

Antybiotyki w nefrologii (Część I) – najczęściej występujące patogeny i mechanizmy ich oporności

Antibiotics in nephrology (Part I) – the most frequent pathogens and mechanisms of their resistance

Ewa Mierzyńska, Zofia I. Niemir

Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii i Chorób Wewnętrznych, Uniwersytet Medyczny im. Karola Marcinkowskiego w Poznaniu

Streszczenie

Antybiotyki są lekami często używanymi w praktyce medycznej. W pracy opisano najczęściej występujące w nefrologii drobnoustroje, enzymy i metabolity, które wytwarzają oraz mechanizmy narastającej wobec nich oporności. Opisano również diagnostykę mikrobiologiczną umożliwiającą określenie ich wrażliwości oraz antybiotyki stosowane w najczęstszych schorzeniach i powikłaniach w oddziale nefrologii. (*Farm Współ* 2009; 2: 97-101)

Słowa kluczowe: nefrologia, antybiotyki, mechanizmy oporności, diagnostyka mikrobiologiczna

Summary

Antibiotics are often used in medical practice. In this work the most frequent microorganisms that can be found in the renal unit and their increasing resistance to antibiotics have been described. Methods of microbiological diagnostics enabling the determination of bacteria sensitivity, as well as antibiotics used in the most common renal diseases and complications are also presented. (*Farm Współ* 2009; 2: 97-101)

Keywords: nephrology, antibiotics, mechanisms of resistance, microbiological diagnostics

Wstęp

Ilość i rodzaj stosowanych antybiotyków w oddziale nefrologii wynika z profilu leczonych pacjentów. W większości są to osoby z osłabioną odpornością, wynikającą z obecności chorób przewlekłych, w przebiegu których dochodzi tu do zaburzeń funkcji wielu narządów i układów. Także leczenie immunosupresyjne (stany po przeszczepie nerki, pierwotne i wtórne zapalenie kłębuszków nerkowych) wpływa na zaburzenie odporności u pacjentów nefrologicznych.

Stosowanie antybiotyków w oddziale nefrologii, a nawet zwiększenie ich ilości, wynika również z częstych powrotów pacjentów do oddziału i tym samym narażenie ich na kontakt ze „zjadliwymi bakteriami szpitalnymi”. Powroty pacjentów spowodowane są częstymi powikłaniami infekcyjnymi leczenia ner-

kozastępczego. Najczęstszym powikłaniem dializoterapii otrzewnowej są zapalenia otrzewnej (0,5-10%) oraz zapalenia ujścia cewnika. Natomiast u chorych leczonych hemodializami często dochodzi do zakażeń przetoki tętniczo-żylniej oraz posocznicy wynikających z implantacji cewników naczyniowych do dializ.

Najczęstsze patogeny występujące u pacjentów nefrologicznych i mechanizmy ich oporności

Do głównych patogenów wywołujących infekcje u chorych nefrologicznych należą pałeczki Gramujemne z gatunku *Escherichia coli* (50%) oraz inne pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* (*Morganella morganii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Proteus mirabi-*

lis, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*) oraz Gram-dodatnie ziarenkowce (*Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis* i *Staphylococcus aureus*) [1].

Patogeneza zakażeń jest złożona. Wpływają na nie właściwości zakażających patogenów, środowisko oraz czynniki biologiczne gospodarza. W dobie szeroko stosowanej antybiotykoterapii stosunkowo często występują zakażenia wywołane przez *Enterococcus faecalis* (90%) oraz *Enterococcus faecium* (10%). Są to ziarenkowce należące do prawidłowej flory bakteryjnej, bytującej na błonach śluzowych [2]. Należą one do bakterii Gram-dodatnich, z których największą grupę stanowią ziarniaki. Dzięki skuteczności wielu antybiotyków wobec tej grupy, wywołane nimi zakażenia były dotychczas dobrze niwelowane. Jednak wskutek stosowania szerokiej antybiotykoterapii u coraz większej ilości drobnoustrojów rozprzestrzeniły się mechanizmy oporności, a nawet pojawiła się oporność na wszystkie dostępne antybiotyki i chemioterapeutyki [3,4]. Wykazano również, że jeden szczep bakteryjny może mieć kilka odrębnych mechanizmów oporności na dany antybiotyk, co utrudnia wybór antybiotyku. Mechanizmy bakteryjnej oporności polegają m.in. na: wytworzeniu enzymu zobojętniającego aktywność antybiotyku, jak np. β -laktamazy, które modyfikują strukturę aminoglikozydów, czy też zmianie w miejscu docelowego wiązania, wskutek czego antybiotyki nie łączy się z bakterią. Inne mechanizmy oporności polegają na zmniejszeniu przepuszczalności ściany komórkowej i zmianie drogi metabolicznej hamowanej przez lek (sulfonamidy), czy też zablokowaniu transportu antybiotyku do wnętrza komórki bakteryjnej [4].

