



Oporność pałeczek Gram-ujemnych na kolistynę

Elżbieta Stefaniuk

Zakład Mikrobiologii i Antybiotyków
Narodowy Instytut Leków, Warszawa

Co to jest kolistyna?

- ▶ **Kolistyna jest antybiotykiem z grupy polimyksyn** (polimyksyna E)
- ▶ **Polimyksyny** – antybiotyki należące do grupy antybiotyków peptydowych, po raz pierwszy zostały wyizolowane w 1947 r. w procesie fermentacji *Paenibacillus polymyxa* (dawniej: *Bacillus polymyxa*)
- ▶ Cząsteczki polimyksyn składają się z części peptydowej i reszty kwasu tłuszczowego
 - zawierają ugrupowania hydrofobowe jak i hydrofilowe – są amfifilowe
 - ▢ ze względu na budowę amfifilową polimyksyny łatwo przenikają do komórek bakteryjnych i integrują się z fosfolipidami w błonie komórkowej → działanie przeciwbakteryjne opiera się na elektrostatycznym oddziaływaniu pomiędzy grupami aminowymi kolistyny a podjednostkami lipidowymi lipopolisacharydu A (LPS) → zaburzenie struktury błony komórkowej
 - ▢ działają więc jak związki powierzchniowo czynne (detergenty) → kolistyna wypiera jony Mg^{2+} i Ca^{2+} → zwiększenie przepuszczalności bakteryjnej błony komórkowej → śmierć komórki

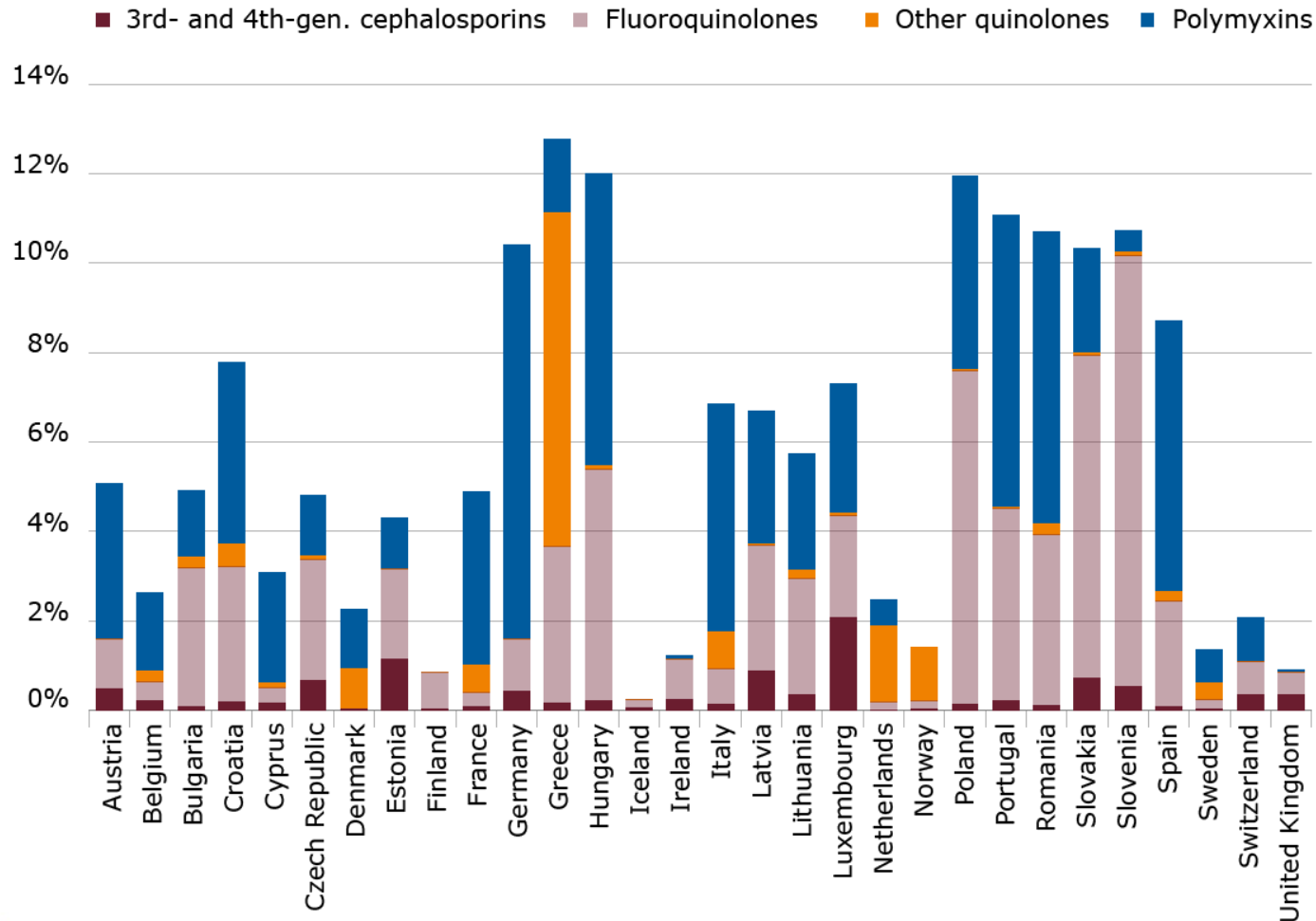
- ▶ w zależności od sekwencji aminokwasów w części peptydowej wyróżniamy polimyksyny A, B, C, D i E
- ▶ w leczeniu stosuje się tylko polimyksyny B i E (kolistyna)
- ▶ w medycynie dostępne są dwie fizyczne formy kolistyny: siarczan kolistyny (CS) do stosowania doustnego i miejscowego oraz metanosulfonian kolistyny (CMS) do stosowania pozajelitowego (Kwa i wsp. 2005; Li i wsp. 2005)
- ▶ Między kolistyną (polimyksyną E) a polimyksyną B można się spodziewać występowania oporności krzyżowej
- ▶ Oporność naturalna na kolistynę: *Burkholderia cepacia*, *Proteus* spp., *Providencia* spp., *Serratia* spp., *Hafnia* spp.

