

## ЕТИОЛОГИЧЕН СПЕКТЪР И АНТИМИКРОБНА ЛЕКАРСТВЕНА РЕЗИСТЕНТНОСТ НА НАЙ-ЧЕСТИТЕ ПРИЧИНТЕЛИ НА ИНФЕКЦИИ НА КРЪВТА ПРИ ПАЦИЕНТИ С ОНКОХЕМАТОЛОГИЧНИ ЗАБОЛЯВАНИЯ

Т. Стоева<sup>1</sup>, М. Божкова<sup>1</sup>, Р. Марковска<sup>2</sup> и К. Божкова<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Катедра по микробиология, Медицински университет – Варна

<sup>2</sup>Катедра по медицинска микробиология, Медицински университет – София

## ETIOLOGY AND ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF THE MOST FREQUENTLY ISOLATED PATHOGENS OF BLOODSTREAM INFECTIONS IN PATIENTS WITH HEMATOLOGICAL MALIGNANCIES

T. Stoeva<sup>1</sup>, M. Bozhkova<sup>1</sup>, R. Markovska<sup>2</sup> and K. Bozhkova<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Department of Microbiology, Medical University – Varna

<sup>2</sup>Department of Medical Microbiology, Medical University – Sofia

<p><b>Резюме:</b></p> <p><b>Ключови думи:</b></p> <p><b>Адрес за кореспонденция:</b></p>	<p>Цел на настоящата работа е да се проучат етиологичният спектър и резистентността към антимикробни лекарствени средства на най-честите бактериални причинители на инфекции на кръвта в пациенти с онкохематологични заболявания от Клиниката по хематология на МБАЛ "Св. Марина" – Варна, за петгодишен период (2010-2014 г.). Изолирани бяха общо 144 клинично значими бактериални изолата от хемокултури на 144 пациенти. За проучвания период по-чести етиологични агенти са Грам-отрицателните бактерии, 54.7%, като водещите патогени са <i>E. coli</i> (18.8%), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (10.4%) и <i>Enterobacter</i> spp. (8.3%). Грам-положителните бактерии се доказват в 38% от случаите и са представени от <i>Staphylococcus aureus</i> (26.4%) и <i>Enterococcus</i> spp. (6.8%). Представителите на род <i>Candida</i> заемат пето място по честота на изолируемост – 7.6%. Делът на extended-spectrum <math>\beta</math>-lactamases (ESBLs) продуцентите е съответно: 25% за <i>Enterobacter</i> spp., 67% за <i>Klebsiella pneumoniae</i> и 73.3% за <i>E. coli</i>. Карбапенемите (имипенем, меропенем) са с напълно съхранена активност спрямо представителите на семейство <i>Enterobacteriaceae</i>. Сред изолатите <i>E. coli</i> и <i>K. pneumoniae</i> нивата на хинолонова резистентност са между 40.7% и 67%. И срещу трите бактериални вида <i>E. coli</i>, <i>K. pneumoniae</i> и <i>Enterobacter</i> spp., амикацин демонстрира много по-добра активност (0-6.6% резистентност) в сравнение с gentamicin (25-80% резистентност). Делът на метицилин-резистентните <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) е 10.5%. Всички изолати <i>Enterococcus faecium</i> демонстрират резистентност към ciprofloxacin. Високи нива на хинолонова резистентност се доказват и за <i>Enterococcus faecalis</i> (66.6%). Не се идентифицират изолати стафилококи и ентерококи, резистентни на гликопептидни антибиотици. Проучването установява доминиране на Грам(-) бактерии в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта при пациенти с онкохематологични заболявания и възникването на проблемни за лечение множественорезистентни микроорганизми, феномен, който е отражение на увеличаващата се антибиотична резистентност в обществото.</p> <p>онкохематологични заболявания, инфекции на кръвта, микробен спектър, антибиотична резистентност</p> <p>Доц. д-р Теменуга Стоева, дм, Катедра по микробиология, Медицински университет – Варна, e-mail: temenuga.stoeva@abv.bg</p>
<p><b>Summary:</b></p>	<p>We aimed to study the etiology and antimicrobial resistance of the most frequently isolated bacterial pathogens of bloodstream infections in patients with hematological malignancies from the Hematology Department at University</p>

