесители) и др. [8].



Фиг. 1. Сканираща електронна микрография, илюстрираща образуване на биофилм от референтен щам *S. maltophilia* ATCC 13637 върху полистиренова повърхност след 24-часова инкубация (Д. Борисова, 2017)

Установени са оптималните лабораторни условия за образуване на биофилм при клинични изолати *S. maltophilia*: повече биофилми те образуват на 32°C, отколкото на 37°C и 18°C; нивата на производство на биофилм са високи при аеробни условия и в атмосфера с 6% CO₂, отколкото при анаеробни условия; изолатите произвеждат сходни количества биофилм при рН 8,5 и рН 7,5, но по-големи от тези, произведени при рН 5,5 [8, 24]. Присъщи на клиничните изолати са различия в нивата на продукция на биофилм и според тази характеристика те се разделят на силно, средно и слабо продуциращи биофилм. Чрез конфокална

лазерносканираща микроскопия е демонстрирано, че щамове *S. maltophilia*, изолирани в ранните етапи на хронична инфекция, са способни да формират по-структуриран и многослоен биофилм в сравнение с тези от късните фази, които от своя страна имат значително понижена адхезивност и липса на способност да образуват зрял биофилм. Счита се, че тази особеност е следствие от адаптирането на *S. maltophilia* към „стресова“ среда, каквато са белите дробове на болни от муковисцидоза или хронична обструктивна белодробна болест [70].

Един от ранните етапи на образуването на биофилм е адхезията на бактериалните клетки

към повърхността. При *S. maltophilia* в този процес важно участие имат адхезините – SMF-1 фимбрии и флагели [19, 20]. Доказано е, че експресията на гените *spgM*, *rmlA* и *rpfF* е тясно свързана с формирането на биофилм, но това не повлиява в значителна степен неговото количество (сигнификантни мутации в *spgM* и *rmlA* са открити и при силно, и при слабо продуциращи биофилм щамове) [70]. Генът *spgM* кодира ензим с фосфоглюкомутазна и фосфоманомутазна активност (фосфоглюкомутазата се асоциира със синтеза на ЛПЗ и алгинат) [42]. Мутации в *rmlA*, кодиращ глюкозо-1-фосфат тимидилтрансфераза, причиняват изменения в ЛПЗ, водещи до промени във флагелите и тип IV пилите, а те от своя страна се отразяват на подвижността, прикрепването и формирането на биофилм [32, 51]. От гена *rpfF* е напълно зависим синтезът на дифузионен сигнализиращ фактор (DSF) [28]. Той участва в т. нар. “cell-to-cell” сигнализация между отделните бактериални клетки (или “quorum sensing”), осигуряваща процесите на комуникация между бактериалните клетки, които позволяват на популациите да синхронизират своята генна експресия, когато достигнат критичната клетъчна плътност. Разпадането на DSF молекулите и съответно прекъсване на DSF сигнализацията води до по-слабо развитие на биофилм, загуба на подвижност, понижена продукция на извънклетъчни протеази и повишена чувствителност към определени антибиотици и тежки метали [28, 34].

В заключение, патогенезата на причинените от *S. maltophilia* инфекции е несъмнено многофакторна, както се вижда от големия брой фактори на вирулентност и широкия спектър заболявания. Продукцията на някои от извънклетъчните и клетъчно свързаните фактори на вирулентност, както и образуването на биофилм, се контролира от единната регулаторна система “quorum sensing”. Тя осигурява тяхната експресия по един координиран, зависим от клетъчната плътност начин, чрез който бактериите могат да преодолеят защитните механизми на макроорганизма.