Kolistyna w weterynarii, hodowli zwierząt i w rolnictwie

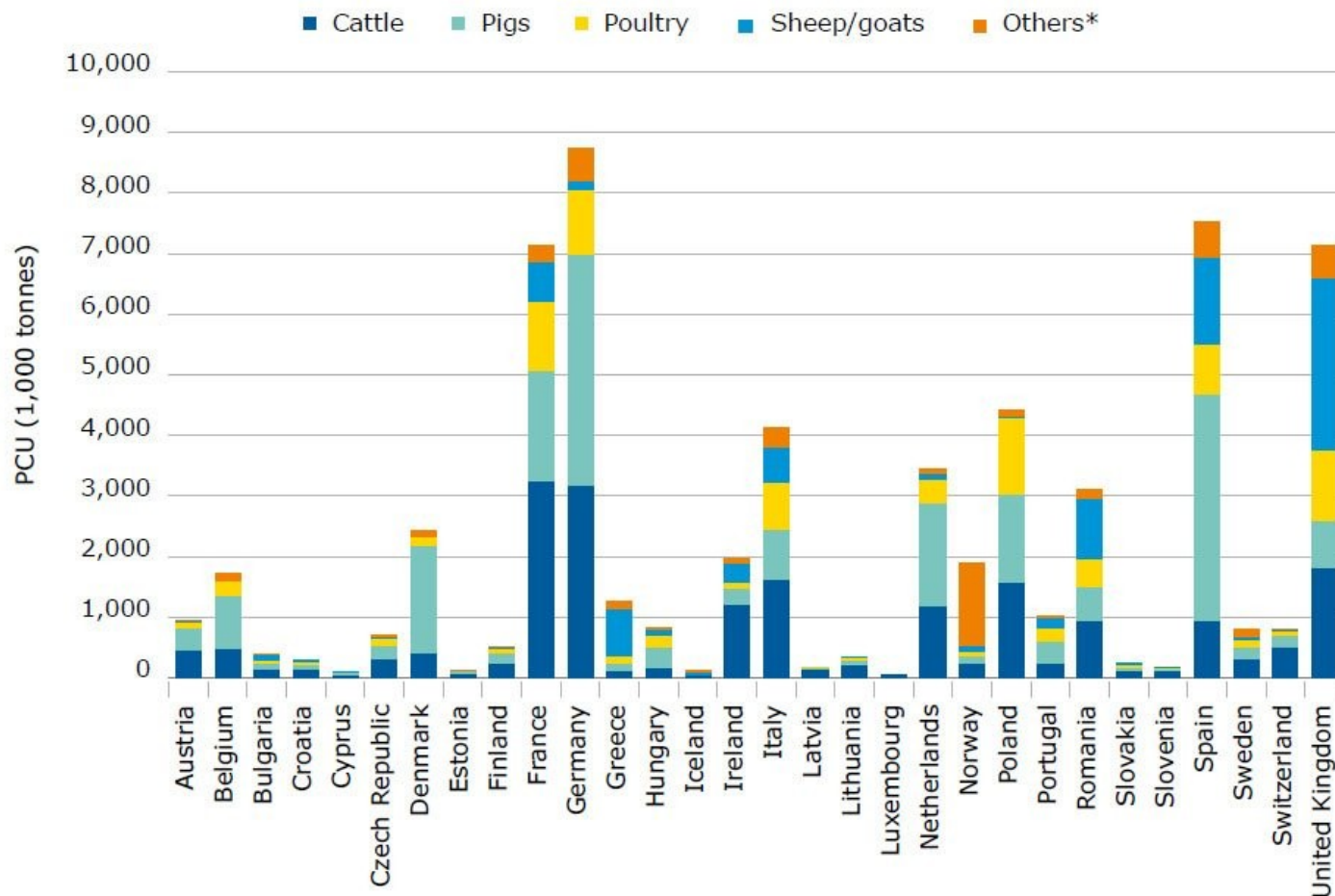
- ▶ **Siarczan kolistyny od dziesięcioleci jest szeroko stosowany w medycynie weterynaryjnej do leczenia zakażeń jelitowych u świń, drobiu i bydła wywołanych przez szczepy Enterobacterales, w tym głównie *E. coli* i *Salmonella* spp. (Liu i in. 2016).**
- ▶ **Kolistyna jest stosowana głównie w postaci doustnej, a jej stosowanie różni się znacznie w poszczególnych krajach, np.:**
 - w 50% i 35% ferm trzody chlewnej we Francji i Austrii (Kempf i in. 2013; Trauffler i in. 2014);
 - w Szwecji kolistyna była najczęściej stosowanym antybiotykiem w 18% stad prosiąt odsadzonych od maciory (Sjölund i in. 2015);
 - w Niemczech polipeptydy były najczęściej podawane na fermach trzody chlewnej i stanowiły 4,2% ogółu antybiotyków
 - w 2013 r. spożycie środków przeciwdrobnoustrojowych, w postaci recept i/lub dostaw w gospodarstwie, było dostępne dla każdej fermy świń, cieląt i brojlerów w Holandii (Bos i in. 2013);
 - w Wielkiej Brytanii kolistyna stanowiła tylko 0,2% wszystkich antybiotyków stosowanych w hodowli i była stosowana tylko przez weterynarzy do leczenia chorych zwierząt (Nunan i Young 2015; Catry i in. 2015; EMA / CVMP 2010).
- ▶ **Według ECDC / EFSA / EMA spożycie polimyksyn u zwierząt, od których lub z których pozyskuje się żywność, znacznie przewyższyło zgłaszane u ludzi; wykazano znaczne różnice w ilości polimyksyn spożywanych u zwierząt w poszczególnych krajach (ECDC / EFSA / EMA 2017)**
- ▶ **Wdrożenie systemów monitorujących stosowanie antybiotyków u zwierząt i nadzór nad opornością na antybiotyki w krajach europejskich, np. Dania (Borck Høg i in. 2017), Niemcy (BTK 2015), Holandia (SDa Autoriteit Diergenesmiddelen 2018; MARAN 2019) i Szwecja (SWEDRES / SVARM 2018)**