<p><b>Key words:</b></p> <p><b>Address for correspondence:</b></p>	<p>Hospital "Sv. Marina", Varna, during the period 2010-2014. A total of 144 clinically significant bacterial isolates were obtained from blood cultures, collected from 144 patients. Gram-negative bacteria were detected in 54.7% with <i>E. coli</i> (18.8%), <i>Klebsiella pneumoniae</i> (10.4%) and <i>Enterobacter</i> spp. (8.3%) being the dominant pathogens. Gram-positive bacteria were found in 38% of cases and were represented mainly by <i>Staphylococcus aureus</i> (26.4%) and <i>Enterococcus</i> spp. (6.8%). <i>Candida</i> spp. were isolated in 7.6% of patients. The rates of extended-spectrum <math>\beta</math>-lactamases (ESBL) producers in <i>Enterobacteriaceae</i> were as follows: 25% for <i>Enterobacter</i> spp., 67% for <i>Klebsiella pneumoniae</i> and 73.3% for <i>E. coli</i>. The carbapenems (imipenem, meropenem) demonstrated preserved activity against <i>Enterobacteriaceae</i> (no resistance detected). The resistance rate of <i>E. coli</i> and <i>K. pneumoniae</i> isolates to quinolones was 40.7% and 67% respectively. Amikacin was more active against <i>E. coli</i>, <i>K. pneumoniae</i> and <i>Enterobacter</i> spp. (0-6.6% resistance) than gentamicin (25-80% resistance). Methicillin-resistant <i>Staphylococcus aureus</i> (MRSA) isolates were identified in 10.5% of cases. All <i>Enterococcus faecium</i> isolates were resistant to ciprofloxacin. High resistance rate to quinolones was found in <i>Enterococcus faecalis</i> (66.6%). Among staphylococci and enterococci, no resistance to glycopeptide antibiotics was detected. This study demonstrated the predominance of Gram(-) negative bacteria in the etiology of bloodstream infections in patients with hematological malignancies and the emergence of difficult to treat multi-drug resistant organisms, a phenomenon that reflects the increasing antimicrobial resistance in the community.</p> <p>hematological malignancies, bloodstream infections, microbial spectrum, antimicrobial resistance</p> <p>Assoc. prof. Temenuga Stoeva, M. D., Department of Microbiology, Medical University – Varna, e-mail: temenuga.stoeva@abv.bg</p>
--	--

## ВЪВЕДЕНИЕ

За пациентите с онкохематологични заболявания (ОХЗ) е известно, че са с повишен риск от развитие на инфекциозни усложнения като неутропенията е най-значимият рисков фактор за това. Инфекциите на кръвта представляват най-тежките, животозастрашаващи усложнения с нива на смъртност между 18 и 42% [26]. Според скорошно проучване на Pagano и кол. честотата на микробиологично доказаните инфекции сред пациенти с ОХЗ е 9.4%, като 85% от тях са бактериални инфекции на кръвта [19].

През последните пет десетилетия се установяват значителни промени в етиологичния спектър на микроорганизмите, изолирани от хемокултури на пациенти с ОХЗ. През 60-те и 70-те години на миналия век Грам-отрицателните бактерии са сред най-честите причинители на бактериемии в тази група. В следващите 30 год. делът на Грам-положителните микроорганизми (коагулаза-негативни стафилококи, стрептококи вириданс, ентерококи, *Staphylococcus aureus*) значително нараства. Сред факторите, свързани с тази промяна, са увеличената употреба на някои химиотерапевтици и последващото развитие на орални мукозити, тежката и продължи-

телна неутропения, увеличената употреба на венозни катетри, флуорохинолоновата профилактика и др. [4, 18, 26]. В последните години обаче се установява обратната тенденция. Редица проучвания съобщават Грам(-) бактерии (*Enterobacteriaceae*, *Acinetobacter baumannii*, *Stenotrophomonas maltophilia*) като главни причинители на този тип инфекциозни усложнения [18, 23].

**Цел** на настоящата работа е да се проучат етиологичният спектър и резистентността към антимикробни лекарствени средства на най-честите бактериални причинители на инфекции на кръвта в пациенти с ОХЗ от Клиниката по хематология на МБАЛ "Св. Марина" – Варна, за петгодишен период (2010-2014 г.).

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В проучването са включени 144 пациенти (на възраст от 18 до 85 год.) с ОХЗ и с поне една положителна хемокултура, от която се изолира микроорганизъм, различен от кожните контаминанти (коринебактерии, *Bacillus* spp., *Propionibacterium* spp., коагулаза-негативни стафилококи и *Micrococcus* spp.), или с две последователни положителни

хемокултури, в които се доказват бактерии, представители на нормалната кожна флора.

Взетите кръвни проби, инокуирани в буйлонни среди, бяха култивирани в автоматизираната система за непрекъснато проследяване на бактериалния растеж ВАСТЕС 9120 (BD, USA) за 7 дни при температура 35° C, а в случаите, суспектни за микотичен сепсис – за 14 дни. За идентификация на бактериалните изолати бяха използвани полуавтоматизираните и автоматизираните системи Crystal (BD) и Phoenix 100 (BD), а определянето на чувствителността към антимикробни лекарствени средства бе извършвано по дисководифузионния метод според препоръките на Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) [9]. Използвани са описателни статистически методи. Определена е структурата на клинично значимите изолати според етиологичния причинител, както и делът на изолатите с резистентност спрямо основните видове антимикробни лекарствени препарати.