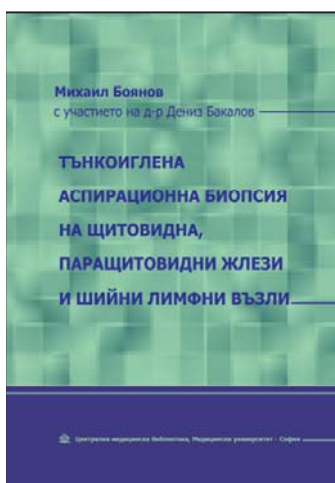
Библиография

1. Атанасова, Д., Т. Стратева, И. Митов. Фактори на вирулентност и бактериоцини при клинично значими бактерии от род *Enterococcus*. Мед. преглед, 49, 2013, № 2, 20-30.
2. Божкова, М. Микробиологични и молекулярно-генетични проучвания върху епидемиологията и резистентността към антимикробни лекарствени средства в клинични изолати *Stenotrophomonas maltophilia*. Дисертационен труд за присъждане на образователна и научна степен “доктор”, Варна, 2016.
3. Божкова, М., Т. Стоева, К. Божкова. Вътреболнични инфекции, причинени от *Stenotrophomonas maltophilia*. Мед. преглед, 51, 2015, № 4, 12-18.
4. Божкова, М., Т. Стоева, Р. Марковска, К. Божкова, И. Митов. In vitro активност на антибиотични комбинации срещу клинични изолати *Stenotrophomonas maltophilia*. Мед. преглед, 51, 2015, № 5, 33-37.
5. Петрова, Г., Т. Стратева, П. Переновска. Етиологичната структура на инфекциите на долните дихателни пътища при пациенти с муковисцидоза. In Spiro, 3, 2011, № 15, 40-43.
6. Трифонова, А., Е. Савов. *Stenotrophomonas maltophilia* – нозокомиален патоген с нарастваща значимост. Военна медицина, 1-2, 2015, 28-33.
7. Arella, M., M. Sylvestre. Production of an extracellular ribonuclease by *Pseudomonas maltophilia*. Can. J. Microbiol., 25, 1979, № 3, 321-328.
8. Brooke, J. S. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. Clin. Microbiol. Rev., 25, 2012, № 1, 2-41.
9. Boethling, R. S. Regulation of extracellular protease secretion in *Pseudomonas maltophilia*. J. Bacteriol., 123, 1975, № 3, 954-961.
10. Berne, C. et al. Adhesins involved in attachment to abiotic surfaces by Gram-negative bacteria. Microbiol. Spectr., 3, 2015, № 4, doi:10.1128/microbiolspec.MB-0018-2015.
11. Brinkmann, V. et al. Neutrophil extracellular traps kill bacteria. Science, 303, 2004, № 5663, 1532-1535.
12. Bottone, E. et al. *Pseudomonas maltophilia* exoenzyme activity as correlate in pathogenesis of ecthyma gangrenosum. J. Clin. Microbiol., 24, 1986, № 6, 995-997.
13. Borovilos, M., S. T. Shulman, J. S. Brooke. Role of flagella in biofilm formation by *Stenotrophomonas maltophilia*, abstr B2. Abstracts. 55th Annu. Conf. Can. Soc. Microbiol. Canadian Society of Microbiologists, Ottawa, Ontario, Canada. 2005.
14. Crossman L. C., et al. The complete genome, comparative and functional analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* reveals an organism heavily shielded by drug resistance determinants. Genome Biol., 9, 2008, № 4, R74.
15. Casadevall, A., L. Pirofski. Virulence factors and their mechanisms of action: the view from a damage-response framework. J. Water Health, 7, 2009, № 1, 2-18.
16. Costerton, J. W. et al. Microbial biofilms. Ann. Rev. Microbiol., 49, 1995, 711-745.
17. Costerton, J. W., P. S. Stewart, E. P. Greenberg. Bacterial biofilms: a common cause of persistent infections. Science, 284, 1999, № 5418, 1318-1322.
18. Cheng, Q. et al. Identification and characterization of a *Bacteroides* gene, *csuF*, which encodes an outer membrane protein that is essential for growth on chondroitin sulfate. J. Bacteriol., 177, 1995, № 13, 3721-3727.
19. de Oliveira-Garcia, D. et al. Fimbriae and adherence of *Stenotrophomonas maltophilia* to epithelial cells and to abiotic surfaces. Cell Microbiol., 5, 2003, № 9, 625-636.
20. de Oliveira-Garcia, D. et al. Characterization of flagella produced by clinical strains of *Stenotrophomonas maltophilia*. Emerg. Infect. Dis., 8, 2002, № 9, 918-923.
21. Denton, M., K. G. Kerr. Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. Clin. Microbiol. Rev., 11, 1998, № 1, 57-80.
22. Di Rosa, R. et al. Relationship between biofilm formation, the enterococcal surface protein (Esp) and gelatinase in