Odsetek całkowitej sprzedaży cefalosporyn 3. i 4. generacji, fluorochinolonów, innych chinolonów i polimyksyn dla zwierząt, w mg/PCU, w 30 krajach europejskich w 2016 r.



Dystrybucja antybiotyków wg gatunków zwierząt, od których lub z których pozyskuje się żywność, w tym koni (1 PCU = 1 kg), według krajów, w 2016 r



Kolistyna w hodowli zwierząt i rolnictwie poza Unią Europejską

- ▶ Kolistyna była stosowana jako dodatek paszowy w celu promowania wzrostu w produkcji trzody chlewnej poza Ameryką Północną i Unią Europejską
- ▶ **Chiny pozostają największym użytkownikiem kolistyny w rolnictwie na świecie**
 - w 2015 r. zużyto ponad 11 000 ton kolistyny (QYResearch Medical Research Center 2015)
 - konsumpcja kolistyny w chińskim rolnictwie szacowana jest na ponad 16 tysięcy ton w 2021 r.
- ▶ **W Wietnamie kolistyna jest stosowana w ogromnych ilościach w hodowli zwierząt i drobiu, mimo, że jest niezatwierdzonym antybiotykiem promującym wzrost** (MARD 2006; 2009)
- ▶ Coraz więcej doniesień o hodowli szczepów Enterobacterales opornych na kolistynę z **próbek warzyw i owoców** (Liu i in. 2014; Jones-Dias i in. 2016; Luo i in. 2017) – źródłem zanieczyszczenia może być **woda zanieczyszczona odchodami zwierząt**

Kolistyna w medycynie ludzkiej

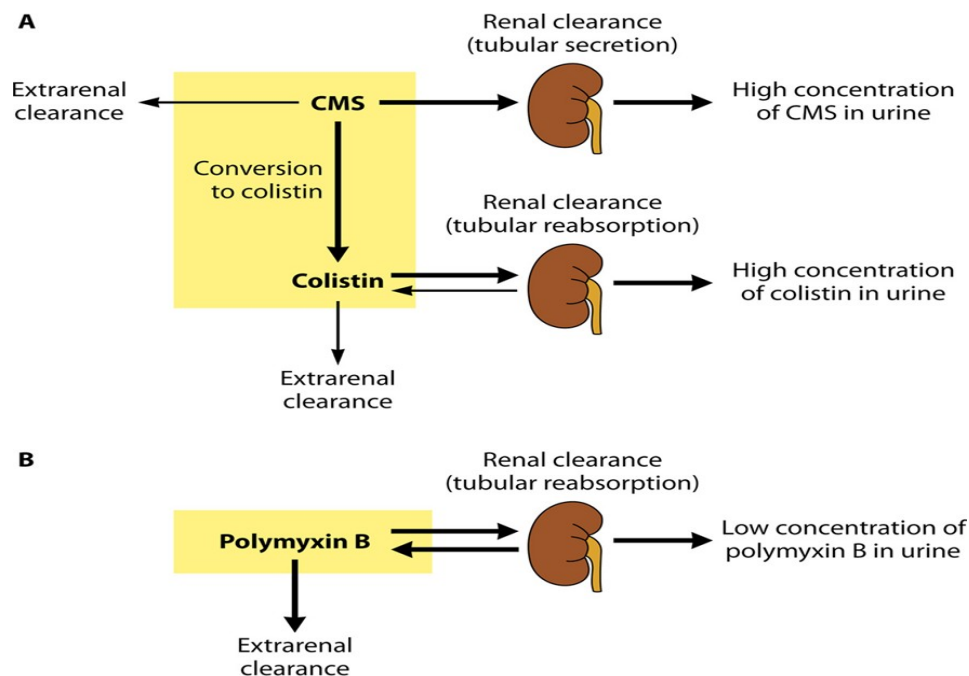
- ▶ **Polimyksyny są słabo wchłaniane z przewodu pokarmowego** → podawane doustnie działają tylko na bakterie w układzie żołądkowo-jelitowym
- ▶ Polimyksyny **nie dyfundują** dobrze w tkankach
- ▶ **Nie przenikają do płynu mózgowo-rdzeniowego oraz do jamy opłucnej i otrzewnej**
- ▶ Kolistyna ma wiele skutków ubocznych, w tym **neurotoksyczność i nefrotoksyczność** → nie można go stosować u pacjentów z niewydolnością nerek (Kostowski i Herman 2010)
- ▶ Nefrotoksyczność i neurotoksyczność były przyczyną zaprzestania stosowania w medycynie ludzkiej po 1970 r. (Dhariwal i Tullu 2013)
- ▶ **Nefrotoksyczność i neurotoksyczność zależą od dawki** (Ordooei Javan i in. 2015)