## РЕЗУЛТАТИ

### Етиологичен спектър на инфекциите на кръвта

През проучвания петгодишен период в Лабораторията по клинична микробиология на МБАЛ "Св. Марина" – Варна, бяха изследвани общо 1126 хемокултури на пациенти с ОХЗ, хоспитализирани в Клиниката по хематология на болницата. Доказани бяха 193 случая на бактериемия. Изолирани бяха общо 144 клинично значими бактериални изолата от хемокултури на 144 пациенти. На табл. 1 е представена етиологичната структура на заболяемостта. За проучвания период по-чести етиологични агенти са Грам(–) бактерии, доказани в 54.7% от случаите. В тази група водещи патогени са *E. coli* (18.8%), *Klebsiella pneumoniae* (10.4%), *Enterobacter* spp. (8.3%) и *Pseudomonas aeruginosa* (6.9%).

Грам(+) бактерии се установяват в 38% от случаите и са главно представени от *Staphylococcus aureus* (26.4%) и *Enterococcus* spp. (6.8%). Коагулаза-негативните стафилококи се доказват в 2% и са за сметка на *Staphylococcus epidermidis*.

Условнопатогенните гъбички от родовете *Candida* и *Cryptococcus* са сред петте най-често изолирани микроорганизми от хемокултури на пациенти с ОХЗ за проследявания период – 7.6%. Едва три от общо десетте изолата *Candida* се идентифицират като *C. albicans*. Доминират изолати, отнасящи се към non-albicans видовете (*C. parapsilosis*, *C. guilliermondii*).

Таблица 1. Етиологична структура на инфекциите на кръвта при пациенти с онкохематологични заболявания в периода 2010-2015 г.

Микроорганизми	% (брой)
<b>Клинично значими микроорганизми, изолирани от хемокултури, общо</b>	<b>100% (n = 144)</b>
<b>Грам-отрицателни бактерии, общо</b>	<b>54.7% (n = 77)</b>
<i>Escherichia coli</i>	18.8 (n = 27)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	10.4 (n = 15)
<i>Enterobacter</i> spp.	8.3 (n = 12)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	6.9 (n = 10)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	4.1 (n = 4)
<i>Serratia marcescens</i>	2.0 (n = 3)
<i>Salmonella enteritidis</i>	1.4 (n = 2)
<i>Yersinia enterocolitica</i>	0.7 (n = 1)
<i>Haemophilus influenzae</i>	0.7 (n = 1)
<i>Pseudomonas stutzeri</i>	0.7 (n = 1)
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	0.7 (n = 1)
<b>Грам-положителни бактерии, общо</b>	<b>38.0% (n = 55)</b>
<i>Staphylococcus aureus</i>	26.4 (n = 38)
<i>Enterococcus</i> spp.	6.8 (n = 10)
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	2.0 (n = 3)
Бета-стрептококи (non group A)	1.4 (n = 2)
<i>Listeria monocytogenes</i>	1.4 (n = 2)
<b>Анаеробни бактерии, общо</b>	<b>0.7% (n = 1)</b>
<i>Bacteroides fragilis</i>	0.7 (n = 1)
<b>Гъбички, общо</b>	<b>7.6% (n = 11)</b>
<i>Candida</i> spp.	6.9 (n = 10)
<i>Cryptococcus uniguttulatus</i>	0.7 (n = 1)

### Антибиотична резистентност сред Грам(–) бактерии

Резистентността на най-честите Грам(–) бактерии (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp., *P. aeruginosa*) към основни групи антимикробни лекарствени препарати е представена на табл. 2. Делът на продуцентите на широкоспектърни β-лактамази (Extended-spectrum β-lactamases, ESBL) сред ентеробактериите (резистентност към цефалоспоринови от III генерация) във възходящ ред е, както следва: 25% за *Enterobacter* spp., 67% за *Klebsiella pneumoniae* и 73.3% за *E. coli*. Карбапенемите (imipenem, meropenem) са с напълно съхранена активност спрямо представителите на семейство *Enterobacteriaceae*. Нивата на хинолонова резистентност (ciprofloxacin, levofloxacin) се движат между 40.7% и 67% сред представителите на видовете *E. coli* и *K. pneumoniae*. Сред всички 12 изолата *Enterobacter* spp. не бе установена резистентност към тази антибиотична група. От двата препарата, отнасящи се към групата на аминогликозидите, amikacin демонстрира много по-добра активност в сравнение с gentamicin и срещу трите бактериални вида *E. coli*, *K. pneumoniae* и *Enterobacter* spp.: резистентността към amikacin се движи от

0% до 6.6%. При изолатите *Pseudomonas aeruginosa* се установиха следните нива на резистентност към основните антипсевдомонасни антибиотици: 20% резистентност към piperacillin, piperacillin/tazobactam, ceftazidime и gentamicin. Карбапенемните и хинолоновите антибиотици, amikacin и colistin са с напълно съхранена активност към изолатите от този бактериален вид.

#### Антибиотична резистентност сред Грам(+) бактерии

Резистентността на най-честите Грам(+) бактерии (*Staphylococcus aureus*, *Enterococcus* spp.)

