

# *Stenotrophomonas maltophilia* törzsek klinikai mikrobiológiai vizsgálata

Doktori értekezés

**Dr. Juhász Emese Réka**

Semmelweis Egyetem  
Klinikai orvostudományok Doktori Iskola



Témavezető: Dr. Kristóf Katalin, Ph.D., egyetemi docens

Hivatalos bírálók: Dr. Deák Judit, Ph.D., egyetemi tanár  
Dr. Kenesei Éva, Ph.D., tudományos főmunkatárs

Komplex vizsga bizottság elnöke:  
Dr. Benyó Zoltán, DSc., egyetemi tanár

Komplex vizsga bizottság tagjai:  
Dr. Tulassay Tivadar, az MTA rendes tagja, egyetemi tanár  
Dr. Vásárhelyi Barna, DSc., egyetemi tanár  
Dr. Folyovich András, Ph.D., osztályvezető főorvos

Budapest  
2018

## Tartalomjegyzék

Rövidítések jegyzéke.....	3
1. Bevezetés .....	5
1.1. Nozokomiális kórokozók és fertőzések .....	6
1.2. A <i>S. maltophilia</i> általános jellemzői, virulenciafaktorai .....	9
1.3. A fertőzés klinikai megjelenése .....	14
1.3.1. A <i>S. maltophilia</i> véráram fertőzés .....	14
1.3.2. A <i>S. maltophilia</i> pneumonia .....	16
1.4. Az antibiotikum rezisztencia háttere .....	19
1.5. Az antibiotikum rezisztencia epidemiológiája .....	24
1.6. Antibiotikum terápia .....	25
1.6.1. Kombinált antibiotikum terápia .....	28
1.6.2. Új terápiás lehetőségek .....	30
2. Célkitűzések .....	32
3. Módszerek .....	33
3.1. A baktérium törzsek identifikálása és gyűjtése .....	33
3.2. Antibiotikum érzékenységi vizsgálatok .....	35
3.3. Antibiotikum kombinációk vizsgálata .....	36
3.4. Molekuláris vizsgálatok .....	37
3.5. Statisztikai elemzés .....	38
4. Eredmények .....	39
4.1. Genetikai összefüggőség vizsgálatának eredményei .....	40
4.2. Az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok eredményei .....	41
4.3. Antibiotikum kombinációk vizsgálatának eredményei .....	43
4.4. Rezisztencia gének vizsgálatának eredménye .....	49
4.5. A klinikai adatok elemzésének eredményei .....	50
5. Megbeszélés .....	53
5.1. Az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok eredményeinek diszkussziója ..	54
5.2. Az SXT rezisztencia vizsgálati eredményeinek diszkussziója .....	65
5.3. Az antibiotikum kombinációk eredményeinek diszkussziója .....	67

5.4. A <i>S. maltophilia</i> szerepe polimikróbás fertőzésekben .....	70
5.5. A vizsgálatok korlátai .....	71
6. Következtetések .....	73
7. Összefoglalás .....	75
8. Irodalomjegyzék .....	77
9. Saját publikációk jegyzéke .....	101
10. Köszönetnyilvánítás .....	104

## Rövidítések jegyzéke

ABC: (ATP-binding cassette) ATP-kötő kazetta

BAL: bronchoalveoláris lavage

CB: checkerboard módszer

CDC: Centers for Disease Control and Prevention

CF: cisztás fibrózis

CFU: (colony forming unit) telepképző egység

CLSI: Clinical and Laboratory Standards Institute

CRP: C-reaktív protein

ECDC: European Centre for Disease Prevention and Control

ECOFF: epidemiológiai (cut-off) vágóérték

ERIC-PCR: enterobakteriális repetitív intergén konszenzus polimeráz láncreakció

ESBL: kiterjedt spektrumú  $\beta$ -laktamáz

EUCAST: European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing

FEV1: forszírozott kilégzési volumen az első másodpercben

FICI: frakcionális inhibitoros koncentráció index

LasR: elasztáz gén transzkripció regulátor

LPS: lipopoliszacharid

MALDI-TOF MS: mátrix-asszisztált lézer deszorpció ionizációs, repülési idő tömegspektrometria

MBL: metallo- $\beta$ -laktamáz

MDR: (multidrug resistant) multidrog rezisztens

MIC: minimális inhibitoros koncentráció

MLST: multilókusz szekvencia tipizálás

MOF: sokszervi elégtelenség

NNSR: Nemzeti Nozokomiális Surveillance Rendszer

OMV: külső membrán vezikula

P80: polysorbat 80

QS: quorum sensing

RND: resistance nodulation cell division

SBPI: (susceptibility breakpoint index) érzékenységi határérték index

SCV: (small colony variant) kis telepet képző variáns

ST: szekvencia típus

SXT: sulfamethoxazol-trimethoprim

TKA: (time kill assay) idő-ölés vizsgálat

XDR: (extensively drug resistant) kiterjedten drog rezisztens

VAP: (ventilation associated pneumonia) lélegeztetéssel összefüggő tüdőgyulladás

WHO: World Health Organisation

## 1. Bevezetés

A *Stenotrophomonas maltophilia* az elmúlt két évtizedben jelentős opportunistá, nozokomiális kórokozóvá vált világszerte (1, 2). A *Pseudomonas aeruginosa* és az *Acinetobacter baumannii*t követően a harmadik leggyakoribb nozokomiális fertőzést okozó baktérium a Gram-negatív, glükózt nem fermentáló pálcák csoportjából (1). A World Health Organisation (WHO) a legjelentősebb antibiotikum rezisztens kórházi kórokozók listájára helyezte. Napjainkra a közösségben szerzett *S. maltophilia* fertőzések is ismertté váltak (3). A fertőzés általában pneumoniaként vagy véráram fertőzésként jelenik meg (1, 2). Természetes antibiotikum rezisztenciája enzintermelése, efflux rendszerei és alacsony külső membrán permeabilitása miatt igen kiterjedt, ezért a terápiás lehetőségek szűkösek, néhány antibiotikumra korlátozódnak (1, 2, 4). Az ajánlott, elsőként választandó antibiotikum *S. maltophilia* fertőzésben a sulfamethoxazol-trimethoprim (SXT), de számos tényező (a beteg túlérzékenysége az antibiotikumra, a baktérium rezisztenciája) kizárhatja alkalmazását (1, 2). Ilyenkor a baktérium egyéb antibiotikumokra, például fluorokinolonokra vagy tetracyclin származékokra való érzékenységének meghatározása szükséges, annak ellenére, hogy több gyógyszer esetében még nincs klinikai bizonyíték azok hatékonyságáról *S. maltophilia* fertőzésben (4). Az opportunistá fertőzésre fogékony betegek (immunkompromittáltak, daganatos betegek, hosszas intenzív terápiás kezelésre szoruló, stb.) számának emelkedése és a széles spektrumú antibiotikumok, ezen belül is a karbapenemek – melyek ellen a *S. maltophilia* természetes rezisztenciával bír – szükségyszerűen egyre gyakoribb alkalmazása egyaránt a *S. maltophilia* infekciók számának növekedéséhez vezetett (1, 2, 5). A baktérium jellemzői, mint a biofilm képző képessége, ubiquiter természete, természetes és szerzett rezisztenciája egyaránt hozzájárulnak ahhoz, hogy napjaink egyik fenyegető, alkalmasint komoly terápiás kihívást jelentő kórokozóját jelentse. A fertőzések magas letalitása (14-69%) a *S. maltophilia* klinikai jelentőségét kiemeli (6, 7). Dolgozatom célja, hogy bemutassa e régóta ismert, de még mindig újdonságokat rejtő és globálisan egyre nagyobb problémát jelentő baktérium klinikai mikrobiológiáját, különös tekintettel az antibiotikum kezelés lehetőségeire.

### 1.1. Nozokomiális kórokozók és fertőzések

A nozokomiális fertőzések olyan egészségügyi ellátás során létrejött infekciók, melyek kórházi fekvőbeteg ellátás esetében a felvételt követő 48 óra után jelentkeznek vagy a hazabocsátást követő 48 órán belül erednek meg. Kivételt képeznek a sebfertőzések és a protézis asszociált fertőzések, melyek a beavatkozást követő 30 napon, illetve egy éven belül is lehetnek nozokomiálisak. Bár a kórházi vagy egészségügyi ellátáshoz kapcsolódó fertőzések minden klinikai szakterületen előfordulnak, az infekciók 20-30%-a az intenzív osztályon kezelt betegeket érinti. A négy legjelentősebb infekció típus a lélegeztetéssel összefüggő pneumonia (VAP), ezt követően a kanül-asszociált véráram fertőzés, a katéter eredetű húgyúti fertőzés és a sebfertőzés (8). A két napnál tovább lélegeztetett betegek 10-20%-ánál jelentkezik pneumonia. A véráram fertőzések 76%-a az intenzív ellátás során alakul ki, a szeptikus sokk a leggyakoribb sokk típus az intenzív osztályokon (9). A nozokomiális fertőzések jelentős többlet költség vonzatukon túl szignifikánsan növelik a mortalitást. A fertőzések és a szepszis a halálozás vezető oka a nem kardiológiai profilú intenzív osztályokon (10). Az Egyesült Államokban a hatodik leggyakoribb halálok a nozokomiális fertőzés (11).

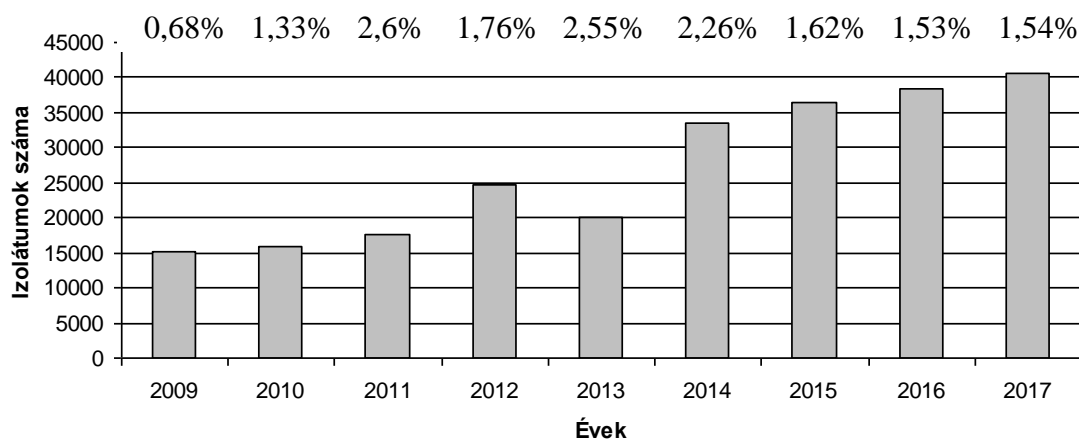
A Gram-pozitív baktériumok közül a methicillin-rezisztens *Staphylococcus aureus*, a *Clostridium difficile* és a vancomycin-rezisztens *Enterococcus faecium* és *Enterococcus faecalis* napjainkban is komoly infektológiai és epidemiológiai problémát jelentő nozokomiális patogének, mégis, az elmúlt két évtizedben előretörő multirezisztens Gram-negatív baktériumok nagyobb aggodalomra adnak okot. A nozokomiális fertőzések több mint 30%-áért, az intenzív osztályon megjelenő fertőzések 70%-áért Gram-negatív kórokozók felelősek (11). A kiterjedt spektrumú  $\beta$ -laktamázt (ESBL) termelő *Enterobacterales* fajok által okozott nozokomiális fertőzések szokványossá váltak; hazánkban az invazív *Klebsiella* fajok 25-50%-a rezisztens a harmadik generációs cefalosporinok, fluorokinolonok és aminoglikozidok együttesére. Egy ESBL-termelő bélbaktériumok okozta kórházi infekció a karbapenem rezisztens *Enterobacterales* törzsek okozta fertőzések tükrében ma már a kisebb rossznak számít. A karbapenem rezisztens (nagyreszt karbapenemáz termelő) bélbaktériumokat a WHO és a Centers for Disease Control and Prevention (CDC) egyaránt a legnagyobb veszélyt jelentő nozokomiális patogének közé sorolta (12). A karbapenem rezisztens, glükózt

nem fermentáló Gram-negatív pálcák, főleg az *A. baumannii* és a *P. aeruginosa* hasonlóan prioritással bíró nozokomiális kórokozók. Arányuk világszerte megnőtt az utóbbi évtizedben: az *A. baumannii* törzsek több mint 60%-a, a *P. aeruginosa* törzseknek 10-50%-a karbapenem rezisztens (13). A karbapenem rezisztencia háttérében álló lehetséges mechanizmusok közül a nem fermentáló pálcák esetében is a karbapenemáz enzimek termelés a fő probléma, növekvő incidenciájuk, mobil genetikai elemekkel való terjedésük és egyéb rezisztencia génekhez való kapcsoltságuk miatt, mely multi-drog rezisztenciát eredményez. Az antibiotikum rezisztencia nem feltétlenül jár együtt a virulencia növekedésével, sőt, a rezisztencia fenntartásának jelentős ára, fitness cost hatása lehet. Mégis, a klinikai mintákból izolált karbapenem rezisztens, nem fermentáló baktériumokat emelkedett morbiditással és mortalitással hozták összefüggésbe. A karbapenem rezisztens *Acinetobacter* fajjal fertőzött betegek mortalitása akár háromszorosa lehet a karbapenemre érzékeny fajjal fertőzött betegekéhez képest. Különösen magas a halálozási ráta, ha bizonyos típusú, például metallo- $\beta$ -laktamáz (MBL) típusú karbapenemáz termelés áll a rezisztencia háttérében. A multidrog rezisztens (MDR), vagyis három vagy több antibiotikum csoport legalább egy tagjával szemben szerzett rezisztenciával bíró *A. baumannii* és *P. aeruginosa* törzsek aránya a 2000 évek óta emelkedik. A kiterjedten drog rezisztens (XDR), vagyis csak egy-két antibiotikumra érzékenységet mutató típusaik napjainkra eljutottak a colistin rezisztencia szintjére. E régi, toxicitása miatt sokáig nélkülözött, ám az MDR és XDR Gram-negatív nozokomiális kórokozók miatt újra a klinikai gyakorlatba került antibiotikum jelentette az utolsó terápiás lehetőséget. A posztantibiotikum korszak már nem egy lehetséges fenyegető veszély, hanem egyes Gram-negatív infekciók tekintetében a jelen valósága. Az MDR Gram-negatív baktériumok ellene ható új antibiotikumok fejlesztése számos kutatócsoport törekvése; a siker egyelőre várat magára.

A fent említett kórokozókkal ellentétben a karbapenemekkel szemben természetes rezisztenciával bíró nem fermentáló baktériumok, mint a *S. maltophilia*, a *Burkholderia* vagy *Ralstonia* fajok epidemiológiai szempontból más megítélés alá esnek, mivel kromoszomálisan kódolt karbapenemázaik terjedésével lényegében nem kell számolni.



Több nemzetközi vizsgálat igyekezett felmérni a *S. maltophilia* prevalenciáját klinikai mintákban. Ezek alapján a klinikai mintákból izolálásra került összes bakteriális patogén 0,8-1,6%-a volt *S. maltophilia*. Saját adataink szerint a baktérium az összes klinikai izolátum 0,68-2,6%-át tette ki a 2009-2017 periódusban (1. ábra).



1. ábra: A *S. maltophilia* izolátumok százalékos aránya az izolátumok össz számához képest 2009-2017 években

Különösen az intenzív terápiás kezelésre szoruló betegek esetében kell számolni a *S. maltophilia* fertőzés veszélyével (14). Egy amerikai felmérés szerint az intenzív osztályon kezelt betegekből izolált Gram-negatív baktériumok sorában a nyolcadik leggyakoribb kórokozó (15). A nem fermentáló Gram-negatív pálcák csoportjából 8-9,1%-ot képvisel, a ritkábban előforduló nem fermentáló Gram-negatív pálcák körében pedig 39-59%-ot tesz ki. A *S. maltophilia* fertőzések prevalenciája az intenzív osztályokon 1,4-3%, míg az általános betegpopulációban 1,3-1,68% (16). Incidenciája 6-31 eset / 10000 kórházi betegfelvétel. Kevés adat van a *S. maltophilia* előfordulásáról gyermek betegekben. Hét éves kor alatt 1,2%, 18 éves kor alatt 1,4% a *S. maltophilia* prevalenciája, hasonlóan a felnőtt beteg körében mért értékekhez. Gyermek intenzív osztályon kezelt beteg körében 0,8% és 20% prevalenciáról is beszámolnak (17, 18). A kórházi felvételt követő 48 órán belül észlelt infekciókat közösségben szerzett fertőzésnek elfogadva, az ápolási otthonokból felvett betegeket és a felvételt megelőző 90 napban kórházi kezelésben részesült betegeket kizárva a felmérésből, bebizonyosodott, hogy a közösségben szerzett *S. maltophilia* fertőzések gyakorisága magasabb, mint azt korábban vélték. A *S. maltophilia* véráram fertőzések 17-23%-a

közösségben szerzett (19, 20). Intenzív osztályokon, malignus hematológiai betegek és csontvelő transzplantáltak, hemodializált betegek és újszülöttek körében *S. maltophilia* járványok is kerültek leírásra (21-23). Több esetben a kontaminált csapvíz jelentette a járvány forrását. Kontaminált bronchoscop eredetű *S. maltophilia* pszeudo-járványról szintén beszámol az irodalom (24).

Intenzív osztályok adatait elemezve a teljes antibiotikum fogyasztás, a ceftazidim, a karbapenem és fluorokinolon használat szignifikáns pozitív korrelációt mutat *S. maltophilia* izolátumok számával (25). Az ESBL termelő bélbaktériumok gyakorisága miatt a karbapenem terápia sokszor már empirikusan is választandó. Egy modell alapján a karbapenem rezisztens invazív *Klebsiella pneumoniae* fertőzések globális prevalenciája 2030-ra eléri az 53%-ot, mely a 2015 évre becsült 23% értéknek több mint kétszerese (26). Ezek alapján várható, hogy a karbapenemekkel szemben természetes rezisztenciával bíró egyéb baktériumok, így a *S. maltophilia* incidenciája is tovább fog emelkedni.