- ▶ Dożylną (*iv*) postać leku można również podawać przez inhalację (Li i in. 2005)
- ▶ Wdychana kolistyna jest stosowana w leczeniu zapalenia płuc i odrespiratorowego zapalenia płuc (VAP) o etiologii pałeczek Gram-ujemnych MDR, a także stosowana profilaktycznie u pacjentów z mukowiscydozą
- ▶ Kolistyna powoduje również uwalnianie histaminy i serotoniny przez monocyty, co może prowadzić do ostrej niewydolności oddechowej → należy zachować ostrożność podczas podawania tego leku w postaci aerozolu (Dzierżanowska 2018)
- ▶ **Pojawienie się wielolekoopornych pałeczek Gram-ujemnych spowodowało, że polimyksyny B i E na nowo zostały uznane jako opcja terapeutyczna ratująca życie, w przypadku braku innych możliwości leczenia**

- ▶ Czynniki ryzyka nefrotoksyczności obejmują:
 - stężenie kolistyny w osoczu > 2,5-3 g/l
 - jednoczesne podawanie innych leków nefrotoksycznych, takich jak leki przeciwzapalne, wankomycyna i aminoglikozydy,
 - zaawansowany wiek pacjenta i ciężkość choroby (wskaźniki nefrotoksyczności 14 -53%)
(Kwon i in. 2010; Pogue i in. 2011)

- ▶ Neurotoksyczność jest odwracalna i objawia się między innymi w postaci:
 - parestezji obwodowej i twarzy,
 - zawrotów głowy,
 - osłabienia,
 - zaburzeń widzenia,
 - ataksji (4-6% pacjentów) (Durante-Mangoni i in. 2016)

- ▶ **CMS jest prolekiem (kolistymetat sodu), i po podaniu ulega hydrolizie w organizmie** → ważne implikacje farmakokinetyczne, szczególnie w odniesieniu do nefrotoksyczności (Falagas i Kasiakou 2005)
- ▶ **Po podaniu dożylnym duża część CMS jest eliminowana głównie przez nerki poprzez filtrację kłębuszkową,** co pozwala na zastosowanie CMS w infekcjach dróg moczowych (Kostowski i Herman 2010)

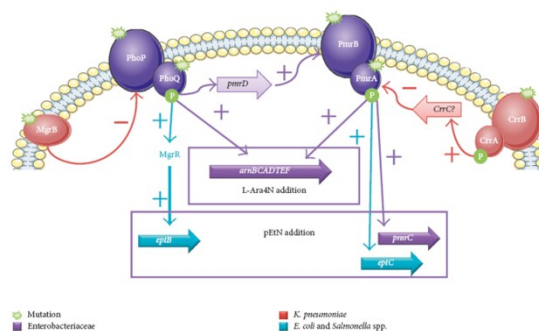


- Ok. 80% podanej dawki wykrywane jest w moczu w postaci niezmienionej
- Nie stwierdzono wydalania z żółcią
- Ok. 30% kolistymetatu u zdrowych osób jest przekształcane do kolistyny → gdy czynność nerek jest zaburzona, większa część kolistymetatu sodu jest przekształcana do kolistyny