към основни групи антимикробни лекарствени препарати е представена на табл. 3. Делът на метицилин-резистентните *S. aureus* (MRSA) е 10.5%. Резистентността към ampicillin в групата на ентерококите е съответно 16.6% за *E. faecalis* и 100% за *E. faecium*; 100% от изолатите *E. faecium* са резистентни на ciprofloxacin и са с високо ниво на резистентност към gentamicin. Високо ниво на хинолонова резистентност се доказва и за *E. faecalis* (66.6%). Не се идентифицираха изолати стафилококи и ентерококи, резистентни на гликопептидните антибиотици vancomycin и teicoplanin.

Таблица 2. Антибиотична резистентност (в %) на най-честите Грам(-) бактериални видове, причинители на инфекции на кръвта

Грам-отрицателни бактерии (n, брой)	PIP	TZP	CTX/CAZ (ESBL)	IMP/MEM	G	AK	CIP	LVF	COL
<i>Escherichia coli</i> (n = 27)	–	–	73.3 (n = 20)	0.0	40.7 (n = 11)	3.7 (n = 1)	50.0 (n = 13)	40.7 (n = 11)	–
<i>Klebsiella pneumoniae</i> (n = 15)	–	–	67.0 (n = 10)	0.0	80.0 (n = 12)	6.6 (n = 1)	67.0 (n = 10)	67.0 (n = 10)	–
<i>Enterobacter</i> spp. (n = 12)	–	–	25.0 (n = 3)	0.0	25.0 (n = 3)	0.0	0.0	0.0	–
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n = 10)	20.0 (n = 2)	20.0 (n = 2)	20.0 (n = 2)	0.0	20.0 (n = 2)	0.0	0.0	0.0	0.0

PIP – piperacillin; TZP – piperacillin/tazobactam; CAZ – ceftazidime; CTX – cefotaxime (индикаторен антибиотик за продукция на ESBLs); ESBL – широкоспектрна  $\beta$ -лактамаза (extended spectrum  $\beta$ -lactamase); IMP – imipenem; MEM – meropenem; G – gentamicin; AK – amikacin; CIP – ciprofloxacin; LVF – levofloxacin; COL – colistin

Таблица 3. Антибиотична резистентност (в %) на най-честите Грам(+) бактериални видове, причинители на инфекции на кръвта

Грам-положителни бактерии (n, брой)	AMP	FOX	AMC	G	V	TEI	CIP	G120
<i>Staphylococcus aureus</i> (n = 38)	–	10.5 (n = 4)	10.5 (n = 4)	7.9 (n = 3)	0.0	0.0	7.9 (n = 3)	–
<i>Enterococcus faecalis</i> (n = 6)	16.6 (n = 1)	–	16.6 (n = 1)	–	0.0	0.0	66.6 (n = 4)	66.6 (n = 4)
<i>Enterococcus faecium</i> (n = 4)	100 (n = 4)	–	100 (n = 4)	–	0.0	0.0	100 (n = 4)	100 (n = 4)

AMP – ampicillin; FOX – ceftoxitin (показател за метицилинова резистентност при стафилококи); AMC – amoxicillin/clavulanic acid; G – gentamicin; V – vancomycin; TEI – teicoplanin; CIP – ciprofloxacin; G120 – gentamicin 120 mg – определя високо ниво на резистентност към аминогликозиди

#### ОБСЪЖДАНЕ

В етиологичната структура на инфекциите на кръвта при пациенти с ОХЗ в проследявания период доминират изключително Грам(-) бактерии (54.7%) с водещи патогени *E. coli* (18.8%), *K. pneumoniae* (10.4%) и *Enterobacter* spp. (8.3%). Подобни резултати за превалиране на Грам(-) бактерии в етиологията на бактериемии при онкологично болни съобщават и други автори.

Cattaneo и кол. в италианско проучване, обхващащо периода 2004-2010 г., установяват, че от 441 случая на инфекции на кръвта, Грам(-) бактерии са отговорни за 57.3%, а Грам(+) – за 33.6% от случаите [7]. В подобно проучване в 9 хематологични центъра в Италия за периода 2009-2012 г., Trecarichi и кол. също установяват, че Грам(-) бактерии са най-често изолираните бактерии от кръв на пациенти с ОХЗ – 52.8%,

като *E. coli* е най-често изолираният бактериален вид (27.9%), следван веднага от коагулаза-негативните стафилококи (CNS) (24.8%) [24]. В Испания Gudiol и кол. [11] доказват, че в периода 2006-2010 г. в етиологичната структура на инфекциите на кръвта при неутропенични пациенти Грам(+) бактерии заемат 41%, а Грам(-) – 49%, като най-честите Грам(-) патогени са *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, което е в унисон с нашите резултати. Близки резултати съобщават и Kang и кол. в сходно проучване от Южна Корея в периода 2006-2008 г., като установяват 55.6% за Грам(-) бактерии срещу 32.7% за Грам(+) микроорганизми [15].