- clinical isolates of *Enterococcus faecalis* and *Enterococcus faecium*. *FEMS Microbiol Lett.*, 256, 2006, № 1, 145-50.
23. DuMont, A. L., S. M. Karaba, N. P. Cianciotto. Type II secretion-dependent degradative and cytotoxic activities mediated by *Stenotrophomonas maltophilia* serine proteases StmPr1 and StmPr2. *Infect. Immun.*, 83, 2015, № 10, 3825-3837.
24. Di Bonaventura, G. et al. Effect of environmental factors on biofilm formation by clinical *Stenotrophomonas maltophilia* isolates. *Folia Microbiol.*, 52, 2007, № 1, 86-90.
25. Elsner, H. A. et al. Fatal pulmonary hemorrhage in patients with acute leukemia and fulminant pneumonia caused by *Stenotrophomonas maltophilia*. *Ann. Hematol.*, 74, 1997, № 4, 155-161.
26. Finlay, B. B., S. Falkow. Common themes in microbial pathogenicity: revisited. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.*, 61, 1997, № 2, 136-169.
27. Figueirêdo, P. M. S. et al. Cytotoxic activity of clinical *Stenotrophomonas maltophilia*. *Lett. Appl. Microbiol.*, 43, 2006, № 4, 443-449.
28. Fouhy, Y. et al. Diffusible signal factor-dependent cell-cell signaling and virulence in the nosocomial pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *J. Bacteriol.*, 189, 2007, № 13, 4964-4968.
29. Fujita, J. et al. Clinical features of *Stenotrophomonas maltophilia* pneumonia in immunocompromised patients. *Respir. Med.*, 90, 1996, № 1, 35-38.
30. Gutierrez, C. et al. Fatal hemorrhagic pneumonia: Don't forget *Stenotrophomonas maltophilia*. *Respire. Med. Case Rep.*, 19, 2016, 12-14.
31. Huang, X. et al. The investigation of nematocidal activity in *Stenotrophomonas maltophilia* G2 and characterization of a novel virulence serine protease. *Can. J. Microbiol.*, 55, 2009, № 8, 934-942.
32. Huang, T. P., E. B. Somers, A. C. L. Wong. Differential biofilm formation and motility associated with lipopolysaccharide/exopolysaccharide-coupled biosynthetic genes in *Stenotrophomonas maltophilia*. *J. Bacteriol.*, 188, 2006, № 8, 3116-3120.
33. Hynes, W. L., S. L. Walton. Hyaluronidases of Gram-positive bacteria. *FEMS Microbiol. Lett.*, 183, 2000, № 2, 201-207.
34. Huedo, P. et al. Decoding the genetic and functional diversity of the DSF quorum-sensing system in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Front. Microbiol.*, 6: 761, 2015, doi: 10.3389/fmicb.2015.00761.
35. Kline, K. A. et al. Bacterial adhesins in host-microbe interactions. *Cell Host & Microbe*, 5, 2009, № 6, 580-592.
36. Klemm, P., M. A. Schembri. Bacterial adhesins: function and structure. *Int. J. Med. Microbiol.*, 290, 2000, № 1, 27-35.
37. Korbsrisate, S. et al. Characterization of two distinct phospholipase C enzymes from *Burkholderia pseudomallei*. *Microbiol.*, 153, 2007, № 6, 1907-1915.
38. Karaba, S. M., R. C. White, N. P. Cianciotto. *Stenotrophomonas maltophilia* encodes a type II protein secretion system that promotes detrimental effect on lung epithelial cells. *Infect. Immun.*, 81, 2013, № 9, 3210-3219.
39. Lodise, T. P., P. S. McKinnon. Clinical and economic impact of methicillin resistance in patients with *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.*, 52, 2005, № 2, 113-122.
40. Lonon, M. K., D. E. Woods, D. C. Straus. The effects of purified 25 kDa-lipase from a clinical isolate of *Pseudomonas cepacia* in the lungs of rats. *Curr. Microbiol.*, 25, 1992, № 2, 89-93.
41. Looney, W. J., M. Narita, K. Mühlemann. *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging opportunist human pathogen. *Lancet Infect. Dis.*, 9, 2009, № 5, 312-323.
42. McKay, G. A. et al. Role of phosphoglucomutase of *Stenotrophomonas maltophilia* in lipopolysaccharide biosynthesis, virulence, and antibiotic resistance. *Infect. Immun.*, 71, 2003, № 6, 3068-3075.
43. Mihaylova, S. A. et al. Emergence of clinical strains of *Stenotrophomonas maltophilia* resistant to trimethoprim/sulfamethoxazole in a Bulgarian university hospital. *J. Biomed. Clin. Res.*, 1, 2008, № 1, 18-25.
44. Nikoletti, M. et al. *Stenotrophomonas maltophilia* strains from cystic fibrosis patients: genomic variability and molecular characterization of some virulence determinants. *Int. J. Med. Microbiol.*, 301, 2011, № 1, 34-43.
45. Nseir, S. et al. Intensive care unit-acquired *Stenotrophomonas maltophilia*: incidence, risk factors, and outcome. *Crit. Care*, 10, 2006, № 5, R143.
46. Neal, D. J., S. G. Wilkinson. Lipopolysaccharides from *Pseudomonas maltophilia*. Structural studies of the side-chain, core, and lipid-A regions of the lipopolysaccharide from strain NCTC 10257. *Eur. J. Biochem.*, 128, 1982, № 1, 143-149.
47. O'Brien, M., G. H. Davis. Enzymatic profile of *Pseudomonas maltophilia*. *J. Clin. Microbiol.*, 16, 1982, № 3, 417-421.
48. Ohkoshi, Y. et al. Pseudoaneurysm of the subclavian artery due to *Xanthomonas pneumonia* in a patient with acute myeloid leukemia: its rupture treated by transcatheter coil embolization. *Intern. Med.*, 38, 1999, № 8, 671-674.
49. Passerini de Rossi, B. et al. Biofilm formation by *Stenotrophomonas maltophilia* from device-associated nosocomial infections. *Rev. Argent. Microbiol.*, 39, 2007, № 4, 204-212.
50. Pompilio, A. et al. Adhesion to and biofilm formation on IB3-1 bronchial cells by *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from cystic fibrosis patients. *BMC Microbiol.*, 10, 2010, 102, doi: 10.1186/1471-2180-10-102.
51. Pompilio, A. et al. Phenotypic and genotypic characterization of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from patients with cystic fibrosis: Genome diversity, biofilm formation, and virulence. *BMC Microbiol.*, 11, 2011, 159, doi: 10.1186/1471-2180-11-159.
52. Pompilio, A. et al. Factors associated with adherence to and biofilm formation on polystyrene by *Stenotrophomonas maltophilia*: the role of cell surface hydrophobicity and motility. *FEMS Microbiol. Lett.*, 287, 2008, № 1, 41-47.
53. Rahmoune, H. et al. Chondroitin sulfate in sputum from patients with cystic fibrosis and chronic bronchitis. *Am. J. Respir. Cell. Mol. Biol.*, 5, 1991, № 4, 315-320.
54. Rowe, G. E., R. A. Welch. Assays of hemolytic toxins. *Methods Enzymol.*, 235, 1994, 657-667.
55. Songer, J. G. Bacterial phospholipases and their role in virulence. *Trends Microbiol.*, 5, 1997, № 4: 156-161.
56. Soto, G. E., S. J. Hultgren. Bacterial adhesins: common themes and variations in architecture and assembly. *J. Bacteriol.*, 181, 1999, № 4, 1059-1071.
57. Stehr, F. et al. Microbial lipases as virulence factors. *J. Molec. Cat.B Enz.*, 22, 2003, № 5-6, 347-355.
58. Strateva, T., I. Mitov. Contribution of an arsenal of virulence factors to pathogenesis of *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Ann. Microbiol.*, 61, 2011, № 4, 717-732.
59. Tamura, H. et al. Fulminant hepatitis complicated by small intestine infection and massive hemorrhage. *J. Gastroenterol.*, 33, 1998, № 3, 412-418.