Poirel et al. 2017

Mechanizmy oporności na kolistynę

- ▶ Ze względu na rosnącą rolę kolistyny w leczeniu zakażeń u ludzi wywołanych przez bakterie MDR należy monitorować oporność na ten antybiotyk
- ▶ Zastosowanie kolistyny w medycynie ludzkiej jest jedną z hipotez dotyczących występowania oporności na kolistynę u Enterobacteriaceae, w szczególności *K. pneumoniae* (Sandri i wsp. 2013; Vicari i wsp. 2013)
- ▶ dla różnych gatunków bakterii Gram-ujemnych – różne mechanizmy oporności
- ▶ np. najważniejszym chromosomalnym mechanizmem oporności na kolistynę u *K. pneumoniae* są zmiany w genie *mgrB*, prowadzące do **modyfikacji LPS** (Jayol i in. 2015)



<https://doi.org/10.1155/2018/3095249>

- ▶ **nadekspresja układów wypompowujących antybiotyk z komórki bakteryjnej** (Olaitan i in. 2014b)
- ▶ bakteryjna oporność na kolistynę może być także kodowana na **ruchomych elementach genetycznych (genach *mcr*)** - do tej pory zidentyfikowano dziewięć wariantów genów *mcr*: *mcr1-9*, w różnych gatunkach Enterobacterales i *Moraxella* (AbuOun i in. 2017)

Oporność na karbapenemy a oporność na kolistynę

- ▶ MDR stanowią coraz większe obciążenie dla systemu opieki zdrowotnej - *Enterobacteriaceae* odporne na karbapenemy (CRE) są obecnie zgłaszane na całym świecie
- ▶ W Europie w 2009 r. zakażenia *K. pneumoniae* KPC rozpoznano u mniej niż 5% pacjentów; w następnym roku wartość ta wzrosła do 10% i do około 25% w niektórych obszarach (Grundmann i in. 2010)
- ▶ W 2013 r. wskaźnik oporności na kolistynę wzrósł do średnio ponad 30% izolatów CRE, w tym we Włoszech, Grecji i Hiszpanii - odpowiednio 43%, 20,8% i 31% (ECDC 2014; Monaco i in. 2014; Pena i in. al. 2014; Meletis i in. 2015)
- ▶ Jednym z głównych problemów jest rozwój epidemii związanych z producentami karbapenemaz, które stają się odporne na kolistynę (Gundogdu i in. 2018; Parisi i in. 2015; Monaco i in. 2014; Antoniadou i in. 2007; Olaitan i in. 2014a; Jayol i wsp. 2016; Marchaim i wsp. 2011).
- ▶ Zakażenia CRE są bardzo trudne do leczenia, z ograniczonymi możliwościami terapeutycznymi (Parisi i in. 2015; Baraniak i in. 2016) → **wysoka (> 30%) śmiertelność hospitalizowanych pacjentów zakażonych szczepami opornymi na karbapenemy i opornymi na kolistynę** (Ghafur i in. 2014; Zhang i in. 2018; Guducuoglu i in. 2018; Capone i in. al. 2013).
 - Czynniki ryzyka: czas przebywania na oddziale intensywnej terapii (OIOM) > 7 dni ; terapia antybiotykowa podczas pobytu w szpitalu; leczenie karbapenemami; antybiotykoterapia skojarzona i uszkodzenie nerwów (Gao i wsp. 2019)