Сред причините за очертаващата се тенденция на превалиране на Грам(-) микроорганизми се идентифицират няколко основни фактора. Най-важният е използването и продължителността на антибиотичната профилактика. Профилактичното използване на флуорохинолони е сред най-мощните средства за намаляване случаите на Грам-отрицателна бактериемия. Редица проучвания доказват, че именно намалената употребата на хинолоновата профилактика се асоциира с увеличаване на случаите на Грам(-) бактериемии сред пациенти с ОХЗ [18]. Други фактори, повлияващи етиологичния спектър на бактериемии, са видът химиопрофилактика, промените в подхода на лечение на онкологично болните пациенти или климатичните особености.

По отношение на Грам(+) причинители на инфекции на кръвта за проследявания период в Клиниката по хематология на МБАЛ "Св. Марина" – Варна, най-често изолираният сред всички бактериални видове, независимо от тяхната Грамова принадлежност, е *Staphylococcus aureus* (26.4%). Изолируемостта на *S. aureus* в различни проучвания варира между 1.3%, 6.9%, 9.5% и 12%, като този бактериален вид не е сред първите три доминиращи патогена в съответните проучвания [7, 8, 10, 12, 15, 16]. Trecarichi и кол. съобщават, че *S. aureus* е на едно от последните места по честота на изолируемост (1.6%), като този факт също е в контраст с нашите резултати [24]. По-близко до данните, които са представени в настоящето проучване, е работата на Kang и колектив, които установяват, че най-честите Грам(+) бактериални видове, асоциирани с бактериемия, са *S. aureus* (9.8%) и *Enterococcus spp.* (9.2%) [15].

От резултатите, които получаваме, прави впечатление малкият относителен дял на коагулаза-негативните стафилококи (CNS) като етиологични агенти – само 2% (n = 3) от всички положителни хемокултури. Различни проучвания съобщават значително по-високи нива на изо-

лируемост на CNS като етиологични агенти на инфекции на кръвта: 8.3% [15], 14.7% [16], 23.1% [8], 24.8% [24], 43% [11], 55.2% [21]. В нашето проучване от общо 52 изолата, отнасящите се към нормалната кожна флора, само три бяха интерпретирани като клинично значими, тъй като бяха доказани в две и повече последователни хемокултури. Останалите 49 изолата (39 коагулаза-негативни стафилококи и 10 коринебактерии) бяха изключени от проучването, тъй като бяха доказани само в единични хемокултури от съответните пациенти. Ако този момент не беше взет под внимание, съществуваше възможност за надценяване на коагулаза-негативните стафилококи като етиологични агенти на такъв тип инфекциозни усложнения.

Проучване на Калева и кол. върху микробиологичния спектър на инфекциозните усложнения при онкологично болни деца в два периода 1990-1994 г. и 1995-2003 г. установява доминиране в хемокултури на Грам(+) бактерии (53.2%) пред Грам(-) (40.3%) и гъбичките (6.5%), като най-често се изолират коагулаза-негативни стафилококи, следвани от *Klebsiella spp.*, *Enterococcus spp.*, *E. coli* и *P. aeruginosa* [1]. В същото проучване съотношението между Грам(+) и Грам(-) изолати от кръв не се променя през двата изследвани периода, но през по-късния период сигнификантно се повишава относителният дял на *E. coli*, а делът на  $\alpha$ -хемолитичните стрептококи се понижава.

Сред водещите причинители на инфекции на кръвта в настоящето проучване са и гъбичките от род *Candida*, заемащи 5-о място в микробния спектър на изолатите от хемокултури (7.6%). Намереният от нас относителен дял е сходен със съобщения от Калева и кол. при проучване на инфекциозните усложнения при онкологично болни деца за периода 1995-2003 г. – 6.5% [1]. В мащабно проучване, проведено в САЩ, делът на гъбичките, изолирани от хемокултури на пациенти със злокачествени заболявания, е по-висок от установения от нас – 9.6%, като тези микроорганизми се нареждат на 4-то място в микробния спектър на инфекциите на кръвта [26]. Същите автори установяват, че с най-високо ниво на смъртност се асоциират именно кандидемии (45%), следвани от *P. aeruginosa* (35.6%), *E. coli* (34.5%) и vancomycin-резистентните *Enterococcus faecium* (33.8%). Всички тези резултати са в съответствие със съвременните тенденции за нарастване честотата на изолиране на гъбички от хемокултури. Този факт се обяснява с множеството рискови фактори, предразполагащи към фунгемии: увеличаване популацията на имunosупресирани пациенти (онкологично болни, трансплантирани), провеждане

на имunosупресивна и цитостатична терапия, неутропения, лечение с широкоспектърни антибиотици, наличие на постоянни катетри и др.

Макар и много по-рядко изолирани в сравнение с доминиращите причинители на инфекции на кръвта, в нашето проучване бяха доказани единични изолати, отнасящи се към видовете *Listeria monocytogenes*, *Yersinia enterocolitica* и *Salmonella enteritidis* (табл. 1). Листерийната инфекция засяга строго определени контингенти, сред които новородени, много възрастни пациенти, бременни, както и имунокомпрометирани индивиди с дефицит в клетъчно медирания имунитет. Една от най-рисковите групи за листериен сепсис са подложените на имunosупресивна терапия (онкологично болни, трансплантирани). Генерализацията на инфекциозния процес в случаите на *Yersinia enterocolitica* и *Salmonella* spp. (след преодоляване на локалната бариера на лимфните възли в чревния тракт) също е много характерна за имunosупресирани те и пациентите с имунни дефицити. Изолатите от тези три бактериални вида, макар и доказани в една-единствена хемокултура, винаги трябва да се интерпретират като клинично значими.