Nem tisztázott, hogy az SXT rezisztens, definíció szerint MDR *S. maltophilia* infekcióknak vannak-e specifikus, az epidemiológiai háttértől független rizikófaktorai. Ellentmondásosak az irodalmi adatok a megelőző SXT terápiáról, mint MDR infekcióra hajlamosító tényezőről. Daganatos betegekben, akiknél az SXT gyakrabban alkalmazott profilaktikus antibiotikum, az összefüggés igazolható, de általános kórházi betegcsoport esetében nem. A megelőző fluorokinolon terápia azonban az MDR *S. maltophilia* fertőzések független rizikófaktorának bizonyult. A megelőző fluorokinolon terápia, illetve rezisztencia és az MDR *S. maltophilia* fertőzések közötti összefüggést klinikai vizsgálat is igazolta (27).

## 1.2. A *S. maltophilia* általános jellemzői, virulenciafaktorai

A *S. maltophilia* ubiquiter, obligát aerob, glükózt nem fermentáló Gram-negatív pálcá. Először 1943-ban került izolálásra, mint *Bacterium bookeri*. Később *Pseudomonas*, majd *Xanthomonas*, végül 1993-ban a *Stenotrophomonas* elnevezést kapta (6, 28). A genus egyetlen humán patogén tagja a *S. maltophilia*. A leíró név a görög stenos (szűk), trophos (táplálkozó), monas (egység), maltum (maltóz) és philia (kedvelő) szavak együtteséből adódik. E „kevés anyaggal táplálkozó, maltózt kedvelő” baktérium ubiquiter, a környezetben igen elterjedt: a talajban, természetes vizekben,

növényeken éppúgy jelen van, mint a kórházi, elsősorban vizes közegekben. Ebből következően klinikai mintákból történő identifikálása esetén a környezeti kontamináció lehetősége mindig felmerül (29).

A methicillin-rezisztens *S. aureus*hoz vagy a karbapenem rezisztens bélbaktériumokhoz hasonlóan a *S. maltophilia*nak is lehetnek állatok a rezervoárjai. Lovakban a *S. maltophilia* krónikus köhögéssel járó alsó légúti fertőzések okozója. Multilokus szekvencia tipizálással (MLST) több olyan *S. maltophilia* genotípust azonosítottak, melyek állati és humán infekciókban vagy kolonizációkban egyaránt előfordultak. Ez alapján feltételezik, hogy az állati és humán gazdaszervezet közötti baktérium csere, illetve a törzsek közötti horizontális géntranszfer lehetséges. Tekintve az állatokból izolált törzsekben felderített magasabb SXT rezisztenciát (18%), az előbbi hipotézis további epidemiológiai vizsgálatokat tesz szükségessé (30).

A baktérium több olyan jellemzővel bír, melyek kórház higiéniés kontrollját nagyban nehezítik. Tápanyag szegény környezetben (például a csapvízben) képes ultramikrosejtként megélni. E létformában 0,2 µl alatti a baktérium nagysága, így átjut a 0,2 µl pórusú filtereken. Emellett több, Gram-negatív baktériumok ellen hatékony dezinficienszt a *P. aeruginosa*hoz képest jobban tolerál, részben magasabb kataláz aktivitása miatt. A *S. maltophilia* csíraszama 3 % hidrogén-peroxiddal hatékonyan csökkenthető. Hatékony biocidnek találták a Na-hipokloridot is, azonban triclosannal és Na-dodecyl-sulfattal szemben ellenálló. A *qacEΔ1* génje a kvaterner ammónium tartalmú antiszeptikumok elleni toleranciáját biztosítja. A baktérium a száraz környezetet nem tűri: egy óra alatt > 3 log mértékben csökken az élő sejtek száma egy csepp szilárd felszínre száradt tenyészetben (2).

Tenyésztésre a hagyományos táptalajok megfelelnek. Klinikai mintákból történő tenyésztése esetén 16-24 óra inkubáció után általában telepeket képez, de a megbízhatóbb izoláláshoz a táptalajok minimum 48 órás inkubálása szükséges. Alsó légúti minták esetén a klinikai diagnózis miatt (pl. tüdő transzplantáltak, súlyos krónikus légúti betegségben szenvedők) legalább hét napra nyújtott tenyésztési idő alatt is kerülnek izolálásra *S. maltophilia* törzsek. Az anaerob hemokultúra palackok táplevese nem kedvez szaporodásának. Ilyen közegben a hemokultúra automatákban gyakran jelzés nélkül marad tenyészete. Ezen álnegatív anaerob hemokultúrák szilárd táptalajra történő kioltásával és aerob tenyésztésével azonban izolálásra kerül. A

vancomycin (5mg/l), imipenem (32 mg/l), amphothericin B (4 mg/l), valamint mannitol és brómtimolkék indikátor tartalmú VIA-táptalaj használata előnyös, ha vegyes bakteriális flórából kell szelektálni a *S. maltophiliát* (31). A szelektív táptalaj alkalmazása kifejezetten hasznos, ha a mintában várhatóan előforduló egyéb mikrobák (például a *P. aeruginosa*) a hagyományos táptalajokon gyorsan túlnövekednének, ezzel elrejtve a ritkábban előforduló kórokozókat, így a *S. maltophiliát*. Cisztás fibrózisban (CF) szenvedő betegek köpet mintáinak vizsgálatából kiderült, hogy a szelektív táptalajt alkalmazva 64 %-kal több *S. maltophilia* került izolálásra, mint a hagyományos táptalajokon. Ennek ellenére a CF betegek mintáinak feldolgozására vonatkozó mikrobiológiai útmutatók nem tesznek ajánlást a *S. maltophilia* specifikus szelektív táptalaj használatára (32).

A baktériumot nagyfokú genetikai és metabolikus diverzitás jellemzi. A hasonló tulajdonságú *Pseudomonas* fajoktól oxidáz negatív (80%-ban), kataláz pozitív tulajdonsága alapján elkülöníthető, a hasonló telepmorfológiájú egyéb glükózt nem fermentáló Gram-negatív pálcáktól való megkülönböztetése azonban összetettebb feladat. E baktérium csoportot általában jellemző relatív metabolikus inaktivitás miatt a hagyományos biokémiai sorok differenciálásukra alkalmatlanok. A laboratóriumok többnyire komplex biokémiai identifikáló paneleken alapuló félautomata vagy automata rendszereket alkalmaztak azonosításukra. A fent említett három alaptulajdonságon kívül a *S. maltophilia* jellemzően lizin dekarboxiláz pozitív, hidrolizálja a zselatint és az eszkuhint és bontja a DNS-t. Képes a citrátot bontani,  $\beta$ -galaktozidát képezni, növekedéséhez szénforrásként a cellobiózt, a fruktózt, a galaktózt és a mannózt felhasználni (33). A laktózt és a szacharózt a törzsek változó mértékben képesek oxidatív módon fermentálni (34). Bár a nagyszámú biokémiai próbát alkalmazó automata identifikáló rendszerek a nem fermentáló pálcák széles spektrumát képesek azonosítani, sokszor szembesült a mikrobiológus azzal, hogy az identifikálási eredmény konfidencia szintje alacsony vagy több lehetséges faj közel azonos konfidencia szinttel került megállapításra, a baktériumok nagyon hasonló biokémiai profilja miatt. Az elmúlt tíz évben a mátrix asszisztált lézer deszorpciós ionizációs, repülési idő mérésén alapuló tömegspektrometriával (MALDI-TOF MS) történő baktériumidentifikálás vált az elődlegesen alkalmazott metodikává. A referencia tömegspektrumok számának gyarapodásával napjainkban már „*in vitro* diagnosztika” minősítésű könyvtárak

használhatók, melyek pontos identifikálásra adnak módot. Ez a glükózt nem fermentáló Gram-negatív baktériumok esetében szignifikáns változást hozott. Az elsősorban a konzervált riboszómális fehérjék tömegspektrometriás mérésén alapuló technika kiküszöbölte a biokémiai alapú azonosítás metabolikus hasonlóságokból adódó bizonytalanságát.

Bár a *S. maltophilia* fertőzések patogenezise nem teljesen ismert, a baktériumnak több virulenciafaktorát azonosították (35). Flagellája a sejtekhez történő adhézióban, a motilitásban, és így az invázióban játszik szerepet (36). A flagellin aminosav szekvenciája nagyfokú hasonlóságot mutat több *Enterobacterales* faj fehérjéjével. A baktérium pilusai, fimbriái és afimbriális adhezinjei segítik az autoaggregációt és adhéziót, ezáltal a kolonizáció kialakítását. A külső membrán lipopoliszacharidnak (LPS) a kolonizációban, a biofilm képzésben és az antibiotikum rezisztenciában egyaránt van szerepe. A bakteriális felszín pozitív töltése miatt egyes antiszeptikumok és dezinficiensok gyenge hatékonyságúak ellene (37). A *S. maltophilia* melaninszerű pigmentje több környezeti stresszfaktor ellen védelmet biztosít és összefüggést mutat néhány antibiotikummal szembeni rezisztenciával (38). A *S. maltophilia* biofilmje az eddig megismert legfontosabb virulencia faktor. Akár az abiotikus felszíneken történő kolonizációt, akár a légúti epithel sejteken történő megtapadást tekintjük, a baktérium biofilm képző képessége meghatározó tényező a patogenezisben. Az antibiotikumok és az szervezet immunválasza elleni védelem, melyet a baktériumnak kölcsönöz, más kórokozók kapcsán is jól ismert jelenség a mikrobiológiában. A flagella, a fimbriák, az afimbriális adhezinek és külső membrán LPS együttes kifejeződése szükséges a baktérium biofilm képzéséhez. Több gén, így az *rmlA*, *rmlC*, *xanB*, *rpfF*, *spgM* vesz részt kódolásában. Más Gram-negatív baktériumokhoz hasonlóan a *S. maltophilia* is termel olyan diffúzibilis szignál molekulákat, melyek a quorum sensing (QS) rendszeren keresztül a sejt-sejt közti kommunikációt szolgálják. A fajon belüli és fajok közötti interakciók mellett a QS molekulák befolyásolják az egyéb virulenciafaktorok (pl. biofilm, motilitás) kifejeződését (39, 40). A QS mellett a „bis-3',5'-ciklikus-diguanozin-monofoszfát (c-di-GMP) – *BsmR* regulátor” rendszer egy másik szabályozó eszköze a baktérium aktivitásának (41). Mindkét rendszerrel interferálnak az sRNS molekulák. A dihidrofolát-reduktáz aktivitás és a bakteriális elektron transzport csökkentésével kis

telepeket képző fenotípus variáns (SCV) formát képes kialakítani. Az SCV fenotípus egyéb CF-re jellemző kórokozóknak, így *S. aureus*nak vagy a *P. aeruginosa*nak is egy sajátos formája. A lassú növekedés és apró telepképzés mellett általános tulajdonsága az ilyen baktériumoknak, hogy antibiotikum érzékenységük a standard módszerekkel nem vizsgálható. Többnyire hosszas antibiotikum expozíció szelektálja az SCV *S. maltophilia*-t, mely gyakran fokozott antibiotikum rezisztenciát mutat (pl. SXT-vel szemben) (42). E lassan növekvő baktérium variánsnak a CF tüdőhöz való adaptációban, a szervezetben történő perzisztálásban, a rekurrens vagy látens fertőzések kialakításában van jelentősége. Több CF patogénnel ellentétben a *S. maltophilia* képtelen denitrifikálásra, így anaerob körülmények között nem szaporodik. Ez magyarázhatja a többi kórokozóhoz képest alacsonyabb patogenitását CF betegekben (43).

Több exoenzim, így a DNáz és RNáz, a StmPr1 szerin proteáz, észteráz, lipáz, foszfolipáz, mucináz, a foszfatáz enzimek, a hialuronidáz, foszfoamidáz, leucin-amilamidáz és  $\beta$ -glukozidáz fontos szereppel bír a *S. maltophilia* patogenitálásában (44).

Az *atpD*, *gapA*, *guaA*, *mutM*, *nuoD*, *ppsA*, és *recA* gének szekvencia analízisének alapuló MLST vizsgálatok igyekeznek virulensebb, specifikus geno- és fenotípussal bíró *S. maltophilia* klónokat azonosítani, melyek szigorúbb preventív epidemiológiai intézkedéseket indikálhatnak. Egyelőre kevés nemzeti vizsgálat történt. Ezek nagyszámú szekvencia típust (ST) igazoltak, melyek közt nincs egy-egy kiemelkedően gyakori típus a vizsgált területeken. Sem a klinikai háttérrel, sem a szerzett antibiotikum rezisztencia tulajdonságokkal nem mutattak összefüggést a szekvencia típusok. Ugyanazon szekvencia típusba teljesen különböző antibiogram mintázatú törzsek tartoznak. Sőt, a környezeti és állati eredetű törzsek a humán klinikai izolátumokkal azonos ST-t mutatnak. A ST5 sikeres nemzetközi klónnak bizonyul, melyet Franciaországban, Ausztriában és Németországban is detektáltak. Amplifikált fragment hossz polimorfizmus vizsgálattal már az 1990 években igazoltak a humán infekciókra jellemző, illetve a légúti fertőzésekre és CF betegekre specifikus genotípusokat. A 2 és 6 genocsoport dominanciáját, főleg légúti fertőzésekben több vizsgálat igazolta. Ezek alapján a genocsoport szerinti szubtipizálás klinikai mikrobiológiai szempontból hasznosabb metodikának tűnik, nem árnyékolva az MLST hatékonyságát epidemiológiai szempontból (45).

### 1.3. A fertőzés klinikai megjelenése

A *S. maltophilia* leggyakrabban légúti fertőzéseket okoz, az általános és az intenzív osztályon kezelt betegpopulációban egyaránt. A második leggyakoribb klinikai megjelenési formája a véráramfertőzés. Ritkábban egyéb formákban is manifesztálódhat: kórokozója lehet sebfertőzésnek, légyszöveti fertőzésnek, cellulitisnek, pyomyositisnek, különböző bőrfertőzéseknek, csont és ízületi fertőzésnek. Peritonitist, meningitist, endocarditist, mastoiditist okozó *S. maltophilia* esetekről is beszámol az irodalom. Szemészeti (főként kontaktlencse asszociált) fertőzések és húgyúti infekciók szintén ismertek (33, 46, 47).

#### 1.3.1. A *S. maltophilia* véráram fertőzés

A nozokomiális véráram fertőzések kb. 1%-át okozza *S. maltophilia*. Az intenzív osztályon szerzett véráram fertőzéseket tekintve a European Centre for Disease Prevention and Control (ECDC) 2014 évi adatai szerint a *S. maltophilia* nem szerepel a tíz leggyakoribb kórokozó közt (prevalenciája <2,5%). Egy vizsgálat a daganatos beteg véráram fertőzéseiben a *S. maltophilia* arányát 9,4%-nak találta (48). A *S. maltophilia* bacteraemia forrása lehet a kolonizált gasztrointesztinális rendszer vagy nyálkahártya (neutropeniás betegekben súlyos mucositis esetén), de az esetek több mint 40%-ában az intravascularis kanülök jelentik a fertőzés eredőjét (49-51). Kanül eredetű fertőzés esetében gyakoribb a fertőzés polimikróbás megjelenése. A beteg bármilyen mintájából 30 napon belül izolált *S. maltophilia* a véráramfertőzés független rizikófaktora (52).

Gyakran áll fenn malignus hematológiai betegség, neutropeniás állapot vagy szolid tumor a véráramfertözötteknél. A daganatokhoz társuló mechanikus, strukturális elváltozások (máj metasztázisok, epeúti obstrukció, húgyúti szűkületek) nemcsak a *S. maltophilia* véráramfertőzés rizikóját növelik, hanem a kapcsolódó mortalitás magasabb értékével is járnak. A hosszas intenzív osztályos kezelés, a centrális vénás kanül alkalmazás, a gépi lélegeztetés és a korábbi széles spektrumú antibiotikum kezelés szintén gyakori jellemző a *S. maltophilia* véráram fertőzött betegeknél. A karbapenem, ceftazidim és cefepim terápia a fertőzés előtti 14 napban a *S. maltophilia* bacteraemia független rizikófaktorának bizonyult (52). Kiemelkedően magas kockázatú csoportot képeznek az allogén hemopoetikus őssejt transzplantált betegek. A fertőzés incidenciája

körükben magasabb, mint az autológ csontvelő transzplantált betegeknél. A fenti rizikófaktorok mellett e betegeknél a húgyúti katéter, a graft-versus-host betegség, a hasmenés és a súlyos mucositis is predisponál *S. maltophilia* véráram fertőzésre.

A véráramfertőzés mortalitása általában magasabb (21-69%), mint az egyéb *S. maltophilia* fertőzéseké. Összevetve a *P. aeruginosa* és *A. baumannii* véráramfertőzésekkel, a *S. maltophilia* bacteraemia 30 napon belüli mortalitása magasabb, feltehetően az inadekvát empirikus terápia magasabb aránya miatt (52). A halálózással összefüggő rizikófaktor a thrombocytopenia, a neutropenia, a sokk, az *Enterococcus* fajjal kevert fertőzés, az intenzív osztályos kezelés, a gépi lélegeztetés. A centrális vénás kanül alkalmazással kapcsolatban ellentmondásos adatok olvashatók: egyes vizsgálatok a halálózással összefüggő rizikófaktoroként azonosították, míg mások alacsonyabb mortalitási rátát találtak a kanült viselő betegek körében (53). Közösségben szerzett *S. maltophilia* véráramfertőzések estén a máj cirrhosist és a máj metasztázisokat azonosították a halálózás független rizikófaktoraként, hematológiai betegek esetében a neutropeniát és az *Enterococcus* fajjal kevert fertőzést (19). Az allogén hemopoetikus őssejt transzplantált betegeknél a magas C-reaktív protein (CRP) szint (>100 mg/l) és az alacsony albumin szint (<30 g/l) szignifikáns összefüggést mutatott a 90. napon mért teljes halálózással. A fenti laboratóriumi értékekkel bíró betegeknél a véráramfertőzéshez minden esetben pneumonia is társult. A két laboratóriumi paraméter együttese a *S. maltophilia* véráramfertőzés megfelelő prediktív értékű prognosztikai markerének bizonyult (54). Prognosztikai markernek bizonyult a „sequential organ failure assessment” pontérték is (52). A mortalitás a kanülok mielőbbi eltávolításával és az adekvát antibiotikum terápiával jelentősen csökkenthető (55).

Egy eset-kontroll vizsgálat a karbapenem terápia melletti áttöréssel Gram-negatív véráramfertőzések leggyakoribb kórokozójának a *S. maltophiliát* találta. A karbapenem kezelést megelőző hosszas kórházi tartózkodás, a hematológiai malignus betegségek, az elhúzódó neutropenia és a *S. maltophiliával* való előzetes, főleg légúti kolonizáció mind az áttöréssel véráramfertőzés független rizikófaktorainak bizonyultak (56).