Diagnostyka mikrobiologiczna umożliwiająca identyfikację patogenu i określenie jego wrażliwości

Osiągnięcie sukcesu w leczeniu zakażeń bakteryjnych jest możliwe poprzez wykonanie antybiogramu, czyli ocenę lekowrażliwości drobnoustroju. Posiewy materiału klinicznego wykonane na odpowiednim podłożu umożliwiają identyfikację i oznaczenie lekowrażliwości [2]. Wykonuje się je poprzez metody jakościowe i ilościowe. Do metod jakościowych należy metoda dyfuzyjno-krążkowa, którą wykonuje się na podłożu stałym Muellera-Hintona z zastosowaniem 18-godzinnej hodowli bulionowej wyizolowanych szczepów [5]. Krążki bulionowe wysycane są znaną ilością antybiotyku. Dyfundujący antybiotyk powoduje

powstanie dookoła krążka strefy zahamowania wzrostu, proporcjonalnej do stopnia wrażliwości szczepu [6]. Daje ona przydatne do leczenia informacje. Pozwala zakwalifikować badany drobnoustroj do trzech kategorii: wrażliwy (*S-susceptible*), średniowrażliwy (*I-intermediate*) i oporny (*R-resistant*). Wrażliwość drobnoustrojów na dany antybiotyk oznacza prawdopodobieństwo sukcesu przy zastosowaniu danego leku. Przy średniej wrażliwości na dany lek sukces terapeutyczny można osiągnąć poprzez zwiększenie jego dawki lub częstotliwości podawania. Oporność bakterii na dany antybiotyk jest równoznaczna z bezcelowością jego stosowania, drobnoustroj posiada bowiem skierowane przeciw niemu mechanizmy oporności [4,7].

Metoda ilościowa, zwana również metodą biologiczną, jest metodą pozwalającą na określenie minimalnego stężenia antybiotyku, hamującego wzrost bakterii (Minimal Inhibitory Concentration; MIC). Umożliwia ona stwierdzenie braku namnażania się drobnoustroju, a także jego przeżycia w obecności danego leku [4,6]. Wartość MIC można oznaczyć stosując metodę mikrorozcieńczeń w bulionie lub paski *E-test* (Epsilometr test) [2]. Metoda seryjnych mikrorozcieńczeń jest metodą czułą, swoistą i pracochłonną. Wymaga ona jednak dużego doświadczenia, kontroli i precyzji. Z uwagi na pracochłonność nie jest wykonywana rutynowo przez laboratoria mikrobiologiczne [2]. Częściej stosowane są paski *E-test*. Jest to metoda łatwa do przeprowadzenia i umożliwia również oznaczenie MIC dla kilku antybiotyków jednocześnie. Stosuje się ją zawsze zgodnie z instrukcją producenta. Polega ona na nałożeniu na wysiane bakterie wąskiego paska plastikowego, nasączonego antybiotykiem o odpowiednim stężeniu, inkubacji i odczytaniu wyniku po określonym czasie. Obecnie pojawiły się zautomatyzowane systemy do identyfikacji drobnoustrojów i oznaczenia ich oporności, takie jak *VITEK-2* (Biomérieux), *Phoenix* (Becton Dickinson) czy inne [2].

Narastająca oporność drobnoustrojów i metody jej wykrywania

W sytuacjach, kiedy za zakażenie odpowiedzialny jest więcej niż jeden czynnik etiologiczny sam wynik badania bakteriologicznego nie jest wystarczający do jego zwalczenia. Potrzebne są dane kliniczne o chorym i toczącym się zakażeniu: gorączka, leukocytoza, stężenie białka C-reaktywnego w surowicy (C-Reactive Protein; CRP) i prokalcytoniny (Procalcitonin; PCT).

Każdy wynik musi być zinterpretowany w oparciu o wykryte mechanizmy oporności, takie jak: oporność na metycylinę (Methicillin Resistant Staphylococcus Aureus; MRSA), wankomycynę (Vancomycin Resistant Enterococcus; VRE), aminoglikozydy (High Level Aminoglycoside Resistant; HLAR), czy antybiotyki betalaktamowe (Extended Spectrum Beta-Lactamase; ESBL) i inne [4]. Czasami konieczne jest zastosowanie metod biologii molekularnej. Metody molekularne takie jak PCR (polymerase chain reaction), zwane też metodami genotypowymi, oparte są na analizie DNA. Pozwalają one określić stopień pokrewieństwa badanych drobnoustrojów, a tym samym wykryć źródło zakażenia i drogi przenoszenia choroby [2].