#### **Антибиотична резистентност**

Специален фокус в настоящото проучване беше определянето на нивата на антибиотична резистентност сред водещите причинители на инфекции на кръвта при онкологично болни. Процесът на възникване на резистентни микроорганизми, причинители на бактериемии в тази популация, се случва едновременно и в пряка връзка с развитието и разпространението на антибиотична резистентност в обществото като цяло. Възникването на резистентни и специално множественорезистентни (MDR) микроорганизми (резистентни на 3 или повече антибиотични групи) е изключително важен проблем за имунокомпрометирани пациенти, тъй като тези болни са особено чувствителни към развитието на септични усложнения, причинени от MDR патогени.

#### **Грам(-) бактерии, продуценти на широкоспектърни β-лактамази**

Продуцентите на широкоспектърни β-лактамази (ESBL) от семейство *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *K. pneumoniae*) са микроорганизми, които демонстрират множествена резистентност. Основна тяхна характеристика е резистентността им към всички класове цефалоспорици, а карбапенемните антибиотици (imipenem, meropenem) са препоръчаното средство за лечение на инфекциите, които те причиняват. В този смисъл ESBL-

продуциращите Грам(-) бактерии представляват проблемни за терапия патогени, особено в случаите на инвазивни инфекции при пациенти със злокачествени заболявания [3, 25]. Един от основните резултати на настоящото проучване е установяването на много високи нива на резистентност към цефалоспорици от трета генерация (индикация за ESBL продукция) в *E. coli*, *K. pneumoniae* и *Enterobacter* spp. – водещите причинители на инфекции на кръвта в проучваната група пациенти. Най-често изолираният MDR (произвеждащ ESBL) Грам-отрицателен микроорганизъм е *E. coli* (73.3%), следван от *K. pneumoniae* (67%) и *Enterobacter* spp. (25%). Този резултат е отражение на европейската и световна тенденция за увеличаване на случаите на бактериемии, причинени от ESBL-продуциращи бактерии. Различни проучвания върху бактериемии, засягащи онкологични пациенти, регистрират относителен дял на ESBL *Enterobacteriaceae* (*E. coli*, *K. pneumoniae*, *Enterobacter* spp.) между 12.6% и 58% [8, 10, 14, 22, 24].

В унисон с нашите резултати са и резултатите, съобщени от European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS Net) за 2013 г.: дялът на ESBL-продуцентите *E. coli*, причинители на бактериемии в Европа, варира в различните страни, като се движи от 5.4% за Швеция до 40.6% за България, а дялът на ESBL *K. pneumoniae* – от 3.8% за Финландия до 71% за България. За съжаление тези данни показват, че и в двата случая България е страната, в която се доказват най-високите нива на резистентност към цефалоспорици от трета генерация (ceftriaxone, ceftazidime, cefotaxime) в изолати *E. coli* и *K. pneumoniae* от кръв [27].

Неблагоприятен феномен, установен в нашата болница за периода 2013-2014 г., беше появата на карбапенем-резистентни *K. pneumoniae* изолати от кръв от пациенти, хоспитализирани в различни клиници [2]. Техният процент достигна 23% през 2014 г. (информационен бюлетин на болницата). За проследявания период не бяха доказани карбапенем-резистентни изолати *K. pneumoniae* от кръв на пациенти с ОХЗ. В периода 2009-2012 г. в Европа се установява тенденция за сигнификантно увеличаване дела на тези множественорезистентни микроорганизми от кръв, като сред най-засегнатите са страни, съседни на България (Гърция), с нива на резистентност 60.5% [27]. Това е особено притеснителен факт, тъй като карбапенемите са сред малкото ефективни медикаменти за лечение на инфекции, причинени от множество резистентни Грам(-) микроорганизми.

### **Хинолонова резистентност сред Грам(-) бактерии**

В нашето проучване установяваме много високи нива на резистентност към флуорохинолони в най-често изолираните Грам(-) бактериални видове, *E. coli* и *K. pneumoniae* – повече от 40%. Намереното от нас ниво на хинолонова резистентност е сходно със съобщаваното от редица автори, проучвали онкологично болни, според които хинолоновата резистентност сред представителите на семейство *Enterobacteriaceae* е между 45 и 91% [5, 8, 12, 17, 22, 24]. Смята се, че профилактичната употреба на хинолони (ciprofloxacin) играе важна роля за възникването на този тип резистентност. Нещо повече, широката профилактична употреба на хинолонови препарати има значителен принос не само за селектирането на хинолон-резистентни бактерии в гастроинтестиналния тракт, но и за селектиране на чревни бактерии, продуценти на широкоспектърни  $\beta$ -лактамази и MRSA [18]. Циркулацията на хинолон-резистентни щамове от семейство *Enterobacteriaceae* в обществото може да обясни изолирането на хинолон-резистентни чревни бактерии от хемокултури на онкологично болни, при които не е била провеждана хинолонова профилактика.