60. Thomas, R., R. A. Hamat, V. Neela. Extracellular enzyme profiling of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *Virulence*, 5, 2014, № 2, 326-330.
61. Travassos, L. H. et al. Phenotypic properties, drug susceptibility and genetic relatedness of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical strains from seven hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. *J. Appl. Microbiol.*, 96, 2004, № 5, 1143-1150.
62. Tomich, M., P. J. Planet, D. H. Figurski. The tad locus: postcards from the widespread colonization island. *Nat. Rev. Microbiol.*, 5, 2007, № 5, 363-375.
63. Travis, J., J. Potempa, H. Maeda. Are bacterial proteinases pathogenic factors? *Trends Microbiol.*, 3, 1995, № 10, 405-407.
64. Urban, T. A. et al. Cable pili and the 22-kilodalton adhesin are required for *Burkholderia cenocepacia* binding to and transmigration across the squamous epithelium. *Infect. Immun.*, 73, 2005, № 9, 5426-5437.
65. von Riesen, V. L. Digestion of alginate by *Pseudomonas maltophilia* and *Pseudomonas putida*. *Appl. Environ. Microbiol.*, 39, 1980, № 1, 92-96.
66. Vickers, I. E., M. F. Smikle. The immunomodulatory effect of antibiotics on the secretion of tumour necrosis factor alpha by peripheral blood mononuclear cells in response to *Stenotrophomonas maltophilia* stimulation. *West Ind. Med. J.*, 55, 2006, № 3, 138-141.
67. Waters, V. J. et al. Immunostimulatory properties of the emerging pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Infect. Immun.*, 75, 2007, № 4, 1698-1703.
68. Windhorst, S. et al. The major extracellular protease of the nosocomial pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *J. Biol. Chemistry*, 277, 2002, № 13, 11042-11049.
69. Zgair, A. K., S. Chhibber. Adhesion of *Stenotrophomonas maltophilia* to mouse tracheal mucus is mediated through flagella. *J. Med. Microbiol.*, 60, 2011, № 7, 1032-1037.
70. Zhuo, C., Q. Y. Zhao, S. N. Xiao. The impact of spgM, rpfF, rmlA gene distribution on biofilm formation in *Stenotrophomonas maltophilia*. *PLoS One*, 9, 2014, № 10, e108409.