### 1.3.2. A *S. maltophilia* pneumonia

*S. maltophilia* pneumonia prevalenciája 4,4-6,3 %. Leggyakrabban lélegeztetett betegekben lép fel. Egy nemzetközi vizsgálat szerint 2009-2012 között a nozokomiális pneumoniák hatodik leggyakoribb kórokozója volt az Egyesült Államokban és a kilencedik leggyakoribb Európában (57). Az ECDC 2014 évi adatai szerint az intenzív osztályon szerzett nozokomiális pneumoniák 4,9%-át okozta *S. maltophilia*. Malignus hematológiai betegekben a pneumonia rapidan progresszív, akár fatális haemorrhagiás formában jelenhet meg (58, 59). Egy klinikai mintákból izolált *S. maltophilia* kolonizáló vagy kórokozó szerepének megítélése különösen légúti minták esetében jelent problémát. A baktérium csíraszama, ill. az alsó légúti mintából készített kenet mikroszkópos értékelése (a fehérvérsejtek laphámsejtekhez vagy bronchus hámsejtekhez viszonyított aránya) vezeti a mikrobiológust, hogy a kolonizáló vs. infekciót okozó patogén kérdésében állást foglaljon, de ennek eldöntése klinikai, semmint labordiagnosztikai feladat. Az alsó légúti minták kvantitatív tenyésztésével meghatározott  $10^4$  telepképző egység (CFU)/ml az általánosan elfogadott vágóérték, mely differenciál az infekció és kolonizáció között. Megjegyzendő, hogy nincs bizonyíték arra, hogy a kvantitatív tenyésztés eredménye a kvalitatív tenyésztéshez képest befolyásolná az intenzív osztályon töltött időt, a lélegeztetés időtartamát, az antibiotikum terápiát vagy a mortalitást. A rendszeres időközönként végzett mintavételnek és tenyésztésnek viszont kulcsszerepe van a VAP megítélésében és kezelésében. Egy újonnan megjelenő tüdő infiltrátum, a romló oxigenizáció, láz és leukocytosis mellett valószínű az izolátum kóroki szerepe. Klinikai tünetek és vonatkozó radiológiai eltérés hiányában viszont kolonizálónak tekintendő, az antibiotikum terápia mellőzendő (60). A Semmelweis Egyetem Laboratóriumi Medicina Intézetében négy év (2013–2016) alatt feldogozott alsó légúti minták tenyésztési és identifikálási eredményeinek retrospektív elemzéséből kiderült, hogy a *S. maltophilia* az alsó légúti fertőzésekben a második leggyakrabban azonosított baktérium a nem fermentáló pálcák csoportjából (1. táblázat).

Polimikróbás kolonizációk az alsó légutakban gyakrabban fordulnak elő intenzív osztályon kezelt, gépi lélegeztetett betegek és gyakori kórházi kezelésre szoruló, krónikus légúti betegek körében. A polimikróbás kolonizáció polimikróbás fertőzéssé

alakulhat, azonban annak eldöntése, hogy az infekció valóban multimikróbás eredetű-e vagy csak a mikrobiális konzorcium egyetlen tagja okozza, igen nehéz.

1. táblázat: Különböző betegek alsó légúti mintáiból izolált nem fermentáló Gram-negatív pálcák száma és eloszlása 2013-2016 években

Izolátumok	Év				Összesen
	2013	2014	2015	2016	
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	337	409	473	361	1580
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	178	243	244	193	858
<i>Acinetobacter baumannii</i>	95	119	84	111	409
<b>egyéb nem fermentáló Gram-negatív pálca</b>	117	166	255	204	<b>742</b>

Az alsó légúti mintákban a *S. maltophilia* mellett előforduló egyéb nozokomiális baktériumok köréből a *P. aeruginosa* és az *A. baumannii* kiemelkedő, mind gyakoriságuk, mind multirezisztens jellegük miatt. A *P. aeruginosa* és *S. maltophilia* okozta ko-infekció esetén a pneumonia rosszabb prognózissal bír, mintha csak az egyik oportunista patogén állna kórkép mögött. A magasabb letalitás, illetve a hosszabb kórházi kezelés a két baktérium szinergén vagy additív hatásával magyarázható, mely érinti a biofilm képzésüket és az antibiotikum rezisztencia mértékét.

A CF betegek gyermekkorukban (0-10 év) fertőződnek legnagyobb valószínűséggel *S. maltophiliával* (61, 62). Felnőttkorban az életkor előrehaladtával újra növekszik a multirezisztens patogénnel való fertőződés rizikója (63). Két kohort vizsgálat eredményei szerint a *S. maltophilia* fertőzött CF betegek átlagos életkora 18,9, illetve 22,2 év. Nőbetegekben gyakoribb előfordulása (32). Az intravénás *P. aeruginosa* ellenes kezelése elősegíti a légúti *S. maltophilia* kolonizációt. A *S. maltophilia* a betegek 4-30%-ának légúti mintájában kimutatható (64, 65). A légúti mintákból izolált *S. maltophilia* klinikai szignifikanciája CF betegek esetén vitatott. Több vizsgálat eredménye ugyanakkor azt mutatja, hogy a bronchusokban biofilm formában perzisztáló baktérium okozta krónikus infekció növeli az akut exacerbatiók és a halálozás rizikóját.

A baktériumnak krónikus fertőzésben folyamatosan adaptálódnia kell a stressz-környezetet jelentő CF tüdőhöz. Az adaptáció következménye a CF betegektől évek alatt, rendszeres időközönként izolált törzseknél mutatkozó nagyfokú genetikai és fenotípusos heterogenitás. A genetikai eltérések a fenotípusos megjelenéssel alig mutatnak korrelációt, feltehetően a *S. maltophilia* komplex szabályozó rendszerei miatt

(66). Egy CF beteg eltávolított tüdejéből, annak különböző részeiből izolált baktériumok genomszekvenciáit elemezve igazolták, hogy különböző fejlődési ágba tartozó baktériumok vannak a CF tüdőben. A különbségek ellenére az adaptív mutáció nyomait a globális szelekciós nyomás miatt egységesen hordozzák. Egy gén (a nehézfém rezisztenciában szerepet játszó *merC* homológ) két fejlődési vonalban egymástól függetlenül megjelent eltéréseket mutatott. Ez arra mutat, hogy valamilyen, a szűk lokalizációhoz szorosan kötött szelekciós hatás mégis érvényesül (67).

A CF betegek 10-60 %-ban *S. maltophilia* és *P. aeruginosa* együtt kerül izolálásra. Egy fennálló *P. aeruginosa* fertőzés növeli a *S. maltophilia* kolonizáció valószínűségét. A két baktérium *in vitro* megfigyelt kölcsönhatásának pontos klinikai következményei még nem ismertek. A *S. maltophilia* több módon befolyásolja a kóltúrában lévő *P. aeruginosa* virulenciáját, a krónikus fertőzésben fontos előnyöket kialakítva benne. Indukálja a *P. aeruginosa* flagellum vesztését, ezzel csökkenti motilitását. Ennek ellenére a *P. aeruginosa* sejtekhez való kitapadására nincs hatással. Stimulálja a *P. aeruginosa* alginát és alkalikus proteáz termelését. Utóbbi szerepe a *P. aeruginosa* patogenezisében CF-ben igazolt. Ez alapján a *S. maltophilia* megtelepedése a CF tüdőben *P. aeruginosa* indukált akut exacerbatiohoz vezethet. A *S. maltophilia* hatására bizonyos QS regulátorok (például a LasR) képződése visszaszorul a *P. aeruginosa*-ban. Ez és a fokozott alginát képzés egyaránt a krónikus, perzisztáló fenotípusú baktérium kialakulását segíti. A mukoid fenotípusú *P. aeruginosa* megjelenése pedig rosszabb klinikai prognózissal jár. A LasR vesztés fokozott  $\beta$ -laktamáz termeléshez vezet, így a *S. maltophilia* egyben indukálja a ceftazidim rezisztens *P. aeruginosa* kialakulását is (68).

Randomizált kontrolált vizsgálatok hiányában nem tisztázott, hogy a baktérium elleni antibiotikum terápianak – akár akut exacerbatio miatt alkalmazzák, akár krónikus fertőzésben szuppresszív kezelésként – lenne a betegség klinikai kimenetelére (FEV1 változása vagy a következő exacerbatioig eltelt idő) vagy mikrobiológiai kimenetelére (a baktérium csíraszám a köpetben) valamilyen hatása, hasonlóan a *P. aeruginosa* elleni kezeléshez. Egy retrospektív kohort vizsgálat szerint a krónikus *S. maltophilia* fertőzöttség független rizikófaktora a kórházi ellátást és antibiotikum kezelést igénylő exacerbatióknak (69). Intermittáló *S. maltophilia* fertőzés esetében ez az összefüggés nem állt fenn. Krónikus *S. maltophilia* fertőzöttekben a FEV1 fokozottabb romlását

mutatták ki (70). Egy újabb, gyerekkori *S. maltophilia* fertőzéseket vizsgáló esetkontroll tanulmány szintén azt bizonyította, hogy a baktérium a tüdőbetegség súlyosságának egy markere: a fertőzött gyerekeket gyakoribb exacerbatio és hospitalizáció és több intravénás antibiotikum kezelés jellemezte (71). Más tanulmányok szerint a baktérium sem a tüdőfunkció romlásával, sem az élettartam csökkenésével nem mutat szignifikáns összefüggést (72). A magasabb vér glükóz szint elősegítheti a légutak bakteriális kolonizációját. Egy a CF betegek glükóz toleranciája és légúti kórokozói közti összefüggést vizsgáló tanulmány a *S. maltophiliat* találta az egyetlen kórokozónak, mely szignifikáns korrelációt mutatott a csökkent glükóz toleranciával és diabétessel (73). Egyre több CF beteg esik át tüdőtranszplantáción. A *S. maltophiliával* kolonizált vagy krónikusan fertőzött betegek kapcsán felmerült, hogy a baktérium a *B. cenocepacia*hoz hasonlóan rontja a transzplantációt követő túlélést. Ezt a hipotézist egy retrospektív vizsgálat cáfolta; a *S. maltophilia* fertőzöttség jelenleg nem jelent transzplantációs kontraindikációt (74).

#### 1.4. Az antibiotikum rezisztencia háttere

Az első *S. maltophilia* teljes genom szekvenciát 2008-ban írták le, amely a K279a vad típusú törzs 4,85 Mb nagyságú és 66% G+C tartalmú genomja volt (75). Azóta több, mind klinikai, mind környezeti törzs teljes genom szekvenciája ismertté vált. A törzsek jelentős genetikai heterogenitást mutatnak (76, 77). A szekvencia elemzések a természetes és szerzett antibiotikum rezisztencia pontos genetikai hátterét nagyrészt azonosították. A legtöbb rezisztencia gén elsődleges funkciója valószínűleg nem a gyógyszerek elleni védelem kialakítása, sokkal inkább a környezeti feltételekhez való adaptáció (például növényeken történő kolonizáció) kialakítása volt.

Mint minden Gram-negatív baktérium esetében, a külső membrán hatékony védelmet nyújt több antibiotikummal szemben. A külső membrán permeabilitásának vagy az LPS szerkezetének módosulásával a *S. maltophilianak* is változhat az antibiotikumok iránti érzékenysége (78). Az 30°C hőmérsékleten tenyésztett törzsek aminoglikozid rezisztenciája például magasabb a 37°C-on tenyésztettekhez képest, épp a külső membrán és az LPS módosulása miatt (79). A foszfoglukomutáz kódoló *spgM* inaktivációja rövidebb O-poliszacharid láncokat eredményez, ami kis mértékben csökkenti a baktérium több antibiotikummal (polymyxinek, gentamicin) szembeni

ellenállását (80). A kétkomponensű PhoPQ szabályozó rendszer a *S. maltophilia*ban is működik és hozzájárul a kationos polipeptidekkel szembeni rezisztenciához (81). A foszfoetanolamin transzferázt kódoló mobil colistin rezisztencia (*mcr*) gént *Stenotrophomonas* fajokban eddig még nem írták le. A plazmidon terjedő *mcr* rezisztencia gén elméletileg bejuthat e baktériumba is, de számára előnyt nem nyújtana.

A *S. maltophilia* természetes rezisztomjának számos olyan gén része, melyek antibiotikum inaktiváló enzimet, target módosító vagy védő fehérjét kódolnak. Ilyen inaktiváló enzim az Ambler B (Bush 3b) osztályú L1 - és az Ambler A (Bush 2e) osztályú L2  $\beta$ -laktamáz. Az L1 enzim egy  $Zn^{2+}$ -dependens MBL, mely az aztreonam kivételével hidrolizálni képes a  $\beta$ -laktám antibiotikumokat. Széles szubsztrát profiljából kiemelkedik karbapenem-bontó aktivitása (82). A használatban lévő  $\beta$ -laktamáz inhibitorok, mint a klavulánsav, sulbactam vagy tazobactam nem képesek gátolni aktivitását. Egyéb vegyületek, például a merkaptocetsav tiol észter származékai, a galangin flavonoid vagy a Cys-Val-His-Ser-Pro-Asn-Arg-Glu-Cys szekvenciájú peptid L1-gátló hatását bizonyították (83-85). Az L2 enzim egy szerin aktív csoportú cephalosporináz (86). Az L1 enzimmel ellentétben a klavulánsav és kis mértékben a többi  $\beta$ -laktamáz inhibitor is gátolja aktivitását. Mindkét enzim konstitutívan és indukáltan is termelődik (87). A cefoxitin és az imipenem erős induktori az enzimeknek (88). A kromozómális *blaL1* és *blaL2* géneket plazmidon hordozó *S. maltophilia* törzset is leírtak (86). Mindkét enzim expresszióját az *ampR* szabályozza. Antibiotikum jelenlétében az AmpR az L2 gént aktiválja, hiányában arra gyenge represszorként hat. Az L1 gén konstitutív és indukált expressziójához egyaránt szükséges az AmpR (89). Egyéb, a baktérium komplex szabályozó rendszeréhez tartozó gének (*ampN-ampG*, *ampD1*, *mcrA*) ugyancsak befolyásolják a két  $\beta$ -laktamáz termelődését (90). Az *blaL1* és *blaL2* mellett az eddig vizsgált *S. maltophilia* törzsek teljes genom szekvenciáiban más  $\beta$ -laktamáz géneket nem találtak, de egy-egy izolátumban *blaTEM-2*, *blaCTX-M* és *blaNDM-1* géneket külön-külön azonosítottak (91-94).

A természetes aminoglikozid rezisztenciáért részben módosító enzimek: aminoglikozid-foszfotranszferázok, -acetiltranszferázok és -nukleotidiltranszferázok felelnek. A makrolidokat egy foszfotranszferáz, a kloramfenikolt pedig egy acetiltranszferáz által inaktiválja a baktérium. A *S. maltophilia* az eddig ismert egyetlen

olyan baktérium, amelyben a fluorokinolon rezisztencia nem kapcsolódik a topoizomeráz gének mutációjához. A kromoszomális *Smqnr* által kódolt SmQnr fehérje a *S. maltophilia* alacsony fokú természetes fluorokinolon rezisztenciájának meghatározója (95). Számos *Smqnr* variánst írtak le, melyekről egységesen bizonyított, hogy a transzformált *Escherichia coli* törzsek kinolon érzékenységét csökkentik (96). Fokozott expressziója azonban a *S. maltophilia* szerzett kinolon rezisztenciájában irreleváns (97).

Az SXT rezisztencia hátterében többnyire a class 1 integronon hordozott *sul1* és az inzerciós szekvenciákat tartalmazó régióban kódolt *sul2* gén áll (6, 98). A *sul3* variánst is detektálták már SXT-rezisztens környezeti izolátumban (99). A *sul* gének olyan dihidropteroát szintáz variánsokat kódolnak, melyeket a szulfonamid nem képes gátolni. A *dfrA* és *dhfr* a trimethoprim rezisztenciát eredményező dihidrofolát reduktázt kódolja. A *sul1* a *sul2* és *dfrA* génekkel együtt magas fokú SXT rezisztenciát eredményez. A SXT felhasználás növekedése a többnyire plazmidon kódolt, class I integronon lévő *sul1* mobilizálódásához, ezáltal az SXT-rezisztens törzsek prevalenciájának emelkedéséhez vezethet. A *sul2* gyakran transzpozáz génekhez kapcsolódik. Ez szintén a horizontális géntranszfer egyik lehetősége (100). Az antibiotikum rezisztencia jellemzőinek folyamatosan monitorozása ezért is szükségzerű. Egyre több törzset találnak e géneket hordozó rezisztencia szigetekkel, illetve integron tartalmú génkazettákkal. A class 1 integronon kódolt *sul* gének, bár többnyire plazmidon helyezkednek le, lehetnek a kromoszómában is. Egy kb. 40kb nagyságú, integráz szekvenciákat is tartalmazó rezisztencia gén szigetet letek fel egy sertésből izolált, MDR *S. maltophilia* genomjában, mely a *tetR-tetA(A)*, *strA/strB*, *sul1*, *aadA2* és *floR* géneket egyaránt hordozta (101). Izolálásra kerültek olyan SXT-rezisztens *S. maltophilia* törzsek, melyek *sul* gént nem hordoztak.

A természetes rezisztom része több multidrog rezisztenciáért felelős efflux pumpa. Ezek a „resistance nodulation cell division” (RND), a „major facilitator superfamily” (MFS) és az ATP-kötő kazettájú (ABC) efflux pumpák fehérjecsaldájaiba tartoznak (102). Általában a kódoló gének alacsony szinten expresszálódnak, túltermelésük magas fokú rezisztenciát eredményez. Az RND típusú SmeABC, SmeDEF, SmeGH, SmeIJK, SmeMN, SmeOP, SmeVWX, SmeYZ efflux pumpák azonos operonon kódoltak. Több antibiotikummal szembeni természetes rezisztencia

mellett számos szerzett rezisztenciában is meghatározó a szerepük. A baktérium fluorokinolon rezisztenciája a SmeDEF expressziójával szignifikánsan korrelál. A planktonikus formából a szesszilisbe történő változás az *smeD* regulátor gén (ezen keresztül az SmeDEF) fokozott expresszióját indukálja (43). Részben ez magyarázza a *S. maltophilia* biofilmek fokozott fluorokinolon rezisztenciáját. Emellett a baktérium oxidatív stressz elleni védelmét szolgálják (103). A TolC porin az SmeOP efflux pumpához kapcsolódik (104). Az SmeT és SmeRV regulátorok szerzett mutációja a SmeDEF és SmeVWX túltermeléséhez vezet (97, 105, 106). Az ABC típusú transzporterek közül a FuaABC-t, az SmrA-t és az MacABC-t azonosították *S. maltophiliában* (107-109). Utóbbi – az SmeYZ pumpához hasonlóan – a baktérium környezeti adaptációjához, az oxidatív stressz túréséhez és biofilm képzéséhez is hozzájárul (109). Az MFS típusú fehérjék csoportjába tartozik az MfsA, EmrCAB és TcrA efflux pumpa (110, 111).