### **Метицилинова резистентност сред *Staphylococcus spp.***

Метицилин-резистентните *S. aureus* (MRSA) и инфекциите на кръвта, които те причиняват, също представляват сериозен проблем за пациентите с ОХЗ. MRSA са обикновено щамове с изразена множествена резистентност и препарати на избор за лечение са гликопептидните антибиотици vancomycin и teicoplanin. Установените от нас нива на MRSA (10.5%) са по-ниски от съобщените от други автори в подобни проучвания: 18% за Индия, 30.2% за Пакистан, 36% за Италия и 48.4% за Южна Корея [12, 15, 20, 24]. В настоящото проучване не бяха идентифицирани vancomycin и teicoplanin резистентни щамове, което прави гликопептидните антибиотици препаратите с най-висока активност спрямо метицилин-резистентни стафилококи.

### **Гликопептидна резистентност сред *Enterococcus spp.***

Позитивен резултат, установен в нашето проучване, е липсата на резистентност към гликопептидните антибиотици vancomycin и teicoplanin сред изолатите *Enterococcus spp.* Множество международни проучвания обаче съобщават за увеличаваща се честота на инфекции-

те, причинени от vancomycin резистентни енттерококи (VRE) при онкологично болни [6, 13]. Особено засегнати са пациентите след костно-мозъчна трансплантация, при които VRE са сред водещите причини за бактериемия в първите 30 дни след трансплантацията (53.5% от всички бактериемии) [6, 13]. Проучвания върху сепсисите при онкологични пациенти с неутропения установяват различни нива на резистентност към vancomycin: 1% – Швеция; 7.5% – Италия; 13% – Пакистан [12, 16, 24]. В Европейски мащаб тази проблемна резистентност сред изолати енттерококи от кръв сред 28 мониторирани държави за 2013 г. варира от 0% за страни като Швеция, Естония и Малта до 42.7% в Ирландия, като е сериозен проблем и за съседна на България страна – Гърция (21%) [27]. Този факт трябва да се вземе под внимание, защото в съвременните условия на изключително улеснен транспорт, тази резистентност може лесно да бъде разпространена в други държави чрез трансфериране от една в друга болница на пациенти, носещи съответните резистентни щамове.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Настоящото проучване демонстрира доминиране на Грам(-) бактерии в етиологичния спектър на инфекциите на кръвта в пациенти с онкохематологични заболявания и възникването на проблемни за лечение множественорезистентни микроорганизми, феномен, който е отражение на увеличаващата се антибиотична резистентност в обществото.

## **Библиография**

1. Калева В., К. Божкова, Т. Стоева, В. Калудова, В. Каменова. Микробиологичен спектър на инфекциозни усложнения при онкологично болни деца с фебрилна неутропения. Инфектология, 2006, 1: 16-21.
2. Стоева, Т., Р. Марковска, М. Божкова, К. Божкова, В. Каменова, Д. Димитрова, И. Митов. Проучване на механизмите на резистентност към карбапенеми и епидемиологията на клинични изолати *Klebsiella pneumoniae*. XIII национален конгрес по клинична микробиология и инфекциозни болести на Българската Асоциация на микробиолозите, София 16-18 април 2015 г: абстракт 19.
3. Bell, J. M., J. D. Turnige, A. C. Gales et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) – producing clinical isolates in the Asia-Pacific region and South Africa: regional results from SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1998-99). Diagn Microbiol Infect Dis, 42, 2002, No 3, 193-198.
4. Benfield, T., F. Espersen, N. Frimodt-Moller et al. Increasing incidence but decreasing in-hospital mortality of adult *Staphylococcus aureus* bacteraemia between 1981 and 2000. Clin Microbiol Infect, 13, 2007, No 3, 257-263.
5. Bhusal, Y., C. N. Mihu, J. Tarrand et al. Incidence of fluoroquinolone-resistant and extended-spectrum  $\beta$ -lactamase – producing *Escherichia coli* at a comprehensive cancer