Celem zapobiegania powstawaniu i rozprzestrzenianiu się oporności drobnoustrojów konieczne jest stosowanie rozsądnej polityki antybiotykowej, kontroli zakażeń szpitalnych i ich monitoring [4]. Jeden z pierwszych mechanizmów oporności związany był z wytwarzaniem przez gronkowce penicylinaz, czyli enzymów hydrolizujących pierścień betalaktamowy. Obecnie około 90% gronkowców jest niewrażliwych na penicyliny naturalne, ampicylinę i amoksycylinę. Wrażliwe są one na penicyliny z inhibitorami, penicyliny syntetyczne jak: cefalosporyny I i II generacji oraz karbapenemy. Są to szczepy MSSA (Methicillin Susceptible Staphylococcus Aureus), wrażliwe na metycylinę [4]. Problemem ostatnich lat stała się oporność gronkowców złocistych na metycylinę. Związana jest ona z produkcją przez odporne szczepy nowego białka, PBP2a (penicillin binding proteins), o niskim powinowactwie do wszystkich antybiotyków betalaktamowych. Są to szczepy metycylinooporne, klinicznie odporne na wszystkie antybiotyki β -laktamowe tj. penicyliny, cefalosporyny, β -laktamy z inhibitorami β -laktamaz (ampicylina z sulbaktamem, amoksycylina i inne) oraz na karbapenemy (meropenem i imipenem). Czasami wykazują one jedynie wrażliwość na glikopeptydy (linezolid).

Podobnymi mechanizmami oporności dysponują szczepy *Staphylococcus epidermidis* i *Staphylococcus haemolyticus* [4]. Natomiast szczepy enterekoków, oprócz wysokiej oporności na antybiotyki aminoglikozydowe (HLAR), pod koniec lat osiemdziesiątych wykształciły mechanizmy oporności na wankomycynę (VRE) [4]. Również pałeczki Gram-ujemne uzyskały w ostatnich latach nowe mechanizmy oporności. Są to nowe β -laktamazy (ESBL), powstałe w wyniku mutacji enzymów. W sytuacji, kiedy geny kodujące te nowe

β -laktamazy znajdują się na plazmidach (*Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*) może dochodzić do rozprzestrzeniania się oporności między różnymi gatunkami z rodziny *Enterobacteriaceae* [4]. Pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae*, oprócz oporności na antybiotyki betalaktamowe, uzyskują coraz częściej także oporność na aminoglikozydy i fluorochinolony [8]. Wykryto geny oporności na wankomycynę: Van A, Van B, Van C, Van D i Van E. Największy problem stanowią geny Van A i Van B. Geny oporności mogą być przekazywane w obrębie gatunku lub nawet między gatunkami. Umożliwia to przeniesienie oporności z VRE na MRSA [8]. Mechanizmy ich oporności polegają na wytwarzaniu enzymów inaktywujących antybiotyki, na czynnym usuwaniu antybiotyku z komórki bakteryjnej oraz zmniejszaniu przepuszczalności ściany komórkowej bakterii wobec antybiotyku [9].

Także Gram-ujemne tlenowe pałeczki niefermentujące, jak *Pseudomonas aeruginosa* i *Acinetobacter baumannii* posiadają mechanizmy oporności na antybiotyki betalaktamowe, aminoglikozydy i fluorochinolony [4]. W przypadku patogenów atypowych, takich jak *Mycoplasma* i *Coxiella* ocena oporności jest trudna z powodu braku łatwych metod diagnostycznych. Wiadomo, że są one odporne na antybiotyki betalaktamowe, w tym szczególnie na cefalosporyny [9].

Wzrost zakażeń wewnątrzszpitalnych

Środowisko szpitalne ma duży udział w szerzeniu zakażeń. Dane epidemiologiczne dowodzą, że na rozprzestrzenianie się bakterii między pacjentami mają wpływ zanieczyszczone ręce i fartuchy pracowników służby zdrowia, powierzchnie urządzeń szpitalnych oraz materiały i substancje plastikowe używane w szpitalach [10].