Több efflux pumpa, így az SmeDEF, SmeYZ, a TolC-n keresztül az SmeOP és az SmeVWX befolyásolja a *S. maltophilia* SXT érzékenységet. Utóbbi túlzott expressziója az indukált mutáción alapuló SXT rezisztencia fő meghatározója. Kinolon szelektív nyomásra az SmeDEF fokozott expressziója jelenik meg és alakít ki rezisztenciát, amihez az SmeVWX alig járul hozzá. Ezzel ellentétben SXT szelektív nyomásra (alacsony SXT koncentráció mellett) az SmeVWX fokozott expressziója jelenik meg, míg az SmeDEF-é kevésbé kifejezett. A szerzett rezisztencia gyakran hatással van a baktérium életképességére. A fenti két efflux pumpa mutációinak ismert fitness cost hatása van. A fokozott SmeDEF expresszió a baktérium növekedésének lassulásával, virulenciájának csökkenésével jár (112). Az SmeVWX túlexpresszióból adódó mutációs SXT rezisztencia szintén csökkenti a baktérium növekedését (113). A szérum-indukált efflux pumpa által kiváltott adaptív antibiotikum rezisztencia az *A. baumannii* esetében ismert jelenség. Bár *S. maltophiliával* végzett kutatási eredmények egyelőre nem olvashatók, a hasonló efflux pumpák (például a Tet) miatt feltételezhető a jelenség fennállása. A szérum-indukált efflux pumpa rezisztencia főleg ciprofloxacinnal és tetracyclinek esetében okozhatja a terápia kudarcát. Előbbit *P. aeruginosa* esetében már igazolták (114).

Az egyes antibiotikum csoportokra vonatkozó rezisztencia mechanizmusokat az 2. táblázat foglalja össze.

2. táblázat: A *S. maltophilia* antibiotikum rezisztencia mechanizmusai (75)

Antibiotikum	Inaktiváló enzimek	Egyéb rezisztencia mechanizmusok
$\beta$ -laktámok	L1- és L2- $\beta$ -laktamázok, TEM-2, CTX-M, NDM-1 - $\beta$ -laktamázok	SmeABC - és SmeDEF efflux pumpa alacsony külső membrán permeabilitás
Aminoglikozidok	AAC(6')-Iam -, AAC(6')-Iak -, AAC(6')-Iz -, AAC(2') - N-acetiltransferázok ANT(3'') O-nukleotidiltranszferáz APH(3')-IIc -, StrE/StrB - O-foszfotranszferázok	MacABC -, SmeOP-TolC -, és SmeYZ efflux pumpák módosult LPS
Makrolidok	makrolid-foszfotranszferáz	SmeABC -, SmeDEF -, SmeOP-TolC -, MacABC -, MfsA efflux pumpák
Fluorokinolonok		Qnr proteinek SmeABC -, SmeDEF, SmeIJK -, SmeVWX -, SmrA -, MfsA - efflux pumpák
Kloramfenikol	kloramfenikol-acetiltransferáz	SmeDEF -, SmeVWX-, FloR- , MfsA efflux pumpák
Sulfamethoxazol- Trimethoprim		dihidropteroát szintáz ( <i>sul 1, sul 2</i> ) dihidrofolát reduktáz ( <i>dhfr, dfr A</i> ) SmeDEF -, SmeVWX - és SmeYZ efflux pumpák
Tetracyclinek		SmeABC -, SmeDEF -, SmeIJK -, SmeOP-TolC -, SmeVWX -, SmrA -, MfsA -, TetA -, TcrA efflux pumpák
Tigecyclin		SmeABC - és SmeDEF efflux pumpa
Polymyxinek		módosult LPS, MacABC efflux pumpa

Poszt-transzkripció szabályozás és poszt-transzlációs módosulások – több sRNS és Hfq fehérje közreműködésével – befolyásolhatják az antibiotikum rezisztencia fenotípusos megjelenését (115).

Azon alacsony antibiotikum érzékenységű baktériumok, melyek egy érzékeny törzsből alakultak ki és az eredeti törzssel genetikailag megegyeznek, gyakran válnak perzisztenssé. A perzisztens *S. maltophilia* előfordulása a krónikus fertőzésekben növekszik. A létforma pontos mechanizmusa e fajban még nem ismert (2).



### 1.5. Az antibiotikum rezisztencia epidemiológiája

A SXT rezisztencia ráta globálisan 2-10%. A nagy nemzetközi SENTRY tanulmányok surveillance adatai szerint 1997-2011 között minden régióban 90% felett volt a *S. maltophilia* SXT érzékenysége. Egyes regionális vizsgálatok azonban ennél lényegesen magasabb rezisztenciát írtak le: Törökországban 15%-, Spanyolországban 25%-, Indiában 23%-, Taiwanon 25%-, Kínában 30-46%-os SXT rezisztenciával kell számolni (6, 116-119). A CF beteg mintáiban az SXT-rezisztens *S. maltophilia* előfordulása gyakoribb (24-84%) (2, 5, 120, 121). Malignus daganatos vagy intenzív terápiás ellátásra szoruló betegek esetében szintén magasabb lehet a rezisztencia mértéke (6).

A *S. maltophilia* ceftazidim rezisztenciája átlagosan 30% felett van. Az érzékeny törzsek aránya az 1997-1999 között mért 47-75%-ról 2003-2008-ra 32-51%-ra csökkent. A ticarcillin-klavulánsav esetén a fenti időszakokban hasonló érzékenység csökkenést figyeltek meg, 71-90%-ról 27-46%-ra (122-124). Az egyéb  $\beta$ -laktám csoportú antibiotikumok esetében a baktérium természetes rezisztenciája mutatkozik az epidemiológiai adatokban: imipenemre 97-100%-ban, meropenem 88-100%-ban, ceftriaxonra 92-96%-ban rezisztensnek bizonyultak a vizsgált törzsek. A cefepimre érzékenység 30% alatti, a cefotaximé 10% alatti. Az aminoglikozidok esetében ugyanez igaz: a *S. maltophilia* törzsek amikacin, tobramycin és gentamicin érzékenysége nem haladja meg a 30%-ot (6).

A fluorokinolonok túlzott használata világszerte a rezisztencia emelkedéséhez vezetett több kórokozóban (125). A ciprofloxacin többnyire gyenge hatékonyságú *S. maltophilia* ellen, átlagosan 50% feletti a rezisztencia aránya. Egyes vizsgálatok 95%-os rezisztenciát állapítottak meg. A SENTRY vizsgálatok szerint a levofloxacin érzékenység 86%-ról 77%-ra csökkent 2001-2004 és 2011 között. A moxifloxacin érzékenység felmérésére kevesebb vizsgálat tört ki. Ezek 85% körüli érzékenységet állapították meg. Egyéb fluorokinolok (gatifloxacin, norfloxacin, ofloxacin) esetében nagyban eltérő, 5-56% rezisztencia arányokat találtak az egyes vizsgálatok.

A SENTRY vizsgálat 2011-ben 76-80%-os tigeicyclin érzékenységet talált. Ez a 2016-ban végezett felmérés szerint az észak-amerikai és európai törzsek között nem változott (126, 127). A minocyclin rezisztencia aránya 5% alatti, a doxycycliné is 10% körüli. A kloramfenikol esetében 35-39% rezisztenciáról számoltak be (6).

## 1.6. Antibiotikum terápia

Empirikus és célzott terápiaként is az SXT javasolt. Napi dózisa *S. maltophilia* fertőzésben 15 mg (trimethoprim)/kg intravénás formában, 3-4 adagra osztva. Véráram fertőzésben 14 nap, pneumonia esetén 7 nap az SXT kezelés javasolt időtartama. Immunkompromittált betegeknél gyakran hosszabb ideig (10-14 nap) alkalmazzák. Az SXT bakteriosztatikus hatása miatt szükséges nagy dózisu terápia egyik korlátja a csontvelőre való szupressziós mellékhatása. Ez mieloszupresszív kemoterápia alatt álló hematológiai betegek esetében kizárhatja alkalmazását. Ritkán, de előfordulhat hepatotoxicitás, tubuláris károsodás, bőrtünetek (pl. Stevens-Johnson szindróma) és központi idegrendszeri zavar az SXT terápia mellékhatásaként. Súlyos betegeknél az SXT empirikus terápia kiegészítése javasolt egyéb antibiotikummal (pl. levofloxaccinnal vagy ceftazidimmal) (60). Az SXT előnye, hogy bakteriosztatikus hatása a *S. maltophiliára*, az idő-ölés vizsgálatok (TKA) tanulsága szerint, terápiás szérumszint mellett az inkubálás 24. órájában is megtartott (128).

A ticarcillin-klavulánsav az amerikai ajánlásban szerepelt a vizsgálandó antibiotikumok sorában. Gyártását 2014-ben megszüntették. A forgalmazott egyéb  $\beta$ -laktám/ $\beta$ -laktamáz gátló kombinációk (ampicillin-sulbactam, amoxicillin-klavulánsav, piperacillin-tazobactam) közül egyik sem mutat megfelelő aktivitást a baktériummal szemben (129).

A másodvonalbeli szerek a fluorokinolonok. *In vitro* érzékenység esetében a monoterápiában alkalmazott fluorokinolonok hatékonysága az SXT hatékonyságával szinte megegyező, akár a klinikai sikert, akár a negatív mikrobiológiai leletet, akár a mortalitást alkalmazva végpontként. A levofloxacin terápia több vizsgálat alapján ugyanolyan hatékonynak tűnik *S. maltophilia* pneumoniában, mint az SXT (130). A levofloxacin monoterápia hatékonysága *S. maltophilia* véráramfertőzésben is az SXT-vel megegyező, a 30 napos halálozási rátát és a mellékhatásokat figyelembe véve (131, 132). A fluorokinolon monoterápia során gyorsan megjelenő rezisztenciával azonban számolni kell.

A legtöbb krónikus fertőzés esetében a kialakult biofilm megbontása és redukálása a hatékony terápiának nélkülözhetetlen eleme. Az antibiotikumok biofilm állapotú baktériumokon mért minimális inhibitoros koncentráció (MIC) értékek a planktonikus állapotban meghatározott MIC értékek sokszorosai. A biofilm

antibiotikum érzékenységének eredménye a klinikai válasszal jobban korrelál, mint a planktonikus baktériumok rutinszerűen meghatározott érzékenysége. A biofilm fázisú klinikai izolátumok antibiotikum érzékenységének meghatározása ezért a krónikus infekciók hatékony kezeléséhez nagyban hozzájárulhat. Ennek vizsgálata adott esetben reális elvárás lehet a klinikai mikrobiológiai laboratóriumoktól, még ha az interpretáció – a hiányzó ajánlások miatt – egyelőre kérdéses is. Az általános megfigyelés, miszerint a fluorokinolonok már szubinhibitoros koncentrációban képesek gátolnia baktériumok adhézióját, *S. maltophilia* esetében nem teljesen állja meg a helyét. Bár valóban gátolják a baktérium biofilm képzését, hatásuk erősen dóziszfüggő: magas koncentrációban (500 µg/ml) jelentősen gátló hatással bírnak a *S. maltophilia* biofilm képzésére, alacsonyabb koncentrációban (50 µg/ml) ez a hatás szignifikánsan csökken. A biofilm képzés dinamikájának ismerete lényeges az *in vitro* eredmények értelmezéséhez. A *S. maltophilia* 4-6 óra inkubálás után kezd kitapadni a felszínre, a biofilm képzés exponenciális fázisa az inkubálás 10-16. órájára tehető és az érett biofilm struktúrája 18-24 óra után alakul ki. A fluorokinolonok biofilm gátló hatása az éretlen biofilmek esetében figyelhető meg, a 18 óra inkubálás alatt kifejlődött érett biofilmek esetében már kevésbé. Ez a biofilmek idővel változó permeabilitásával és a baktériumok növekedéséből, a QS rendszerből és egyéb mechanizmusokból adódó heterogenitásukkal magyarázható. A moxifloxacin biofilm gátló hatása a ciprofloxacinhoz és levofloxacinhoz képest *S. maltophilia* esetében lényegesen jobb. Meglepő módon a moxifloxacin alacsonyabb koncentrációban (10 µg/ml, 50 µg/ml) hatékonyabbnak bizonyul a kifejlődött *S. maltophilia* biofilm ellen, mint 100 µg/ml koncentrációban. Ennek magyarázata egyelőre tisztázatlan, de tekintve, hogy az antibiotikum általában alkalmazott 400 mg/nap dóziséval az alveoláris réteg folyadékban elérhető koncentráció 10 µg/ml, fontos megfigyelés. Ezen ismeretek csak erősítik az evidenciát, miszerint a kórokozó mielőbbi azonosítása és a kezelés korai megkezdése a biofilm képzés megelőzésének kulcsa (133).

A legtöbb vizsgálat, mely a fluorokinolonok *S. maltophilia* biofilm elleni hatását tesztelte, „standard” *in vitro* körülményeket (aerob atmoszféra, közel neutrális pH) alkalmazott, figyelmen kívül hagyva, hogy a krónikus légúti fertőzésekben, főként CF-ben kialakuló patológiás környezetnek (hipoxiás, anaerob nyákréteg, savasabb pH) hatása van az antibiotikumok aktivitására. A CF betegek köpetének lipid, fehérje,

aminosav, DNS és ion koncentrációja lényegesen eltér az alapbetegségben nem szenvedők köpet összetételétől. Előállítottak egy olyan táptalajt, mely mintegy mesterséges köpet jobban reprezentálja az *in vivo* kondíciókat, így a krónikus légúti patogének vizsgálatára alkalmasabb modellt képez. Az így módosított, CF-re jellemző körülmények közt vizsgálva a levofloxacint, baktericid hatása a planktonikus baktériumokra csökkent, a biofilm fázisban lévő sejteken pedig még kevésbé mutatkozik (43).

A minocyclin hatékonysága a *S. maltophilia* ellen, több *in vitro* vizsgálat alapján, nem rosszabb, mint az SXT-é. Több esetleírás és szimulációs vizsgálat is igazolja, hogy a minocyclin az SXT terápia alternatívája lehet, különösen légúti fertőzések esetében, az antibiotikum gyors és kiterjedt tüdőbe történő penetrációja miatt (134). Magyarországon a gyógyszer nincs forgalomban. A tigecyclin szintén terápiás alternatívát jelenthet. Egy tanulmány szerint a halálozási rátában és a klinikai válaszban nincs szignifikáns különbség az SXT és a tigecyclin terápia között (135). Egy másik vizsgálat az emelt dózisú tigecyclin terápia sikeréről számolt be *S. maltophilia* véráram fertőzésben (75).

Az intravénás colistin kezelés *S. maltophilia* fertőzésekre való hatásáról kevés adat áll rendelkezésre. Csak egy-egy multirezisztens Gram-negatív infekciókat elemző retrospektív vizsgálat tér ki a *S. maltophiliára* (136, 137).

Az *in vitro* olykor mutatózó érzékenység ellenére a *S. maltophilia* a European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) 2016 előtti útmutatója szerint ceftazidimre természetes rezisztensnek tekintendő. Az aktuális szabályzat (EUCAST expert rules v 3.1) ezt már nem tartalmazza, de a ceftazidimre vontakozó specifikus kitétel továbbra sincs. Több sikeres terápiáról számol be az irodalom, melyben a ceftazidimet kombinációban alkalmazták.

A kloramfenikol klinikai hatékonyságáról kevés adat áll rendelkezésre. Mielotoxicitása miatt lehetőleg kerülik használatát (1). A colistin, a ceftazidim és a kloramfenikol TKA vizsgálatok alapján sem bizonyult megfelelő, monoterápiaként alkalmazható antibiotikumnak (128).

Az inhalációs formában alkalmazható antibiotikumok alacsonyabb toxicitásuk és a légutakban elérhető, a szérumszintet sokszorosán meghaladó koncentrációjuk miatt a *S. maltophilia* okozta légúti fertőzésekben is terápiás alternatívát jelentenek. Azonban

az inhalációs antibiotikum terápiát, főleg colistin esetében számos tényező, például súlyos bronchospasmus, hiperszenzitivitás miatt fellépő pneumonitis korlátozhatja. A levofloxacin aeroszolizált formája (MP-376 Aeroquin<sup>TM</sup>) vizsgálat alatt áll. Az eddigi eredmények alapján a CF köpetben is megőrzi baktericid aktivitását (ellentétben az inhalált tobramycinnel) és a bronchiális epithelsejtekben csökkenti a gyulladásos citokinek szintjét. Az aeroszolizálással elérhető magas koncentrációjú colistin és levofloxacin biofilmben növekvő baktérium törzsek ellen is hatékony, intravénás  $\beta$ -laktámmal vagy SXT-vel kombinálva (138). Az inhalációs aztreonam L1  $\beta$ -laktamáz rezisztens volta miatt a szisztémásan alkalmazott antibiotikumok hatékonyságát fokozhatja. A porlasztott tobramycin hatása a *S. maltophilia* magas fokú természetes rezisztenciája miatt még kombinációs terápia részeként is kérdéses (16).

#### 1.6.1. Kombinált antibiotikum terápia

A kombinált terápia súlyosan immunkompromittált betegek és CF betegek esetében, MDR *S. maltophilia* okozta fertőzésekben vagy a beteg SXT intoleranciája esetén egyaránt indokolt lehet. A legtöbb ajánlott antibiotikum bakteriosztatikus hatása miatt a terápia alatt rezisztencia fejlődhet ki, melynek megelőzésére antibiotikum kombinációk ajánlottak.