- ▶ Wyniki badań retrospektywnych w medycynie ludzkiej wskazują na niższą śmiertelność u pacjentów zakażonych szczepami opornymi na kolistynę po terapii skojarzonej (Tumbarello i in. 2012; Tumbarello i in. 2015)
 - kolistyna/tygecyklina i kolistyna/tigecyklina/meropenem
- ▶ Leczenie dwoma lub więcej lekami wykazującymi aktywność wobec czynnika etiologicznego zakażenia poprawia przeżycie, głównie u pacjentów w stanie krytycznym
 - Leczenie skojarzone z tygecykliną, kolistyną i meropenemem wiązało się z niższym ryzykiem zgonu (12,5%)
 - Nieprawidłowe leczenie empiryczne jest istotnym czynnikiem śmiertelności pacjentów zakażonych *K. pneumoniae* opornymi na karbapenemy. (Tumbarello i in. 2012)
- ▶ Hirsch i Tam (2010) dokonali przeglądu 15 badań nad infekcjami wywołanymi przez izolaty wytwarzające KPC i stwierdzili wysokie wskaźniki sukcesu klinicznego u pacjentów, którzy otrzymywali schematy leczenia skojarzonego, w tym polimyksynę (Hirsch i Tam 2010; Tumbarello i in. 2015)

Ceftazydym / awibaktam

- ▶ Ceftazydym z awibaktamem odgrywa ważną rolę w leczeniu zakażeń *K. pneumoniae* MDR , w tym izolatów opornych na kolistynę, które wytwarzają KPC (Jayol i in. 2018)
- ▶ Jest to połączenie β -laktamu z inhibitorem β -laktamazy, zarejestrowanym do leczenia zakażeń jamy brzusznej, ZUM i szpitalnego zapalenia płuc (Zhanel i in. 2013)
- ▶ Awibaktam hamuje β -laktamazy klasy A, C i D (zgodnie z klasyfikacją Amblera), w tym karbapenemazy KPC i OXA-48 (Pogue i in. 2018; Shields i in. 2015), ale nie działa na metalo- β -laktamazy (np. NDM, VIM, IMP) z powodu braku reszty seryny w miejscu aktywnym w tych enzymach (Davido i in. 2017)
- ▶ Interesujące wydaje się być połączenie ceftazydymu / awibatamu i aztreonamu, które wykazuje aktywność przeciwko szczepom *K. pneumoniae* niezależnie od rodzaju wytwarzanej karbapenemazy (Davido i in. 2017; Jayol i in. 2018)
- ▶ Terapia ceftazydymem / awibaktamem jest mniej nefrotoksyczna w porównaniu do aminoglikozydów lub kolistyny (Zhanel i in. 2013)
- ▶ Niepokojący jest fakt, że *K. pneumoniae* nabyła oporność na ceftazydym podczas stosowania terapii z awibaktamem (Shields i in. 2017; Gaibani i in. 2018).

Meropenem / waborbaktam

- ▶ Połączenie meropenemu z waborbaktamem jest nowym środkiem przeciwdrobnoustrojowym aktywnym przeciwko *K. pneumoniae* KPC (Pogue i in. 2018; Pfaller i in. 2018) zarejestrowanym do leczenia zapalenia płuc i bakteriemii (U.S. National Library from Medicine 2019)
- ▶ Waborbaktam nie hamuje karbapenemaz klasy D lub B
- ▶ Ze względu na ryzyko rozwoju oporności meropenem / waborbaktam należy zarezerwować do leczenia wybranych przypadków zakażeń, w tym zakażeń wywołanych przez *K. pneumoniae* KPC odporne na kolistynę (Lomovskaya i in. 2017).