Постъпил за печат на 27 август 2017 г.



Михаил Боянов
с участието на Дениз Бакалов
ТЪНКОИГЛЕНА АСПИРАЦИОННА БИОПСИЯ
НА ЩИТОВИДНА, ПАРАЩИТОВИДНИ ЖЛЕЗИ
И ШИЙНИ ЛИМФНИ ВЪЗЛИ
 Централна медицинска библиотека, 2017, 224 с.

Полезна и навременна разработка, структурирана в две отделни части. Първата съдържа ценна информация за показанията за ТАБ на тиреоидните нодули, техниката на извършването ѝ и основните критерии на цитопатологичната диагноза. Особено внимание е обърнато на ехографската характеристика на тиреоидните нодули и белезите, предсказващи повишен риск за малигненост и определящи необходимостта от извършване на ТАБ при конкретния пациент. Във втората част, на базата на множество примери от ежедневната клинична практика и

снимков материал, са показани убедително предимствата и значението на ТАБ под ехографски контрол при диференциалната диагноза на тиреоидните нодули. Представеният атлас илюстрира голямото разнообразие от ехографски образи на тиреоидни нодули с една и съща цитологична характеристика, но и наличието на такива със сходна ехографска характеристика, класифицирани в различни цитопатологични категории. На базата на своята дългогодишна работа и натрупания опит авторът доказва, че именно внимателната и прецизна интерпретация на клинично-лабораторните, ехографските и цитологичните данни е верният път към точната диагноза и последващото поведение при многобройните пациенти с тиреоидни нодули.

Ръководството е насочено към всички специалисти от многопрофилния екип (ендокринолози, цитопатолози, хирурзи), свързани с диагностицирането и поведението при пациентите с тиреоидни нодули, с оглед постигане на качествена, навременна и прецизна диагностика, от която зависи резултатът от лечението.