Számos *in vitro* szinergén hatású antibiotikum kombinációról számol be az irodalom, melyek közül néhány hatékonysága klinikai adatokkal is igazolt. Az SXT ticarcillin-klavulánsavval, ceftazidimmal, levofloxaccinnal, colistinnel, azythromycinnel, tigecyclinnel kombinálva szinergén hatásúnak bizonyult. A moxifloxacin+SXT kombináció terápiás szérumkoncentrációban szinergén és baktericid hatással bír (128). A colistin hatását a ticarcillin-klavulánsavval, tigecyclinnel, rifampinnal és telavancinnal tudták fokozni (139-141). Inhalációs formában adott colistin intravénás doxycyclinnel kombinálva sikeres terápiának bizonyult VAP-ban (142). Hatékonyak lehetnek a fluorokinolon és  $\beta$ -laktám kombinációk, ill. a makrolid (azythromycin, clarythromycin) és ceftazidim kombinációk is (143). Néhány szinergén hatásúnak bizonyult antibiotikum kombináció, például a karbenicillin+gentamicin+rifampin, a *S. maltophilia* természetes antibiotikum rezisztenciája ismeretében, nehezen értelmezhető (16). A levofloxacin, ticarcillin-klavulánsav, ceftazidim, piperacillin-tazobaktám, aztreonam, kloramfenikol, minocyclin, tobramycin és SXT lehetséges kombinációit

vizsgálták CF betegek légúti izolátumain. A ticarcillin-klavulánsav+aztreonam bizonyult a leghatékonyabbnak, a törzsek 92%-ban szinergén hatású volt. A ticarcillin-klavulánsav+colistin 40%-ban, a ticarcillin-klavulánsav+levofloxacin 19%-ban mutatott szinergiát (121). A ceftazidim-avibaktám+aztreonam hármas kombináció hatékonyságáról számoltak be egy elhúzódó *S. maltophilia* bacteraemiás beteg kapcsán (144). Az L2 enzimet gátló avibaktám és az L1 enzim mellett is hatékony aztreonam miatt a már klinikai vizsgálati szakaszban lévő avibaktám-aztreonam kombináció feltehetően – hasonlóan az MBL termelő bélbaktériumokhoz – hatékony szer lesz a *S. maltophilia* ellen is (145, 146).

Kombinált antibiotikum terápia indokolt polimikróbás fertőzésekben is. Amennyiben egy légúti fertőzésben szenvedő beteg alsó légúti mintájából MDR *P. aeruginosa* vagy *A. baumannii* tenyészik ki és a baktériumot a klinikus kórokozónak ítéli meg, a colistin terápia gyakran kényszerű terápiás választás. Bár egy metaanalízis bizonyította a colistin hatékonyságát MDR *P. aeruginosa* és *A. baumannii* okozta pneumoniában (147), az intravénás formában alkalmazott antibiotikum rossz penetrációja a tüdőszövetbe bizonyos mértékben korlátozza a gyógyszer klinikai alkalmazhatóságát a légúti fertőzésekben. Inhalációs formában alkalmazva magas légúti colistin koncentráció érhető el, így lehetőség szerint ez a terápia módja. Ha a beteg mintájából a fenti baktériumok mellett *S. maltophilia* is tenyészik és kóroki szerepe feltételezett, akkor a terápia SXT-t kell, hogy tartalmazzon (kontraindikáció hiányában). Ilyen esetben a colistin+SXT antibiotikum páros két, egyidejűleg adott monoterápiaként, semmint egy szokatlan antibiotikum kombinációként értelmezendő. Kérdéses, hogy e kényszerű antibiotikum „kombinációnak” van-e valamilyen szinergén vagy antagonista hatása a három baktériumra.

Több baktérium, így a *P. aeruginosa* biofilm formájú növekedése ellen hatékonynak bizonyult a fluorokinolonok azithromycinnel való kombinációja. A *S. maltophilia* által képzett biofilmek esetében ez a szinergén hatást nem igazolódott, sőt – különösen moxifloxacin+azithromycin esetében – antagonista hatásúnak bizonyult. Más baktérium esetében is megfigyelték, hogy egyes makrolidok (clarithromycin) rontják egyes fluorokinolonok (gatifloxacin, levofloxacin) hatását. Feltehetően a makroliddal gátolt bakteriális fehérje szintézis interferál a fluorokinolonok baktericid aktivitásával. Az erythromycin szubinhibitoros koncentrációban indukálja az intercelluláris adhéziós

operonon (*ica*) kódolt enzimek expresszióját, melyek a baktériumok egymáshoz tapadásáért és akkumulációjáért felelősek, így stimulálva a biofilm képzést. A makrolidok hatása *S. maltophilia* fertőzésekben ezek alapján károsnak tűnik (133). Ugyanakkor érdemes mérlegelni a makrolidok immunstimuláló hatását is. *In vitro* és *in vivo* vizsgálattal egyaránt igazolt, hogy az azythromycin kezelés hatására a baktérium érzékenyebb a neutrophil granulocyták bactericid hatására. Egy endogén kationos antimikrobiális peptiddel, a cathelicidinnel szintén szinergén hatást mutatott az azythromycin, ahogyan colistinnel kombinálva is (148).

#### 1.6.2. Új terápiás lehetőségek

Az antibiotikum fejlesztéseknek köszönhetően időről-időre megjelenik egy-egy ígéretesnek tűnő új gyógyszer. A szulfametrol/trimethoprim kombináció hatékonyságát az SXT-hez hasonlónak találták (149). Az új sziderofor cefalosporinok közül ígéretesnek tűnik a cefiderocol. Az új kinolon antibiotikumok közül a nem-fluorinált nemonoxacin gyenge hatékonyságúnak bizonyult, a delafloxacin hatékonyságáról még nincs elegendő adat (150, 151).

A bakteriofágok terápiás alkalmazása az elmúlt évtizedben az eszkalálódó antibiotikum rezisztencia miatt újra kutatások és ígéretes klinikai vizsgálatok tárgya lett Európában. Több olyan fág azonosításra került (Smp131, phiSMA5, DLP-1,-2), melyek a *S. maltophilia* ellen is hatékonyak (152, 153). Külső membrán permeabilitást növelő kationos peptideket (pl. esculin-1b) fejlesztenek. Kutatják különböző nanoemulziók,  $\beta$ -laktamáz inhibitorok, proteáz inhibitorok terápiás szerepét. A QS rendszert megzavaró anyagok a virulenciafaktorok csökkentésével járulhatnak hozzá a sikeres terápiához (35). Számos növényi olajnak és a zöld teából kivont epigallocatechin-3-gallat polifenolnak van antibakteriális aktivitása a *S. maltophilia* ellen (2). Utóbbiak használata, további fejlesztés nélkül, csak topikális szerként lenne lehetséges. A mukolítikumként a légúti fertőzésekben gyakran alkalmazott N-acetilcisztein egyes antibiotikumok, így a colistin *S. maltophilia* elleni hatását fokozza, illetve önmagában is van némi gátló hatása (154, 155).

A sejtfelszíni poli- $\beta$ -(1-6)-N-acetil-glukózamin több baktérium fajban, köztük multirezisztens *Burkholderia* fajokban és a *S. maltophiliában* is jelenlévő poliszacharid. A baktériumok biofilm képzését segítő glikózamin ellen képződő ellenanyagok

protektív immunitást biztosítanak a kórokozók ellen. A poli- $\beta$ -(1-6)-N-acetil-glukózamin elleni, opszono-fagocitikus antitestek hatékony terápia eszközzé válhatnak. Kecsegtető ígérete az immunterápiának, hogy több, a közös sejtfelszíni poliszachariddal bíró kórokozó ellen hatékony lenne, így akár a *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *Burkholderia spp.* és *S. maltophilia* ko-infekciók ellen is védelmet nyújtaná. Az ellenanyag egy már kialakult, például a krónikus légúti beteg tüdejében lévő bakteriális kolonizáció vagy infekció eliminálásához valószínűleg elégtelen, de azt segítheti és megelőzheti a baktériumok légutakból induló disszeminációját (156).

Az MDR kórokozók egyik vezető rezisztencia mechanizmusa, az efflux pumpák elleni szerek nagy előrelépést jelentenének. Természetes és szintetizált anyagok ez irányú hatását egyaránt tesztelik. A cél olyan adjuvánsok előállítása, melyek a már használatban lévő antibiotikumokra érzékenyítik a baktériumokat. Az első hatékony MexAB efflux pumpa inhibitornak, a fenilalanin-arginin- $\beta$ -naftilaminnak már számos származékát állították elő; egyelőre még a klinikai vizsgálatok első fázisáig sem jutottak el (157). Az efflux pumpa gátlók leggyakoribb hibája a citotoxicitás és a Ca-csatorna gátlás. Szulfonamid származékok szérum-indukált efflux pumpa gátlását már bizonyították (114). Megoldást jelenthetnek olyan fémtartalmú nanopartikulák, melyek a baktérium külső felszínén blokkolják az efflux pumpákat. Ezzel a baktériumot érzékenyíthetik a korábban efflux mechanizmus miatt hatástalan antibiotikumokra, illetve a QS molekulák baktériumból való kijutásának gátlásával a biofilm képzést is csökkenthetik (158). Az oxidatív stressz hatására a bakteriális genomban megnövekvő mutációs ráta egyik következménye lehet az antibiotikum rezisztencia kialakulása. Azon efflux pumpák, melyek az oxidatív stressz (főként a szuperoxid mediált stressz) elleni védelemben részt vesznek (például SmeVWX), egyben – paradox módon – az antibiotikum rezisztens mutánsok megjelenése ellen is hatnak, reaktív oxigén gyökökben gazdag környezetben. Az *smeU1VWXU2X* operon inaktiválásával létrehozott *S. maltophilia* törzsből oxidatív stressz hatására szignifikánsan több SXT rezisztens variánst tudtak kialakítani, mint a kontroll, ép SmeVWX efflux pumpával bíró törzsből. Ez alapján feltételezhető, hogy egy RND-típusú efflux pumpa gátló szer a *S. maltophilia* kinolon, kloramfenikol vagy tetracyclin érzékenységét növelné, ugyanakkor például a CF betegek tüdejére jellemző reaktív oxigén gyökökben gazdag környezetben az SXT rezisztens baktériumok arányát is (tovább) emelné (103).



## 2. Célkitűzések

A Semmelweis Egyetem, Laboratóriumi Medicina Intézet Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Laboratóriumában a rutin vizsgálatok során izolálásra került *S. maltophilia* törzsek vizsgálatával a következő kérdésekre kerestünk választ.

1. Milyen a klinikai *S. maltophilia* izolátumok érzékenysége az elsőként választandó SXT-re és a másodvonalbeli antibiotikumokra?
2. Milyen a *S. maltophilia* törzsek klinikai háttere?
  - a. Kolonizáló vagy kórokozó volt a baktérium a betegekben?
  - b. Milyen volt a fertőzés kimenetele?
  - c. Milyen tényezők voltak befolyással a fertőzés kimenetelére?
3. Mekkora a *S. maltophilia* ko-kolonizáció vagy ko-infekció gyakorisága?
4. Milyen az SXT-rezisztens *S. maltophilia* törzsek antibiotikum érzékenysége és mi áll az SXT rezisztencia hátterében?
5. Van-e *in vitro* hatékony antibiotikum kombináció extrém rezisztens *S. maltophilia* izolátumok ellen?
6. Milyen a colistin+SXT kombináció *in vitro* hatékonysága a ko-infekciókból együttesen izolált *S. maltophilia*, MDR *P. aeruginosa* és MDR *A. baumannii* törzsekre?

### 3. Módszerek

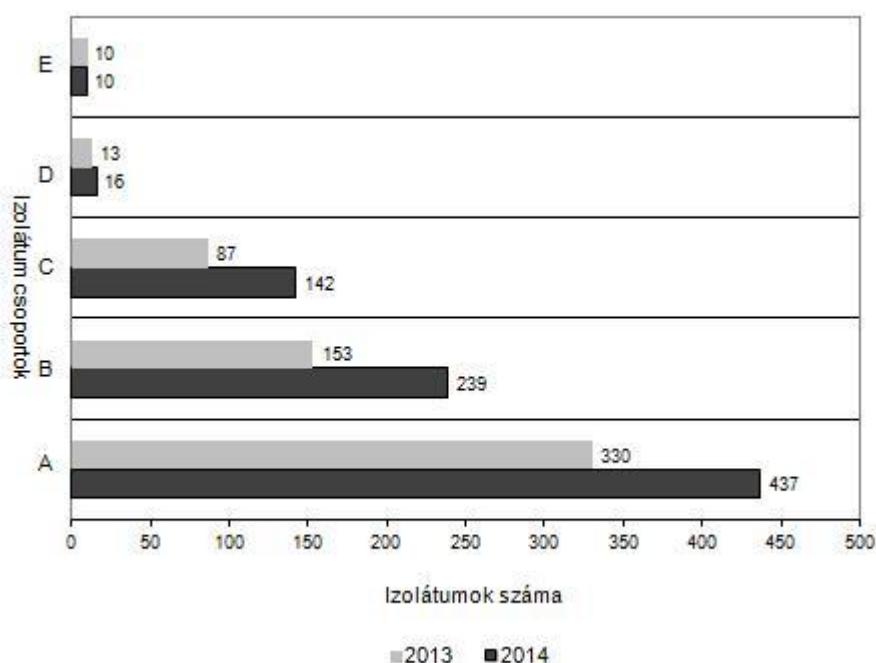
#### 3.1. A baktérium törzsek identifikálása és gyűjtése

A vizsgálat első részét 160 *S. maltophilia* törzsön végeztük, melyek 2009-2011 között különböző betegek mintáiból kerültek izolálásra. Ha egy betegnek több mintájából is tenyésztett *S. maltophilia*, akkor az első relevánsnak (a minta típusa alapján valós kórokozónak) vélt izolátumot vontuk vizsgálatunk alá. Az SXT rezisztens törzsek vizsgálatához azon összesen 30, különböző *S. maltophilia* izolátumot használtuk, melyek a 2010-2014 periódusban a Laboratóriumi Medicina Intézet Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Laboratóriumában kerültek izolálásra. Az izolátumok identifikálása hagyományos identifikálási módszerek (OF próba, oxidáz próba, kataláz próba) mellett a VITEK 2 identifikáló automata (bioMérieux) Gram-negatív baktériumokat identifikáló kártyájával, majd MALDI-TOF tömegspektrometriával (Bruker Daltonics) történt. Minden izolátumot a vizsgálatok elvégzéséig 30% glicerin tartalmú agy-szív táplevesben, -20°C-on tároltunk. A korábban biokémiai módszerrel identifikált törzsek újra vizsgálatra kerültek MALDI-TOF MS technikával. A MALDI-TOF MS identifikáláshoz a direkt módszert (a baktérium izolátum target lemezre történő felvitele, majd 1 µl mátrix oldattal történő fedése) és a Bruker Biotyper 2.0 szoftvert használtuk (159). A mátrix oldat 5 mg α-cyano-4-OH-fahéjsavat tartalmazott egy milliliter oldószerben, melyet víz, acetonitril és trifluoroecetsav 4,75:5:0,25 arányú elegye adott. A tömegspektrométer paramétereinek alapbeállításain (ion forrás1 20kV, ion forrás2 18,5 kV, lencsék 8,5 kV, detektor 2,65 V, kapuzás nincs, pozitív lineáris mód, spektrumok detektálása 2000-20000 Da tartományban, maximum lézer frekvencia) nem változtattunk. Az identifikálás eredménye  $\geq 2.0$  score esetén került validálásra. A szoftver által megadott „*Stenotrophomonas maltophilia*”, „*Stenotrophomonas maltophilia (Pseudomonas beteli)*”, „*Stenotrophomonas maltophilia (Pseudomonas hibiscicola)*” és „*Stenotrophomonas maltophilia (Pseudomonas geniculata)*” eredményeket egyaránt elfogadtuk.

A klinikai adatok retrospektív módon, a zárójelentések és laboratóriumi leletek (a fehérvérsejt szám, C-reaktív protein és procalcitonin értékek) áttekintésével kerültek összegyűjtésre. A zárójelentésben megadott klinikai diagnózis alapján az izolátumokat két csoportra osztottuk: az infekciót okozó kórokozók és a kolonizálók csoportjára. Az infekció klinikai diagnózis volt. Kolonizálónak tekintettük a *S. maltophilia* izolátumot,

ha annak jelenléte a bőrön, a nyálkahártyán, a sebben vagy valamilyen excretumban klinikai tünetet nem okozott, arról a zárójelentésben nem vagy kolonizációként nyilatkoztak róla.

Az alsó légúti eredetű *S. maltophilia* izolátumok 58%-a ko-kolonizáló vagy ko-patogén baktériumok mellett került azonosításra az alsó légúti mintákban a 2013-2014 közötti periódusban. A *P. aeruginosa* volt a leggyakoribb ko-patogén. Azon minták kerültek kiválasztásra a további vizsgálatokhoz, melyekben MDR *P. aeruginosa*, MDR *A. baumannii* és *S. maltophilia* egyidejűleg fordult elő. A 2. ábrán bemutatott szelektációs folyamat végén összesen 20 különböző beteg alsó légúti mintájából kitenyésztett és a vizsgálatokhoz összegyűjtött 20 x 3 izolátum állt rendelkezésünkre.



2. ábra: Különböző betegektől származó, alsó légúti ko-infekciót vagy ko-kolonizációt okozó *S. maltophilia*, MDR *P. aeruginosa* és MDR *A. baumannii* ko-kultúrák száma és arányai 2013-2014 évben. A: különböző betegek mintáiból kitenyésztett *S. maltophilia* izolátumok száma. B: alsó légúti mintákból kitenyésztett *S. maltophilia* izolátumok száma. C: Ko-infekcióból vagy -kolonizációból kitenyésztett *S. maltophilia* izolátumok száma. D: *P. aeruginosa* és *A. baumannii* mellett kitenyésztett *S. maltophilia* izolátumok száma. E: MDR *P. aeruginosa* és MDR *A. baumannii* mellett kitenyésztett *S. maltophilia* izolátumok száma

### 3.2. Antibiotikum érzékenységi vizsgálatok

Az antibiotikumok MIC értékeit mikrodilúciós módszerrel határoztuk meg, a CLSI metodikai ajánlásának megfelelően (160). A vizsgálathoz kationnal kiegészített Mueller-Hinton levest (BectonDickinson) és 96 mélyedést tartalmazó mikrotiter lemezeket (TOMTEC) használtunk. Az SXT-t (Sigma-Aldrich) 0,25-128 mg/l, a ciprofloxacint (Fresenius Kabi) 0,5-256 mg/l, a moxifloxacint (Bayer Pharma) 0,064-32 mg/l, a levofloxacint (TEVA) 0,064-32 mg/l, a colistin (colistin-szulfát, Sigma-Aldrich) 0,5-256 mg/l, a doxycyclint (Pfizer) 0,064-32 mg/l és a tigecyclint (Wyeth) 0,064-32 mg/l koncentráció tartományában vizsgáltuk. Az infekciót okozó izolátumok esetében agar hígítási módszerrel is meghatároztuk az SXT és fluorokinolon MIC értékeket és gradiens diffúziós módszerrel (bioMérieux Etest<sup>®</sup> és Liofilchem) az SXT, fluorokinolon, tigecyclin és colistin MIC értékeket (160-162).