Do zakażeń wewnątrzszpitalnych dochodzi często z uwagi na wielokrotne powroty chorych do szpitala, ich uprzednie leczenie antybiotykami i osłabienie. Na przebieg zakażeń ma przede wszystkim wpływ osłabienie barier ochronnych organizmu. Skóra, śluzówki układu moczowego, oddechowego i pokarmowego bronią organizm przed wtargnięciem bakterii, a w niewydolności nerek dochodzi do ich zmian morfologicznych, ułatwiających przenikanie bakterii do krwi, moczu i jamy otrzewnowej. Zaburzeniu ulega również zdolność neutrofilów do fagocytozy. Z uwagi na zmniejszenie ilości oddawanego moczu, czy nawet bezmocz (chorzy dializowani), zaburzony zostaje także

mechanizm hydrokinetyczny, który chroni pęcherz moczowy przed rozmnażaniem się bakterii [11].

Najczęstszą przyczyną zakażeń szpitalnych są infekcje gronkowcowe. Wywołane przez nie zakażenia stanowią duży problem zdrowotny, epidemiologiczny, leczniczy i ekonomiczny [12]. Jednak bardziej opornymi na środki dezynfekcyjne (trudniej usuwanymi z narzędzi i pomieszczeń) są szczepy *Enterococcus*, które zostały wyodrębnione z rodzaju *Streptococcus* w 1984 roku [8]. Do zakażeń tymi drobnoustrojami dochodzi często w oddziałach nefrologicznych, gdzie pacjenci z uwagi na stosunkowo częste zakażenia wywołane *Staphylococcus*, leczeni są wankomycyną [10]. Czynnikiem selekcyjnym VRE jest również stosowanie cefalosporyn i leczenie zakażeń spowodowanych przez bakterie beztlenowe [10]. Wśród zakażeń szpitalnych wzrasta też udział bakterii Gram-ujemnych tlenowych, takich jak *Pseudomonas aeruginosa*. Spowodowane jest to łatwością w utrzymywaniu się tych bakterii w warunkach szpitalnych i wykształceniem mechanizmów oporności. Z badań opublikowanych w Polsce w roku 1995 wynika, że pałeczka ropy błękitnej stanowiła trzeci, co do częstości czynnik etiologiczny zakażeń szpitalnych [4].

Do szpitala chory przychodzi z własną florą bakteryjną, która zostaje wyparta przez bakterie szpitalne, charakterystyczne dla danego oddziału i jego ekosystemu. Są one często odporne na liczne antybiotyki. Tu również chory zaraża się bakteriami pochodzącymi od innych pacjentów, zwłaszcza tych po zabiegach na układzie moczowym [2]. Dlatego coraz częściej rozpoznaje się przypadki zakażeń wieloma drobnoustrojami (14,6%), w których dominuje zakażenie o etiologii *Escherichia coli* [10]. Najczęstszymi zakażeniami szpitalnymi są zakażenia układu moczowego, które z kolei są częstą przyczyną posocznicy. Zakażenie układu moczowego rozpoczyna się najczęściej drogą wstępującą, od kolonizacji przez bakterie okolicy cewki moczowej. W warunkach szpitalnych, u chorych z maszyną bakteryjną, możliwe jest też zakażenie krwiopochodne lub drogą limfatyczną. Bakterie dostają się do układu moczowego z ognisk ropnych w innych narządach [2].

Enzymy i metabolity bakterii działające uszkodzająco na nerki

Drobnoustroje wytwarzają szereg enzymów i metabolitów uszkodzających nerki. Jednym z nich

jest enzym, ureaza. Jest ona potrzebna bakteriom do syntezy DNA i białek. Dostarcza amoniak z moczu do komórki bakterii, gdzie jest używany do syntezy polipeptydów. Enzym ten wytwarzany jest przez szczepy *Proteus*, *Klebsiella*, *Pseudomonas aeruginosa* i *Staphylococcus epidermidis*. Szczególnie w zakażeniach układu moczowego bakterie te kolonizują szybko nerki, poza tym działają patogennie alkalinizując mocz i powodując odkładanie kamieni moczowych. Poza tym działają cytotoksycznie na komórki nabłonkowe [13]. Proteazy, które wytwarzają szczepy *Proteus* niszczą główny mechanizm obronny układu moczowego, uszkodzają bowiem cząsteczki powierzchniowych immunoglobulin ochronnych. Natomiast proteazy i elastaza *Pseudomonas* odpowiadają za powstanie zmian martwiczo-ropnych w nerkach [2].