- center in the United States. *Chemother*, 57, 2011, No 4, 335-338.
6. Bossaer, J. B., P. D. Hall PD, E. Garrett-Mayer E. Incidence of vancomycin-resistant enterococci (VRE) infection in high-risk febrile neutropenic patients colonized with VRE. *Support Care Cancer*, 19, 2010, No 2, 231-237.
  7. Cattaneo, C., F. Antoniazzi, S. Casari et al. *P. aeruginosa* bloodstream infections among hematological patients: an old or new question? *Ann Hematol*, 91, 2012, No 8, 1299-1304.
  8. Chong, Y., H. Yakushiji, Y. Ito et al. Clinical impact of fluoroquinolone prophylaxis in neutropenic patients with hematological malignancies. *Int J Infect Dis*, 15, 2011, No 4, e277-e281.
  9. CLSI. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. Twenty-Third Informational Supplement. CLSI document M100 – S23. Wayne, PA: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2013.
  10. Gudiol, C., L. Calatayud, C. Garcia-Vidal et al. Bacteraemia due to extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* (ESBL-EC) in cancer patients: clinical features, risk factors, molecular epidemiology and outcome. *J Antimicrob Chemother*, 65, 2010, No 2, 333-341.
  11. Gudiol, C., M. Bodro, A. Simonetti A et al. Changing aetiology, clinical features, antimicrobial resistance, and outcomes of bloodstream infection in neutropenic cancer patients. *Clin Microbiol Infect*, 19, 2013, No5, 474-479.
  12. Irfan, S., F. Idrees, V. Mehraj et al. Emergence of Carbapenem resistant Gram negative and vancomycin resistant Gram positive organisms in bacteremic isolates of febrile neutropenic patients: a descriptive study. *BMC Infect Dis*, 8, 2008, 80.
  13. Kamboj, M., D. Chung, S. K. Seo et al. The changing epidemiology of vancomycin-resistant *Enterococcus* (VRE) bacteremia in allogeneic hematopoietic stem cell transplant (HSCT) recipients. *Biol Blood Marrow Transplant*, 16, 2010, No 11, 1576-1581.
  14. Kang, C. I., D. R. Chung, K. S. Ko et al. Risk factors for infection and treatment outcome of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* bacteremia in patients with hematologic malignancy. *Ann Hematol*, 91, 2012, No 1, 115-121.
  15. Kang, C. I., J. H. Song, D. R. Chung et al. Bloodstream infections in adult patients with cancer: clinical features and pathogenic significance of *Staphylococcus aureus* bacteremia. *Support Care Cancer*, 20, 2012, No 10, 2371-2378.
  16. Kjellander, C., M. Björkholm, H. Cherif et al. Hematological: low all-cause mortality and low occurrence of antimicrobial resistance in hematological patients with bacteremia receiving no antibacterial prophylaxis: a single-center study. *Eur J Haematol*, 88, 2012, No 5, 422-430.
  17. Mihuc, C. N., P. R. Rhomberg, R. N. Jones et al. *Escherichia coli* resistance to quinolones at a comprehensive cancer center. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 67, 2010, No 3, 266-269.
  18. Montassier, E., E. Bataud, T. Gastinne et al. Recent changes in bacteremia in patients with cancer: a systematic review of epidemiology and antibiotic resistance. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 32, 2013, No 7, 841-850.
  19. Pagano, L., M. Caira, G. Rossi et al. Hema e-Chart Group, Italy. A prospective survey of febrile events in hematological malignancies. *Ann Hematol*, 91, 2012, No 5, 767-74.
  20. Prabhaskar, K., A. Medhekar, N. Ghadyalpatil et al. Blood stream infections in cancer patients: a single center experience of isolates and sensitivity pattern. *Indian J Cancer*, 47, 2010, No 2, 84-188.
  21. Saghir, S., M. Faiz, M. Saleem et al. Characterization and anti-microbial susceptibility of Gram-negative bacteria isolated from bloodstream infections of cancer patients on chemotherapy in Pakistan. *Indian J Med*, 27, 2009, No 4, 341-347.
  22. Treccarichi, E. M., M. Tumbarello, T. Spanu et al. Incidence and clinical impact of extended-spectrum-beta-lactamase (ESBL) production and fluoroquinolone resistance in bloodstream infections caused by *Escherichia coli* in patients with hematological malignancies. *J Infect*, 58, 2009, No 4, 299-307.
  23. Treccarichi, E. M., M. Tumbarello. Antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria in febrile neutropenic patients with cancer: current epidemiology and clinical impact. *Curr Opin Infect Dis*, 27, 2014, No 2, 200-10.
  24. Treccarichi, E. M., L. Pagano, A. Candoni, et al. Current epidemiology and antimicrobial resistance data for bacterial bloodstream infections in patients with hematologic malignancies: an Italian multicenter prospective survey. *Clin Microbiol Infect*, 21, 2015, No 4, 337-343.
  25. Vahaboglu, H., R. Ozturk, G. Aygun et al. Widespread detection of PER-1-type extended-spectrum beta-lactamases among nosocomial *Acinetobacter* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Turkey: a nationwide multicenter study. *Antimicrob Agents Chemother*, 41, 1997, No 10, 2265-2269.
  26. Wisplinghoff, H., H. Seifert, R. P. Wenzel et al. Current Trends in the Epidemiology of Nosocomial Bloodstream Infections in Patients with Hematological Malignancies and Solid Neoplasms in Hospitals in the United States. *Clin Infect Dis*, 36, 2003, No 9, 1103-10.
  27. [http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial\\_resistance/database/Pages/graph\\_reports.aspx](http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/antimicrobial_resistance/database/Pages/graph_reports.aspx).

Постъпила за печат на 29 септември 2015 г.