Az SXT rezisztens izolátumok esetében a vizsgált antibiotikumok sorát kiegészítettük ceftazidimmel (Fresenius Kabi) 1-512 mg/l és kloramfenikollal (Sigma-Aldrich) 0,5-256 mg/l koncentráció tartományban, az SXT és a colistin vizsgált tartományát pedig egy hígítási lépéssel megemeltük (0,5-256mg/l- és 1-512 mg/l-re). A ko-infekciókból származó *P. aeruginosa* törzseket 0,06-32 mg/l colistin és 2-1024 mg/l SXT, az *A. baumannii* törzseket 0,06-32 mg/l colistin és 0,5-256 mg/l SXT koncentráció tartományban vizsgáltuk.

A MIC értékek interpretálásához az EUCAST ajánlását használtuk (163). Az SXT esetében az EUCAST *S. maltophilia* specifikus, a fluorokinolonok és a tigecyclin esetén az EUCAST nem-fajspecifikus határértékeit alkalmaztuk. Doxycyclin esetében – *S. maltophilia* specifikus és nem-fajspecifikus határértékek hiányában – a *S. maltophilia* epidemiológiai vágóértékét (ECOFF) használtuk (8mg/l). Colistin esetében még ECOFF érték sincs megállapítva, ezért a *Pseudomonas* spp. specifikus 4 mg/l határérték alapján (EUCAST klinikai határértékek 4.1. verziója) interpretáltuk az eredményeket. Kloramfenikol esetében az EUCAST sem ECOFF értéket, sem nem fajspecifikus határértéket nem adott ki, ezért a CLSI *S. maltophilia* specifikus határértékeit használtuk. Kontrollként az *Escherichia coli* ATCC 25922, a *P. aeruginosa* ATCC 27853 és a *Staphylococcus aureus* ATCC 29213 törzseket használtuk.

### 3.3. Antibiotikum kombinációk vizsgálata

Az SXT-rezisztens törzsek közül az extrém rezisztensek (n=4) *in vitro* érzékenységét vizsgálatuk 20 különböző antibiotikum kombinációra. Az antibiotikum kombinációk vizsgálatát checkerboard (CB) módszerrel vizsgáltuk, 96 mélyedést tartalmazó lemezen. A ceftazidimot ciprofloxacinnal, levofloxaccinnal, moxifloxaccinnal, tigecyclinnel, doxycyclinnel, colistinrel és SXT-vel kombinálva vizsgáltuk. A colistin hatását ciprofloxacinnal, levofloxaccinnal, moxifloxaccinnal, doxycyclinnel és SXT mellett teszteltük. A tigecyclint a három előbbi fluorokinolonnal, colistinrel és SXT-vel kombinálva, az SXT-t pedig a fluorokinolonokkal kombinálva vizsgáltuk. A vizsgálathoz a mélyedésenként 100 µl végtérfogatban antibiotikumokat tartalmazó Mueller-Hinton táplevesbe annyi baktériumot inokuláltunk, hogy az  $5 \times 10^5$  CFU/ml mennyiségű legyen. A lemezeket 35°C-on 18-22 órán át inkubáltuk. Szinergén hatást detektálva az eredményt kombinált E-test® módszerrel konfirmáltuk (164). A kettős korong diffúziós módszert szűrő módszerként kíséreltük meg használni, a korongokat 1 cm távolságra helyezve egymástól (141).

A fracionális inhibitoros koncentráció indexek összegének ( $\Sigma FICI$ ) kiszámítása a következő képlettel történt: (az A antibiotikum B antibiotikum mellett mért MIC értéke)/(az A antibiotikum MIC értéke) + (a B antibiotikum A antibiotikum mellett mért MIC értéke)/(a B antibiotikum MIC értéke) (161). Antagonista hatást  $\Sigma FICI > 4$ , indifferens hatást  $0,5 = \Sigma FICI \leq 4$  és szinergén hatást  $\Sigma FICI < 0,5$  esetén állapítottunk meg. A  $0,5 = \Sigma FICI \leq 1$  tartomány parciális szinergén, additív hatásként is definiálható. Az antibiotikum kombinációk eredményeinek interpretálására az érzékenységi határérték indexet (SBPI) is használtuk. Kiszámítása a következő képlettel történt: (az A antibiotikum érzékenységi határértéke)/(az A antibiotikum B antibiotikum mellett mért MIC értéke) + (a B antibiotikum érzékenységi határértéke)/(a B antibiotikum A antibiotikum mellett mért MIC értéke). Ha az  $SBPI \geq 2$ , akkor a két antibiotikum kombinációban mért MIC értékei vagy megegyeznek az érzékenységi határértékükkel vagy az egyik antibiotikum MIC értéke a kombinációban alacsonyabb, mint az érzékenységi határérték. Minél nagyobb az SBPI, annál hatékonyabb az antibiotikum kombináció (121).

A colistin+SXT kombinációt az egyidejűleg izolált baktérium hármasokon először CB módszerrel végeztük. A *S. maltophilia* izolátumokat a colistin hét -, az SXT tizenegy felező hígítási fokában, míg a *P. aeruginosa* és *A. baumannii* törzseket az SXT hét -, és a colistin tizenegy felező hígítási fokában vizsgáltuk. Azon törzseket, melyekre a kombináció CB teszttel szinergén hatást mutatott, tovább vizsgálatuk idő-ölés teszttel (TKA) (165). Ha a MIC érték az elérhető szérumban felett volt, akkor az SXT-t 8 mg/l, a colistint 4 mg/l koncentrációban használtuk. E koncentrációk megfelelnek a szérumban mérhető koncentrációknak. A vizsgálathoz colistint, SXT-t és colistin+SXT kombinációt tartalmazó Mueller-Hinton táplevest használtunk, 20 ml térfogatban. A táplevesbe inokulált baktériumok mennyisége  $10^8$  CFU/ml volt. A tenyészetet folyamatos mozgás mellett 37°C-on inkubáltuk. A csíraszám meghatározáshoz egy, kettő, négy, hat és 24 óra inkubáció után vettünk mintát a tenyészetből. A tenyészetet fiziológiás sóoldatban hígítottuk ( $10^{-1}$  –  $10^{-6}$ ) és véres agar lemezekre (bioMérieux) oltottuk. A lemezeket 37°C-on inkubáltuk 24 órán át. Ezt követően határoztuk meg a telepek számát. A detektálás alsó határa 20 CFU/ml volt. Szinergén hatást állapítottunk meg, ha a  $CFU \geq 2 \log_{10}$  mértékkel csökkent a colistin+SXT kombináció hatására, a *S. maltophilia* esetében az SXT mellett, a *P. aeruginosa* és az *A. baumannii* esetében a colistin mellett észlelt CFU számhoz képest.

#### 3.4. Molekuláris vizsgálatok

Az izolátumok genetikai összefüggőségét enterobacterial repetitive intergenic consensus PCR (ERIC-PCR) módszerrel vizsgáltuk (166). A DNS izoláláshoz a baktériumokat 100 µl PCR tisztaságú vízben szuszpendáltuk, majd 15 percig 100°C-on tartottuk. A szuszpenziót 12000 rpm fordulatszámon két percig centrifugáltuk. A felülúszó 1-1 µl-ét használtuk a PCR vizsgálatokhoz. Az ERIC1 5'-ATGTAAGCTCC TGGGGATTAC-3' és ERIC2 5'-AAGTAAGTACTGGGGTGAGCG-3' primereket (Bio Basic Inc.) és a REDTaq Ready Mix PCR reagenst (Sigma Aldrich) használtuk a PCR-hez, 50 µl végtérfogatban. A PCR program 95°C 2 perc, majd 30 ciklus 90°C 30 másodperc, 52°C 1 perc, 65°C 8 perc szakaszokból állt. A gélelektroforézist 0,01% GelRed (Biotium) festéket tartalmazó 1,5%-os agaróz (Sigma Aldrich) gélben, Tris-bórsav-EDTA pufferben (Sigma Aldrich) végeztük. Az egy osztályról származó izolátumokat ugyanazon PCR amplifikációban és gélelektroforézisben vizsgáltuk. A

sávmintázatot szabad szemmel értékeltük. Azon izolátumokat tekintettük egymástól függetlennek, melyek egymástól legalább két sávban eltérést mutattak (166).

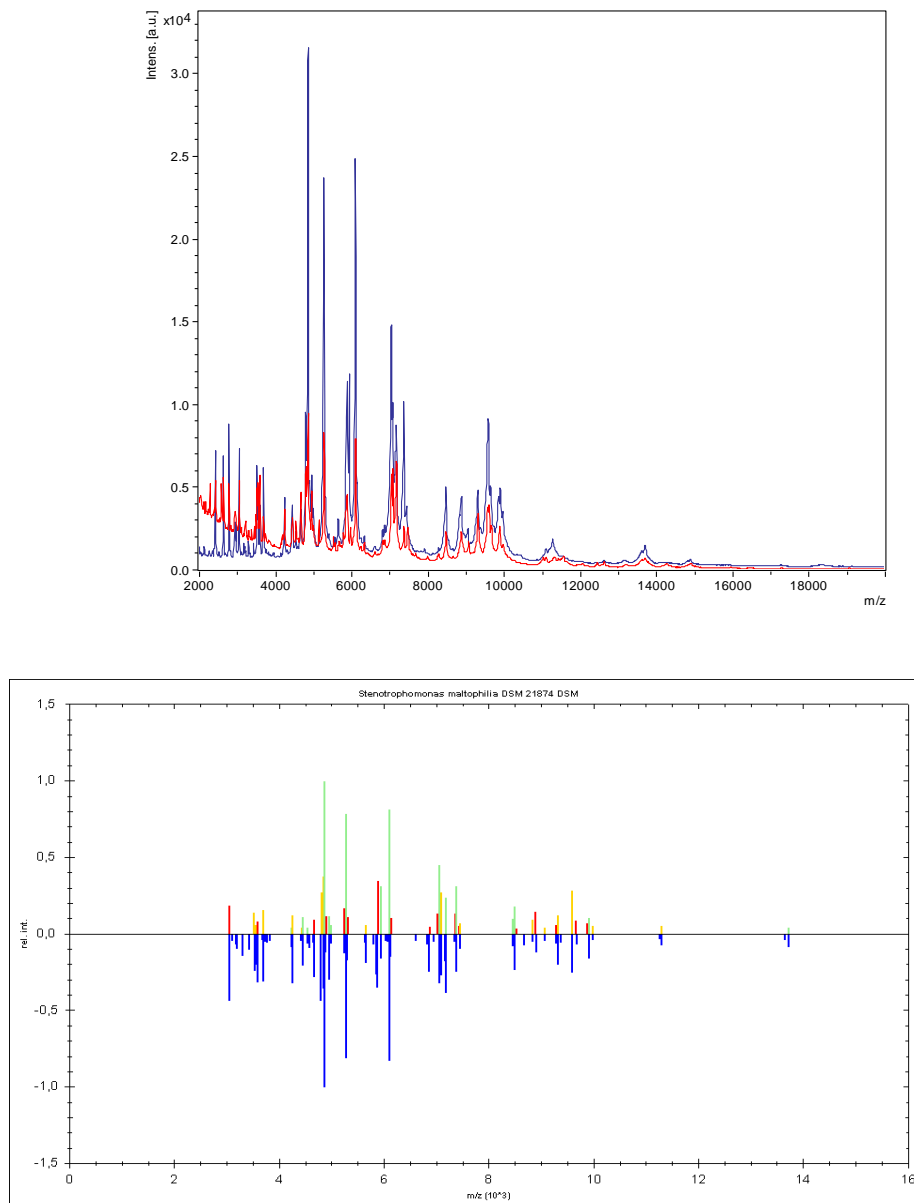
Az SXT rezisztenciáért felelős *sul1* gén jelenlétét a F 5'- ATGGTGACGGTGTT CGGCATTCTGA-3' és R 5'-CTAGGCATGATCTAACCCCTCGGTCT-3' primerekkel, a *sul2* génét a F 5'-GAATAAATCGCTCATCATTTTCGG-3' és R 5'-CGAATTCTTGCGGTTTCTTTCAGC-3' primerekkel vizsgáltuk. A PCR vizsgálat 1 x 95°C 10 perc, 30 x 94°C 45 másodperc, 64°C 45 másodperc, 72°C 2 perc, 1 x 72°C 10 perc paraméterekkel történt. A class 1 integron kimutatásához az F 5'-CAACACATGCGTGTAAT-3' és R 5'-CTTGCTGCTTGGATGCC-3' primereket használtuk (167). A PCR anellációs hőmérséklete ez esetben 55°C volt, a többi paraméter megegyezett a fent leírtakkal.

### 3.5. Statisztikai elemzés

A *S. maltophilia* fertőzésben szenvedő betegek egyes klinikai jellemzőinek a letalitással való összefüggését vizsgáltuk. Az egyváltozós analízishez  $\chi^2$  tesztet és Fisher tesztet használtunk. A  $p < 0,05$  értéket fogadtuk el szignifikancia szintnek. Az egyváltozós analízis alapján a halálozással szignifikánsan összefüggő változókat tovább vizsgáltuk többváltozós logisztikus regressziós modellben, hogy a letalitással függetlenül összefüggő változókat azonosítsuk. A 95% konfidencia intervallumhoz (95% CI) tartozó odds ratio (OR) érték minden változó esetében kiszámításra került. Ezen vizsgálat esetében is a  $p < 0,05$  értéket fogadtuk el szignifikancia szintnek. A statisztikai vizsgálatok Stata 12 szoftverrel (StataCop LP, USA) történtek.

#### 4. Eredmények

A MALDI-TOF MS vizsgálat eredménye alapján az izolátumok 74%-a *S. maltophilia*, 16%-a *S. maltophilia* (*P. hibiscicola*), 7%-a *S. maltophilia* (*P. beteli*), 3% *S. maltophilia* (*P. geniculata*) volt. (3. ábra)



3. ábra: A *S. maltophilia* MALDI-TOF tömegspektruma. Fent: két *S. maltophilia* izolátum egymásra vetített spektruma. Lent: Egy *S. maltophilia* izolátum spektrumának illesztése a referencia adatbázisban lévő spektrumhoz.



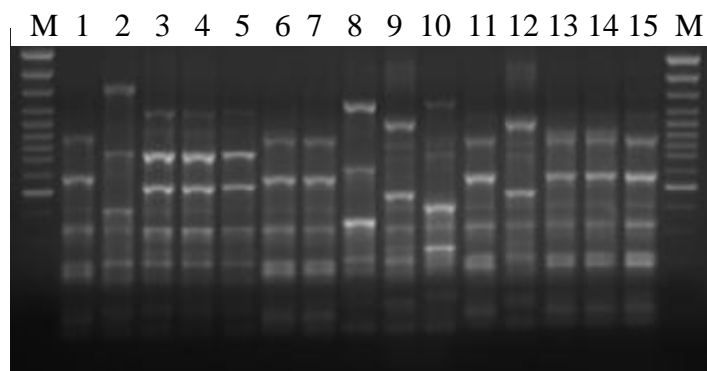
Egy izolátum esetén *Achromobacter xylosoxidans* eredményt adott a MALDI-TOF MS identifikálás eredménye, három mucoid fenotípust mutató izolátumnak pedig nem sikerült a tömegspektrumát felvenni az alkalmazott módszerrel. Az *A. xylosoxidans* helyett újabb *S. maltophilia* törzset vontunk a vizsgálatba.

A klinikai adatok alapján 100 betegnek volt *S. maltophilia* fertőzése. Esetükben vérből (n=25), bronchoalveolaris lavage (BAL) mintából (n=30), trachea aspirátumból (n=31), köpetből (n=7), centrális vénás kanülből (n=4), peritoneális folyadékból (n=3) tenyésztett ki a kórokozó. Hatvan beteg esetében a *S. maltophilia* kolonizálóként volt jelen a perianális törlet (n=11), vizelet (n=8), fül- (n=6), torok- (n=3), orr- (n=4), szem törlet (n=7), katéter (n=1), köpet (n=7), trachea aspirátum (n=7) és seb (n=6) mintáikban. Az SXT-rezisztens *S. maltophilia* törzsekből (n=30) 2 hemokultúrából, 8 BAL mintából, 3 trachea aspirátumból, 3 köpetből, 3 tracheális tubusból, 1 vizeletből, 7 perianális -, 2 torok - és 1 fül törletből került izolálásra. Ezen izolátumok többségét (n=23) kolonizálóként vagy kontaminánsként értékelték. Hét izolátum volt alsó légúti fertőzés vagy véráram fertőzés kórokozója. Tizenhárom törzs neonatális, hat felnőtt intenzív osztályon kezelt beteg mintáiból tenyésztett ki.

#### 4.1. Genetikai összefüggőség vizsgálatának eredményei

Az ERIC-PCR vizsgálattal a kórokozó és kolonizáló baktériumok csoportjában is találtunk megegyező sávmintázattal bírókat (4. ábra). A kolonizáló izolátumok csoportjában két-két izolátum azonos mintázatát négy esetben, három-három izolátum azonos mintázatát három esetben fedeztük fel. A kórokozó izolátumok csoportjában tizenkét megegyező mintázat fordult elő (6 x 2 izolátum, 4 x 3 izolátum 1 x 5 izolátum és 1 x 6 izolátum között). A genetikailag összefüggő izolátumok közül a kolonizáló csoportból 10, a kórokozó csoportból 23 izolátumot kizártunk az antibiotikum érzékenységi eredmények értékelésekor, hogy elkerüljük az azonos ERIC-PCR genotípusú törzsek esetleges torzító hatását.

Az SXT rezisztens törzsek körében négy azonos mintázatot találtuk (2 x 2 izolátum, 1 x 3 izolátum és 1 x 9 izolátum között). Az azonos mintázatú törzsek MIC értékeikben lényegesen különböztek egymástól. Ezt és az SXT-rezisztens csoport kis elemszámát figyelembe véve az antibiotikum érzékenységi vizsgálat eredményeinek értékelésekor mind a harminc törzs adatait számításba vettük.