Metody wykrywania oporności na kolistynę

- ▶ **Metoda dyfuzji z krążka antybiotykowego i testy gradientowe okazały się niewiarygodne ze względu na słabą dyfuzję kolistyny w agarze** (Behera i in. 2010; Galani i in. 2008; Dafopoupolu i in. 2015; Vasoo 2017; Chew i in. 2017; Giske i Kahlameter 2018)
- ▶ EUCAST i CLSI → metoda rekomendowana – metoda mikrorozcińczeń w bulionie
- ▶ **EUCAST nie zaleca stosowania automatycznych systemów do określania wrażliwości na kolistynę**, takich jak Vitek 2, BD Phoenix i WalkAway → w porównaniu z metodą referencyjną mają dość ograniczoną dokładność w oznaczaniu MIC kolistyny, szczególnie w zakresie 2–4 mg/l (Nordmann i in. 2016; Bosacka i in. 2018; Matuschek i in. 2018; Lellouche i in. 2019)
- ▶ Przydatność kilku dostępnych na rynku testów komercyjnych, takich jak MIC-Strip Colistin (Merlin, Niemcy), Microlatest MIC Colistin (Erba Lachema, Republika Czeska), Sensitest Colistin (Liofilchem, Włochy) i MIC COL (Diagnostyka, Słowacja) dla określenia MIC kolistyny (Nordmann i in. 2016; Matuschek i in. 2017; Bosacka i in. 2018; Lellouche i in. 2019)
- ▶ **Coraz większa liczba ostatnich doniesień wskazuje na niejednorodność szczepów w metodzie mikrorozcińczeń w bulionie** (Chew i in. 2017).

RapidPolymyxin NP test

- ▶ Prawdziwą nowatorską techniką identyfikacji oporności na kolistynę jest RapidPolymyxin NP (Nordmann/Poirel) opracowany przez grupę Nordmanna do badania wrażliwości Enterobacterales na kolistynę (Nordmann i in. 2016)
- ▶ RapidPolymyxin NP wykrywa metabolizm glukozy związany ze wzrostem bakterii w obecności określonego stężenia kolistyny lub polimyksyny B → o obecności metabolitów kwasowych świadczy zmiana koloru (pomarańczowy na żółty) wskaźnika pH (czerwony fenol)
- ▶ Czułość i swoistość wyniosły odpowiednio 99,3% i 95,4% w porównaniu z referencyjną metodą referencyjną
- ▶ Szybki (<2 h) i łatwy do wykonania (Nordmann i in. 2016).

Podłoża przesiewowe

- ▶ Pierwszą podłożem przesiewowym do wykrywania izolatów opornych na kolistynę, w tym o niskim MIC i niosących gen *mcr-1*, z wymazów z odbytu lub próbek klinicznych było podłoże SuperPolymyxin w 2016 r. (Nordmann i in. 2016) - komercyjna wersja to podłoże SuperPolymyxin (ELITechGroup, Puteaux, Francja) (Jayol i in. 2018) – trwają prace nad zastosowaniem do wykrywania pałeczek niefermentujących kolistynoopornych
- ▶ CHROMagar COL-APSE (Abdul Momin i in. 2017) – możliwość odróżnienia pałeczek Enterobacterales i niefermentujących
- ▶ LBJMR - nowe poliwalentne podłoże przesiewowe do dla bakterii opornych na wankomycynę i kolistynę (Bardet i in. 2017)
- ▶ CHROMID Colistin R (COLR; bioMérieux, Francja) – dla szczepów Enterobacterales

Podsumowanie

- ▶ Oporność pałeczek Gram-ujemnych na kolistynę, w tym Enterobacteriaceae, jest poważnym problemem zdrowia publicznego
- ▶ Stosowanie kolistyny w hodowli zwierząt i rolnictwie ma wpływ na rozprzestrzenianie się oporności na kolistynę, ale dane dotyczące oporności na kolistynę w medycynie weterynaryjnej są niewielkie w porównaniu z danymi w medycynie ludzkiej (Teale i in. 2015)
- ▶ Łatwe przenoszenie genów oporności między drobnoustrojami stanowi zagrożenie dla możliwości terapeutycznych zakażeń bakteryjnych MDR, szczególnie Enterobacterales opornych na karbapenemy
- ▶ **Oporność szczepów Enterobacterales na kolistynę powinna być postrzegana jako ważny globalny problem zdrowotny, wymagający wielosektorowych, dalszych badań oraz systemów monitorowania i nadzoru**

Dziękuję za uwagę