Escherichia coli oraz pałeczki z rodzaju *Proteus*, *Serratia* i *Pseudomonas* wytwarzają również silną toksynę zaburzającą metabolizm tlenowy i aktywność ATP-azy odpowiedzialnej za gospodarkę sodowo-potasową. Jest to hemolizyna [2]. *Escherichia coli* wytwarza także aerobaktynę zapewniającą bakteriom korzystne warunki rozwoju w nerkach, wychwytuje ona bowiem jony żelaza potrzebne do wzrostu bakterii [2]. Bakteria ta posiada również fimbrie typu 1 oraz fimbrie typu P, które nadają jej wyjątkową uropatogenność. Ułatwiają one kolonizację cewki, pęcherza oraz pochwy. Uszkodzają nabłonek i miąższ nerek, powodując ich bliznowacenie. *Escherichia coli* pobudza również leukocyty do wydzielania mediatora - leukotrienu B₄, który także uszkodza tkanki. Pałeczki *Pseudomonas* tworzą w drogach moczowych mikrokolonie, tzn. skupiska komórek otoczone śluzem polisacharydowym wydzielanym przez bakterie (biofilm), który nie pozwala na przeniknięcie antybiotyku. Bakterie przeżywają czas podawania antybiotyku, po czym ponownie się namnażają [2,10].

Podsumowanie

Antybiotyki są lekami ratującymi życie i nie wolno ich stosować bez wskazań klinicznych. Szybkie rozprzestrzenianie się różnych mechanizmów oporności stwarza możliwość zakażenia szczepami wieloopornymi, gdzie działanie terapeutyczne staje się ograniczone. Pojawienie się w szpitalach zakażeń MRSA, VRSa i VRE jest kolejnym wyzwaniem do poszukiwania nowych antybiotyków wykazujących aktywność wobec tych szczepów. Kryzys antybiotykoterapii

można ograniczyć także poprzez racjonalną terapię, opartą na wiedzy bakteriologicznej i farmakologicznej i dlatego nie wolno oszczędzać na badaniach bakteriologicznych. Bez współpracy lekarza z mikrobiologiem i farmakologiem nie ma racjonalnej terapii zakażeń

Adres do korespondencji:
Prof. dr hab. n. med. Zofia I. Niemi
Katedra i Klinika Nefrologii, Transplantologii
i Chorób Wewnętrznych UM w Poznaniu
ul. Przybyszewskiego 49; 60-355 Poznań
Tel. 061-8691768, Faks: 061-8691688
E-mail: zniemir@ump.edu.pl

Piśmiennictwo

1. Wróblewska M, Rokosz A, Sawicka-Grzelak A i wsp. Zakażenia układu moczowego o mieszanej etiologii u hospitalizowanych pacjentów. *Zakażenia*; 2006; 6(2): 39-42.
2. Dzierżanowska D. Zakażenia szpitalne. Bielsko-Biała: Alfa Medica Press; 2008.
3. Dzierżanowska D, Jeljaszewicz J. Współczesne antybiotyko-terapię. *Ter Lek* 2000; 28(2): 22-8.
4. Meszaros J, Hryniewicz W. Antybiotyki w profilaktyce i leczeniu zakażeń. Wyd. I. Warszawa: PZWL; 2001.
5. Wróblewska I, Kępa M, Idzik D i wsp. Czynniki bakteryjne w znamiennej bakteriiurii u pacjentów z zakażeniami dróg moczowych. *Urol Pol* 1996; 49(2): 211-6.
6. <http://www.pg.gda.pl/chem/Katedry/Mikrobiologia/antybiotyki.htm>. (09.02.2009).
7. Szkaradkiewicz A. Leczenie chorób bakteryjnych – podstawy wyboru antybiotyku. *Przew Lek* 2000; 3(10): 38-46.
8. Mądry K. Nowe antybiotyki. *Współcz Onkol* 2004; 8(2): 52-7.
9. Drzewiecki A, Bulanda M. Nowości w dziedzinie antybiotyko-terapię. Część III – bakterie beztlenowe, pałeczki Gram-ujemne i drobnoustroje atypowe. *Przew Lek* 2005; 8(4): 54-8.
10. Strycharczyk M, Markuszewski L, Denys A. Zakażenia powodowane przez bakterie z rodzaju *Enterococcus* sp. na oddziałach urologii. *Urol Pol* 2005; 58(4): 257-60.
11. Rutkowski B. (red) Dializoterapia w praktyce lekarskiej – wydanie III. Gdańsk: MAKmedia; 2004.
12. Kaczmarek A, Budzyńska A, Mikołajczyk D, Gospodarek E. Oporność na ciprofloksacynę gronkowców metycylioopornych izolowanych z materiałów klinicznych w latach 2001-2003. *Nefrol Dial Pol* 2007; 11(4): 168-71.
13. <http://www.mp.pl/artykuly/?aid=25440&spec=29>. (09.02.2009).