4. ábra: Egy ERIC-PCR vizsgálat gélképe. A bal oldali DNS molekulásúly markert (M) követő 3-4-5. minta, 6-7. minta és 13-14-15. minta sávmintázata megegyező. A DNS molekulásúly marker értékei: 100-1000 bázis.

#### 4.2. Az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok eredményei

A mikrodilúcióval, agar hígítási módszerrel és gradiens diffúziós teszttel kapott eredmények összhangban voltak. A különböző ERIC-PCR mintázatú törzsek (77 kórokozó és 50 kolonizáló baktérium) MIC<sub>50</sub> és MIC<sub>90</sub> értékeiket, a MIC tartományokat és az interpretálás eredményét a 3. táblázat foglalja össze. Az ECOFF alatti MIC értékeket érzékenyként interpretálva az összes izolátum doxycyclinre érzékenynek bizonyult. A 160 izolátumot elemezve, a genetikai összefüggőség figyelmen kívül hagyása nélkül, szignifikáns eltérés a táblázatban megadottakhoz képest nem mutatkozott. Összehasonlítottuk a kórokozó és kolonizáló izolátumok antibiotikum érzékenységét. Mindkét csoport nagy százalékban érzékeny volt SXT-re. A kórokozók csoportjában, a ciprofloxacin kivételével, magasabb volt az antibiotikumra nem-érzékeny izolátumok aránya, mint a kolonizálók között. A colistin és tigecyclin nem-érzékeny törzsek száma 1,2-1,3-szor több volt a kórokozók esetében.

3. táblázat: A 127 különböző ERIC-PCR mintázatú *S. maltophilia* törzs antibiotikum érzékenységi vizsgálatának eredménye. A kórokozó izolátumok száma 77, a kolonizáló izolátumok száma 50. M. érzékeny: mérsékelten érzékeny

Antibiotikum Határértékek (mg/l)	Izolátumok	MIC (mg/l)			Izolátumok %-a		
		MIC tartomány	MIC50	MIC90	Rezisztens	M. érzékeny	Érzékeny
SXT	kórokozó	<0,25->32	0,25	1	1	0	99
É≤4 , R>4	kolonizáló	<0,25->32	0,5	1	2	0	98
ciprofloxacín	kórokozó	<0,5-64	2	8	54	22	24
É≤0,5 , R>1	kolonizáló	0,5-128	2	8	76	12	12
levofloxacín	kórokozó	0,125-16	1	2	7	18	75
É≤1 , R>2	kolonizáló	<0,064-4	0,5	2	4	12	84
moxifloxacín	kórokozó	<0,064-8	0,25	1	7	6	87
É≤0,5 , R>1	kolonizáló	<0,064-4	0,125	0,5	4	6	90
doxycyclín	kórokozó	0,125-4	1	2	0	0	100
ECOFF 8 mg/l	kolonizáló	0,125-4	1	2	0	0	100
tigecyclín	kórokozó	0,125-16	0,5	2	50	38	12
É≤0,25 , R>0,5	kolonizáló	0,125-16	0,5	2	14	51	35
colistin	kórokozó	1->256	64	>256	91	0	9
É≤4 , R>4	kolonizáló	0,25->128	16	>128	77	0	23

A SXT-rezisztens törzsek antibiotikum érzékenységi eredményeit a 4. táblázat mutatja be.

4. táblázat: Az SXT-rezisztens *S. maltophilia* törzsek antibiotikum érzékenységi eredményei. A törzsek száma 30. M. érzékeny: mérsékelten érzékeny

Antibiotikum Határértékek (mg/l)	MIC (mg/l)			Izolátumok %-a		
	MIC tartomány	MIC50	MIC90	Rezisztens	M. érzékeny	Érzékeny
SXT : É≤4 , R>4	8-128	32	64	100	0	0
ciprofloxacín : É≤0,5 , R>1	1-32	4	16	83	17	0
levofloxacín : É≤1 , R>2	0,5-16	2	8	20	43	37
moxifloxacín : É≤0,5 , R>1	0,125-8	1	4	23	40	37
doxycyclín : ECOFF 8 mg/l	0,5-64	4	16	33	17	50
tigecyclín : É≤0,25 , R>0,5	0,5-8	2	4	97	3	0
ceftazidim : É≤4 , R>8	16-512	128	512	100	0	0
colistin : É≤4 , R>4	8->512	128	>512	100	0	0
kloramfenikol : É≤8 , R>32	8-64	16	32	44	43	13

Az SXT MIC értékek a rezisztens tartományon belül szélesen, 8-128 mg/l között oszlottak el. A csoport egy tagja sem mutatott érzékenységet ciprofloxacinra, tigecyclinre, ceftazidimre és colistinre. A törzsek 37%-a volt érzékeny levofloxacinra vagy moxifloxacinra. Az ECOFF alatti MIC értékeket érzékenyként interpretálva a törzsek 50%-a doxycyclinre érzékenynek bizonyult. Az izolátumok 13%-a volt kloramfenikol érzékeny. Két izolátum volt, mely minden vizsgált antibiotikummal szemben rezisztenciát mutatott. Két további csak doxycyclinre bizonyult érzékenynek. Ezen négy izolátumon végeztük el a 20 különböző antibiotikum kombináció vizsgálatát.

A *S. maltophilia* mellett izolált valamennyi *P. aeruginosa* és *A. baumannii* colistin érzékeny volt, MIC50 1 mg/l és MIC90 2 mg/l értékekkel. Az *A. baumannii* törzsek 15%-a volt SXT érzékeny (MIC50 32mg/l, MIC90 128 mg/l). A *P. aeruginosa* törzsek mutatták magas fokú természetes SXT rezisztenciájukat (MIC50 256 mg/l, MIC90 512 mg/l). A ko-kultúrák *S. maltophilia* tagjai SXT érzékenyek (MIC50 0,25 mg/l és MIC90 1 mg/l) és colistinnel szemben rezisztensek (MIC50 256 mg/l és MIC90 > 512 mg/l) voltak.

#### 4.3. Antibiotikum kombinációk vizsgálatának eredményei

A SXT rezisztens törzsek körében fellelt, doxycyclin kivételével minden más vizsgált antibiotikumra rezisztens, vagyis extrém rezisztens *S. maltophilia* törzsekkel végzett CB vizsgálat eredményét az 5. táblázat foglalja össze. A táblázatban feltüntetett  $\Sigma$ FICI értékek a legalacsonyabbnak talált MIC értékek alapján lettek kiszámítva. A legtöbb kombináció indifferens hatást mutatott. Antagonista hatást nem találtunk. Szinergén hatást a következő kombinációkban találtunk, legalább egy izolátum esetében: ceftazidim+ciprofloxacin, ceftazidim+moxifloxacin, ceftazidim+levofloxacin, ceftazidim+colistin, colistin+ciprofloxacin, colistin+moxifloxacin, colistin+levofloxacin, colistin+doxycyclin, tigecyclin+colistin, SXT+moxifloxacin, SXT+levofloxacin. A ceftazidim+moxifloxacin és a ceftazidim+colistin volt az a két kombináció, mely mindegyik izolátum esetében  $\Sigma$ FICI  $\leq$  0,5 értékekkel szinergén vagy parciálisan szinergén hatású volt.

A vizsgálati eredmények interpretálásakor az antibiotikumok elérhető szérumszintjét is figyelembe kell venni. A csúskoncentrációk a következők: ceftazidim 60 mg/l, ciprofloxacin 1,8-4,6 mg/l, levofloxacin 5,7-8,6 mg/l, moxifloxacin 4,5 mg/l,

colistin 5-7,5 mg/l, SXT 1-2/40-60 – 9/105 mg/l, tigecyclin 0,63 mg/l, doxycyclin 1,5-201 mg/l, kloramfenikol 11-18 mg/l (168). A szérumban lévő antibiotikum szinteket figyelembe véve csak a ceftazidim+fluorokinolon és colistin+fluorokinolon kombinációk szinergén hatása fogadható el interpretációra alkalmasnak. Ha az EUCAST érzékenységi határértékeit is figyelembe vesszük, akkor csak a fluorokinolonok ceftazimmal kombinált MIC értékei ( $SBPI_{CAZ+MOXI} = 2,125$ ,  $SBPI_{CAZ+LEV} = 4,125$ ) és a colistin moxifloxaccinnal kombinált MIC értéke ( $SBPI_{COL+MOXI} = 2,125$ ) süllyedt az érzékenységi tartományba és csak egy-egy izolátum esetében.

A *S. maltophilia*, MDR *P. aeruginosa* és MDR *A. baumannii* hármassal végzett CB vizsgálatok eredményeit a 6. táblázat mutatja be. Antagonista hatás egy izolátum esetében sem mutatkozott. Többnyire indifferens, néhány esetében szinergén hatást találtunk (7. táblázat).

5. táblázat: Extrém rezisztens *S. maltophilia* izolátumokkal végzett CB vizsgálatok eredményei.

AB 1: az A antibiotikum MIC értéke, AB 2: a B antibiotikum MIC értéke, AB 1 + AB 2: az A antibiotikum B antibiotikum mellett mért MIC értéke, AB 2 + AB 1: a B antibiotikum A antibiotikum mellett mért MIC értéke, CAZ: ceftazidim, CIP: ciprofloxacin, LEV: levofloxacin, MXF: moxifloxacin, DOX: doxycyclin, TIG: tigecyclin, COL: colistin, SXT: sulfamethoxazol-trimethoprim. A  $\Sigma$  FICI < 0,5 értékek vannak kiemelve.

Kombináció	<i>S. maltophilia</i> 1 (#30280)					<i>S. maltophilia</i> 2 (#632)					<i>S. maltophilia</i> 3 (#7233)					<i>S. maltophilia</i> 4 (#25612)				
	AB 1	AB 2	AB 1 + AB 2	AB 2 + AB 1	$\Sigma$ FICI	AB 1	AB 2	AB 1 + AB 2	AB 2 + AB 1	$\Sigma$ FICI	AB 1	AB 2	AB 1 + AB 2	AB 2 + AB 1	$\Sigma$ FICI	AB 1	AB 2	AB 1 + AB 2	AB 2 + AB 1	$\Sigma$ FICI
CAZ + CIP	128	16	16	4	<b>0,375</b>	128	4	64	0,25	0,562	128	32	32	2	<b>0,312</b>	128	16	32	2	<b>0,375</b>
CAZ + LEV	128	8	32	2	0,5	128	4	64	0,25	0,562	128	16	32	4	0,5	128	8	32	0,5	<b>0,312</b>
CAZ + MXF	128	4	32	0,5	<b>0,375</b>	128	2	32	0,125	<b>0,312</b>	128	8	32	1	<b>0,375</b>	128	4	32	1	0,5
CAZ + DOX	128	16	64	8	1	128	4	64	0,25	0,562	128	32	64	1	0,531	128	32	64	2	0,562
CAZ + TIG	128	16	64	8	1	128	4	64	0,25	0,562	128	8	64	0,5	0,562	128	8	64	0,25	0,531
CAZ + COL	128	64	16	16	<b>0,375</b>	128	8	32	2	0,5	128	128	32	16	<b>0,375</b>	128	512	16	64	<b>0,25</b>
CAZ + SXT	128	64	32	32	0,75	128	64	64	4	0,562	128	128	128	4	1,031	128	128	64	4	0,531
TIG + CIP	16	16	8	1	0,562	4	4	2	2	1	8	32	4	2	0,562	8	16	4	1	0,562
TIG + LEV	16	8	8	0,5	0,562	4	4	2	0,25	0,562	8	16	4	0,5	0,531	8	8	4	0,5	0,562
TIG + MXF	16	4	8	0,25	0,562	4	2	2	0,125	0,562	8	8	2	2	0,5	8	4	4	2	1
TIG + COL	16	64	8	2	0,531	4	8	1	2	0,5	8	128	4	16	0,625	8	512	4	32	0,562
TIG + SXT	16	64	8	32	1	4	64	2	4	0,562	8	128	4	4	0,531	8	128	4	64	1
COL + CIP	64	16	32	1	0,562	8	4	2	1	0,5	128	32	32	4	<b>0,375</b>	512	16	8	8	0,515
COL + LEV	64	8	16	2	0,5	8	4	2	2	0,75	128	16	32	2	0,5	512	8	64	1	<b>0,25</b>
COL + MXF	64	4	32	0,25	0,562	8	2	2	1	0,75	128	8	32	2	0,5	512	4	64	0,5	<b>0,25</b>
COL + DOX	64	16	32	8	1	8	4	4	2	1	128	32	64	1	0,531	512	32	128	8	0,5
COL + SXT	64	64	32	32	1	8	64	4	32	1	128	128	64	4	0,531	512	128	256	4	0,531
SXT + CIP	64	16	32	1	0,562	64	4	32	0,25	0,562	128	32	64	2	0,562	128	16	32	8	0,75
SXT + LEV	64	8	32	0,5	0,562	64	4	32	0,25	0,562	128	16	32	4	0,5	128	8	64	0,5	0,562
SXT + MXF	64	4	32	0,25	0,562	64	2	32	0,125	0,562	128	8	32	2	0,5	128	4	32	2	0,75

6. táblázat: A *S. maltophilia*, MDR *P. aeruginosa* és MDR *A. baumannii* törzseken végzett CB vizsgálatok eredményei.

SXT: az SXT MIC értéke, COL: a colistin MIC értéke, SXT + COL: az SXT colistin mellett mért MIC értéke, COL + SXT: a colistin SXT mellett mért MIC értéke. A  $\Sigma$  FICI < 0,5 értékek vannak kiemelve.

	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>					<i>Pseudomonas aeruginosa</i>					<i>Acinetobacter baumannii</i>				
	SXT	COL	SXT + COL	COL + SXT	$\Sigma$ FICI	SXT	COL	SXT + COL	COL + SXT	$\Sigma$ FICI	SXT	COL	SXT + COL	COL + SXT	$\Sigma$ FICI
1.	0,25	256	0,062	32	<b>0,375</b>	256	1	32	0,25	<b>0,375</b>	32	1	2	0,25	<b>0,312</b>
2.	0,062	256	0,062	4	1,015	128	1	8	1	1,06	8	2	1	0,25	<b>0,25</b>
3.	1	512	0,25	8	<b>0,265</b>	512	2	8	1	0,52	128	1	8	0,5	0,56
4.	1	8	0,5	2	0,75	128	2	8	1	0,56	64	2	4	0,25	<b>0,187</b>
5.	0,25	32	0,125	4	0,625	8	2	1	0,062	<b>0,156</b>	64	0,5	2	0,25	0,53
6.	0,25	256	0,062	8	<b>0,281</b>	512	2	8	1	0,52	32	2	4	0,5	<b>0,375</b>
7.	0,06	64	0,015	8	<b>0,375</b>	128	1	32	0,125	<b>0,375</b>	64	2	8	0,25	<b>0,25</b>
8.	0,5	512	0,062	16	<b>0,151</b>	16	2	0,5	1	0,53	32	2	16	0,25	0,625
9.	0,25	256	0,062	16	<b>0,312</b>	512	2	8	0,5	<b>0,265</b>	128	0,5	8	0,25	0,56
10.	0,5	32	0,062	2	<b>0,187</b>	512	2	8	1	0,52	32	1	2	0,5	0,56
11.	0,25	128	0,125	2	0,52	512	2	16	1	0,53	1	1	0,25	0,125	<b>0,375</b>
12.	0,125	256	0,125	16	1,06	512	1	32	0,5	0,56	1	1	0,25	0,125	<b>0,375</b>
13.	0,25	64	0,125	16	0,75	512	2	8	0,5	<b>0,265</b>	64	1	8	0,25	<b>0,375</b>
14.	0,5	512	0,062	16	<b>0,25</b>	8	1	1	0,25	<b>0,375</b>	128	0,5	4	0,25	0,53
15.	0,25	512	0,25	8	1,015	256	0,5	8	0,5	1,03	4	0,5	1	0,25	0,75
16.	0,25	512	0,25	8	1,015	512	1	16	0,5	0,53	2	0,5	1	0,25	1
17.	0,062	128	0,062	8	1,06	128	0,5	64	0,125	0,75	4	0,125	0,5	0,125	1,125
18.	0,25	256	0,25	8	1,03	1024	1	16	0,25	<b>0,265</b>	64	1	32	0,062	0,56
19.	0,5	128	0,125	8	<b>0,375</b>	16	0,5	4	0,25	0,75	64	0,5	8	0,125	<b>0,375</b>
20.	1	64	0,062	4	<b>0,125</b>	512	1	64	0,5	0,625	16	0,5	1	0,5	1,06

7. táblázat: A colistin+SXT kombináció CB vizsgálat alapján szinergén és indifferens hatásának aránya a vizsgált *S. maltophilia*, MDR *P. aeruginosa* és MDR *A. baumannii* törzseken.

Colistin+SXT	n (%)	
	Szinergén hatás	Indifferens hatás
<i>S. maltophilia</i>	10 (50)	10 (50)
<i>P. aeruginosa</i>	7 (35)	13 (65)
<i>A. baumannii</i>	9 (45)	11 (55)

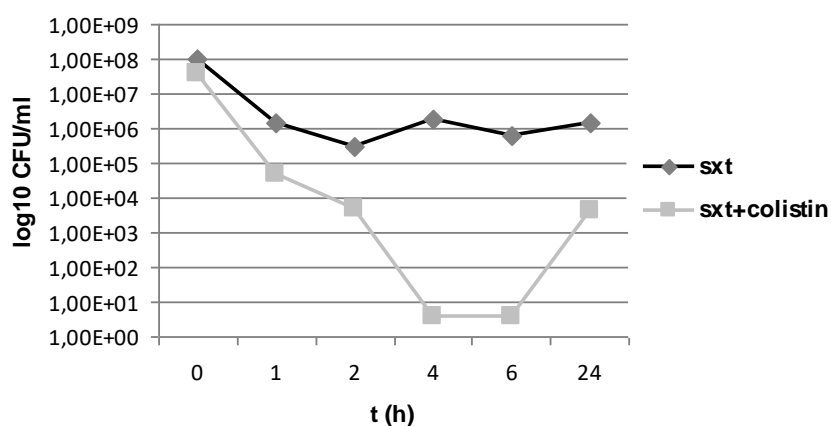
A TKA módszerrel kapott eredményeket a 8. táblázat foglalja össze. A előzetes CB vizsgálat alapján kiválogatott *S. maltophilia* törzsek 70%-, *P. aeruginosa* törzsek 57%- és *A. baumannii* törzsek 56%-ánál sikerült TKA teszttel is igazolni a colistin+SXT szinergén hatását. Ahogy a legtöbb Gram-negatív baktériumok ellen ható colistin tartalmazó antibiotikum kombináció esetében, ez esetben is megfigyelhető volt, hogy a kezdeti, 6 órán belüli gátló hatás igen kifejezett, amit 24 óra elteltével jelentős visszánövekedés követ. Az inkubáció első 6 órája után a *S. maltophilia* törzsek 86%-ánál, a *P. aeruginosa* törzsek 50%-ánál mutatkozott a colistin+SXT szinergén hatása. Az *A. baumannii* törzseknél a szinergén hatás a 24. óra után kifejezettebben mutatkozott (5. ábra). A CB és TKA módszerrel kapott eredmények 61%-ban korreláltak egymással, de a  $\Sigma$ FICI értékek és a CFU csökkenés közt összefüggés nem volt. Hét *S. maltophilia* (35%), négy *P. aeruginosa* (20%) és öt *A. baumannii* (25%) törzs esetén mindkét módszer alapján szinergén hatású volt a kombináció. Összesen két beteg hármas baktériumcsoportján érvényesült a szinergia.



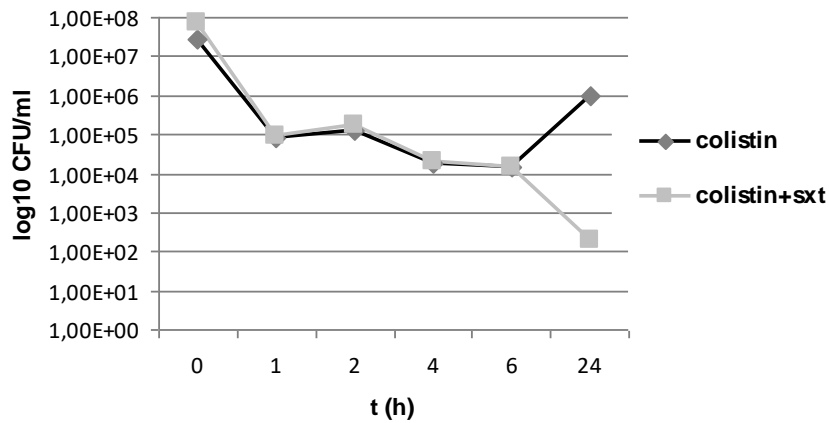
8. táblázat: A TKA vizsgálat alapján szinergén hatású colistin+SXT kombináció eredményei az egyes törzseken és azok előző CB vizsgálatnál kapott  $\Sigma$ FICI értékei. A csíraszám csökkenést *S. maltophilia* esetén az SXT mellett, *P. aeruginosa* és *A.baumannii* esetében a colistin mellett mért csíraszámhoz képest állapítottuk meg.

colistin+SXT	szinergén hatás n (%)	log10 csökkenés 6 óra elteltével	log10 csökkenés 24 óra elteltével	előző CB vizsgálatnál kapott $\Sigma$ FICI érték
<i>S. maltophilia</i>	7 (70)	5,9	2,4	Sm#1 $\Sigma$ FICI=0,375
		7,7	3,8	Sm#3 $\Sigma$ FICI=0,265
		7,5	3,9	Sm#6 $\Sigma$ FICI=0,281
		2,4	4,7	Sm#7 $\Sigma$ FICI=0,375
		2,7	2,9	Sm#9 $\Sigma$ FICI=0,312
		6,3	3,1	Sm#10 $\Sigma$ FICI=0,187
		6	6	Sm#20 $\Sigma$ FICI=0,125
<i>P. aeruginosa</i>	4 (57)	7	4,2	Pa#1 $\Sigma$ FICI=0,375
		3,4	2,3	Pa#5 $\Sigma$ FICI=0,156
		6,7	4,1	Pa#14 $\Sigma$ FICI=0,375
		7,2	3,7	Pa#18 $\Sigma$ FICI=0,266
<i>A. baumannii</i>	5 (56)	3,1	7,3	Ab#2 $\Sigma$ FICI=0,25
		3,3	5,3	Ab#4 $\Sigma$ FICI=0,094
		3,1	7,3	Ab#6 $\Sigma$ FICI=0,375
		2,7	4,8	Ab#11 $\Sigma$ FICI=0,375
		3,6	5,5	Ab#12 $\Sigma$ FICI=0,375

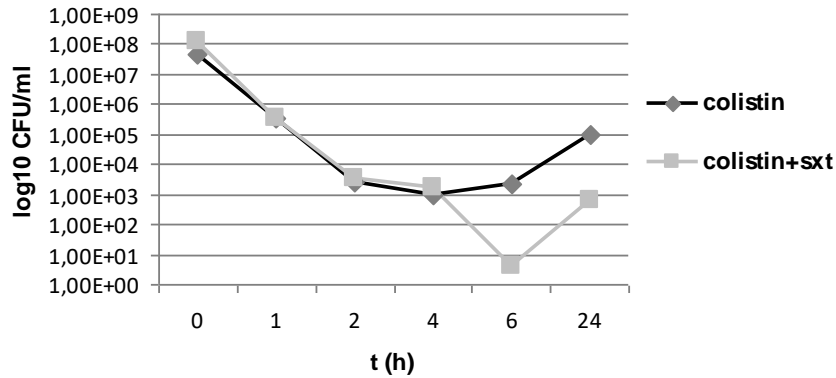
*Stenotrophomonas maltophilia* 6.



*Acinetobacter baumannii* 12.



*Pseudomonas aeruginosa* 1.



5. ábra: Három törzs TKA eredménye, szinergén hatású colistin+SXT kombináció esetén. A *S. maltophilia* és *P. aeruginosa* törzseken 6 óra után, az *A. baumannii* törzseken 24 óra után volt észlelhető a kombináció szinergén hatása.

#### 4.4. Rezisztencia gének vizsgálatának eredménye

A rezisztencia gének vizsgálatát 27 törzsön végeztük el. (Három SXT rezisztens izolátum a tárolás során elpusztult.) A *sul1* gént 25 törzsben, a *sul2*-t két törzsben detektáltuk. Mindkét génre egyik törzs sem volt pozitív. Hét törzs (23%) hordozott class 1 integront, az integráz-specifikus primerekkel végzett PCR vizsgálat alapján.

#### 4.5. A klinikai adatok elemzésének eredményei

A 100 kórokozó izolátum klinikai háttérének elemzésére került sor. A törzsek 70%-a intenzív osztályon kezelt betegek mintáiból került izolálásra. A betegek 62%-ának pneumóniája volt, 12 esetben légzési elégtelenséggel. Szepszis 46 betegnél alakult ki, 23 esetben a septicus sokk vagy több szervi elégtelenség súlyosságát elérve. A septicus esetekből a *S. maltophilia* 12 esetben lett megnevezve etiológiai ágensként. Alapbetegségként COPD 19 betegnél, malignus daganat szintén 19 betegnél állt fenn. Kilenc beteg volt immunszuppresszált, közülük hárman tüdőtranszplantáltak. A klinikai adatokat és azok halálozással való összefüggését a 9. táblázat mutatja be.

A teljes, kórházon belüli halálozási ráta 45% volt. A fatális esetek 25%-ában a *S. maltophilia* fertőzésnek közvetlen szerepe volt a halálozásban. Húsz beteg egyéb baktériumok ellen hatékony antibiotikum terápiát kapott, de a *S. maltophilia* ellen is hatékonyat nem. Közülük 13 beteg meghalt. A 11 colistinnel kezelt beteg közül kilencen meghaltak. A 29 SXT-vel kezelt beteg közül heten hunytak el. Hat beteg kapott ciprofloxacint (5 beteg meghalt), 17 beteg moxifloxacint (3 beteg meghalt), 16 beteg levofloxacint (7 beteg meghalt) és egy beteg tigeocyclint (elhunyt).

A halálozás szignifikáns összefüggést mutatott az intenzív terápiás kezeléssel, a gépi lélegeztetéssel, a vazopresszor terápiával, a sokszervi elégtelenséggel (MOF) és a centrális vénás kanül viseléssel. Kor és nem szerinti korrekció után is szignifikáns maradt a változók összefüggése a halálozással. A logisztikus regresszióval végzett többváltozós analízis alapján a változók közül kettő: a centrális vénás kanül viselés (OR: 0,15, 95% CI: 0,03-0,59,  $p=0,007$ ) és a centrális kanül mellett alkalmazott vazopresszor terápia (OR: 0,23, 95% CI: 0,08-0,65,  $p=0,006$ ) bizonyult a letalitás független rizikófaktorának.

A *S. maltophilia* fertőzött betegek fehérvérsejt szám értékei 0,05-37,7 G/l között változtak, 11,2 G/l medián értékkel. A CRP értékek 0,4-423 mg/l (medián 86 mg/l), míg a procalcitonin értékek 0,15-100  $\mu\text{g/l}$  (medián 1,6  $\mu\text{g/l}$ ) között változtak. A laboratóriumi értékeket a mikrobiológiai vizsgálathoz történt mintavétel időpontjában levett vérmintákból mérték. Ha a mintavétel napján nem volt a betegnek fehérvérsejt szám, CRP vagy procalcitonin eredménye, akkor a mintavétel előtti legközelebbi időpontban (legfeljebb két napon belül) mért értékek kerültek a vizsgálatba.

9. táblázat: A 100 kórokozó *S. maltophilia* törzs klinikai adatainak összefoglalása, predisponáló tényezők szerint. A p értékek meghatározása  $\chi^2$  teszttel vagy Fisher teszttel történt. A p <0,05 értékek vannak kiemelve.

	Meghalt (n=45) n (%)	Gyógyult (n=55) n (%)	p érték
Kor (év) medián (tartomány)	67 (0-88)	62 (0-88)	-
Férfi	23 (51,1)	35 (63,6)	0,29
Malignus hematológiai betegség	3 (6,6)	3 (5,4)	0,31
Előrehaladott malignus szolid tumoros betegség	10 (22,2)	8 (14,5)	0,54
Diabetes mellitus	16 (35,5)	16 (29,1)	0,22
Szteroid terápia	4 (8,8)	8 (14,5)	0,31
Kemoterápia	4 (8,8)	11 (20)	0,2
Neutropenia (<0,5 G/l)	5 (11,1)	2 (3,6)	0,24
Traszplantáción átesett	0	5 (9,1)	-
Krónikus szívbetegség	15 (33,3)	18 (32,7)	0,88
Krónikus vesebetegség, hemodialízis	10 (22,2)	5 (9,1)	0,12
Krónikus tüdőbetegség	13 (28,8)	14 (25,4)	0,87
Krónikus májbetegség	5 (11,1)	7 (12,7)	0,95
Hipertonia	30 (66,6)	25 (45,4)	0,05
Intenzív terápiás ellátás	43 (95,5)	32 (58,2)	<b>0,00005</b>
Vazopresszor terápia	26 (57,7)	8 (14,5)	<b>0,00001</b>
Centrális vénás kanül viselés	42 (93,3)	29 (52,7)	<b>0,00001</b>
Gépi lélegeztetés	41 (91,1)	28 (50,9)	<b>0,00004</b>
Súlyos szepszis, szепtikus sokk, MOF	23 (51,1)	5 (9,1)	<b>0,00001</b>
Nem <i>S. maltophilia</i> véráram fertőzés	15 (33,3)	9 (16,3)	0,08
<i>S. maltophilia</i> véráram fertőzés	12 (26,6)	13 (23,6)	0,9
Műtét a megelőző egy hónapban	18 (40)	12 (21,8)	0,08
Polimikróbás fertőzés	35 (77,7)	33 (60)	0,09

A *S. maltophilia* mellett a minták 68%-ában egyéb kórokozó is identifikálásra került. Ezen izolátumok számát és eloszlását a 10. táblázat mutatja be.

10. táblázat: A *S. maltophilia* törzsekkel egyidejűleg izolált mikrobák száma és eloszlása.

\* *Alcaligenes faecalis*, *Achromobacter xylosoxidans*, *Pseudomonas fluorescens*

\*\* *Proteus mirabilis*, *Serratia marcescens*, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*,

*Klebsiella oxytoca*, *Enterobacter aerogenes*, *Enterobacter cloacae*

Izolátumok	Kórokozók (n=100)	Kolonizálók (n=60)
	n	n
<b>Gram-negatív baktériumok</b>		
<i>Acinetobacter baumannii</i>	7	1
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	24	7
egyéb nem fermentáló*	0	3
<i>Enterobacterales</i> **	17	13
<b>Gram-pozitív baktériumok</b>		
koaguláz-negatív <i>Staphylococcus spp.</i>	4	9
<i>Staphylococcus aureus</i>	8	7
<i>Enterococcus spp.</i>	10	8
<i>Candida spp.</i>	36	6

## 5. Megbeszélés

A *S. maltophilia* fertőzések növekvő incidenciája az elmúlt két évtizedben számos áttekintő közlemény egységes megállapítása. Csak a Semmelweis Egyetem Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Laboratóriumának adatait figyelembe véve, az elmúlt kilenc évben a *S. maltophilia* izolátumok aránya lényegében nem változott: 0,6-2,5% között ingadozott. A 2009 előtti éveket is magába foglaló, hosszabb periódust elemezve és több diagnosztikai centrum eredményeit összesítve feltehetően a fentivel megegyező eredményt kapnánk.

Felmerül a kérdés, hogy a diagnosztikai módszerek változása, elsősorban a MALDI-TOF MS alapú identifikálás befolyásolta-e az azonosított *S. maltophilia* izolátumok számát. Több ritkábban előforduló, nem fermentáló Gram-negatív baktérium, például *Ralstonia* vagy *Pandorea* fajok esetében az új technika az izolátumok számának emelkedéséhez (sőt, egyáltalán azonosításukhoz) vezetett, de *S. maltophilia* esetében ez nem áll fenn. A fenti adatok alapján MALDI-TOF MS-sel arányaiban nem került több *S. maltophilia* azonosításra. A korábban alkalmazott, a telepmorfológia megfigyelésén, néhány egyszerű biokémiai próbán és az imipenem korong preszumptív diagnosztikai értékén alapuló identifikálás kiegészítve az automata identifikáló rendszerrel a *S. maltophilia* pontos azonosítását tette lehetővé. Ezt a törzsek utólagos MALDI-TOF MS vizsgálata bizonyította. A 160 vizsgált izolátumból csak négy esetben találtunk eltérést a két identifikálási módszer között. Egy korábban *S. maltophiliként* azonosított törzs a MALDI-TOF MS módszerrel *A. xylooxidans*-nak bizonyult. Három, kifejezetten mukoid telepeket képző törzsből pedig nem sikerült megfelelő tömegspektrumot felvenni, így a MALDI-TOF MS elemzés eredménytelen maradt. A *P. hibiscicola*, *P. beteli* és *P. geniculata* egyaránt a *Stenotrophomonas* rRNS törzságba tartoznak, a *Stenotrophomonas* genusba taxonómiai átsorolásra kerültek, ma a *S. maltophilia* szinonimáinak tekinthetők (169, 170).

Az ERIC-PCR a pulzáló mezejű gélelektroforézissel és a ribotipizálással megegyező hatékonyságú molekuláris epidemiológiai tipizáló módszer *S. maltophilia* esetén. Előnye, hogy egyszerű, könnyen kivitelezhető, relatíve gyors, alacsony költségű és kevésbé eszközigényes metodika, ugyanakkor diszkrimináló ereje kiváló. Hátránya, hogy sok terméket generál (a vizsgált törzsekben minden esetben hat felett volt) és műtermékek is megjelenhetnek. Az ERIC-PCR eredmények értékeléséhez nincs

egységes útmutató. Egyes közleményekben már egy sáv eltérés alapján is különbözőnek ítélték meg a vizsgált izolátumokat, mások a generált dendrogramm és a 90% feletti hasonlósági koefficiens alapján állapították meg az izolátumok azonosságát (166). Megfelelő szoftver hiányában ERIC-PCR eredményeinket szabad szemmel értékeltük és korábbi közleményeket alapul véve ítéltük a törzseket különbözőnek két vagy több sáv eltérése esetén. Az értékelést segítette, hogy az egy klinikáról származó izolátumokat ugyanazon gélben, időrendi sorrendben egymás mellé rendezve elektroforetizáltuk, így az azonosságok feltűnőek, relatíve könnyen megítélhetőek voltak.

A MALDI-TOF MS korlátokkal ugyan, de gyors és költséghatékony tipizáló módszerként is használható a bakteriológiában. A tömegspektrumok alapján kialakuló csoportok klonális összefüggésre hívhatják fel a figyelmet. *Stenotrophomonas maltophilia* törzsek esetében MALDI-TOF MS alapú epidemiológiai vizsgálatról egy közlemény számol be. Ennek alapján a módszer jól használható a baktérium járványtani vizsgálatához, azonban következtetésüket 35 törzs alapján vonták le, melyből 28 egy klónba tartozott (171). Az általunk vizsgált törzsek tömegspektrumaiból generált dendrogramban az ERIC-PCR genotípusok nem volt fellelhetőek, mint alcsoportok. Nagyszámú törzset vizsgálva, melyben csak kis, 2-6 tagú genotípuscsoportok vannak, a tömegspektrum szerinti felbontásnak nincs elég epidemiológiai diszkrimináló ereje.

A *gyrB* gén szekvenciája alapján a *S. maltophilia* komplex különböző csoportokra osztható, melyek antibiotikum rezisztencia profiljukban különböznek egymástól (172). Ehhez hasonlóan feltételezhető, hogy a *S. maltophilia* törzsek MALDI-TOF fehérje tömegspektruma is lehetőséget ad egymástól antibiotikum érzékenységükben, adott rezisztencia mechanizmusukban eltérő alcsoportokat azonosítására. Erre vonatkozó irodalmi adat egyelőre nem olvasható.

### 5.1. Az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok eredményeinek diszkussziója

Az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok eredményeinek értékelésekor figyelembe kell venni, hogy az európai ajánlás csak az SXT-re vonatkozóan ad meg klinikai határértéket. Egy 2012-ben megjelent kiegészítő dokumentumban az EUCAST ugyan megnevezte azon antibiotikumokat, melyek alternatívát jelenthetnek, de ezekhez fajspecifikus érzékenységi határértékeket nem rendelt (4). Az amerikai ajánlás szerint az

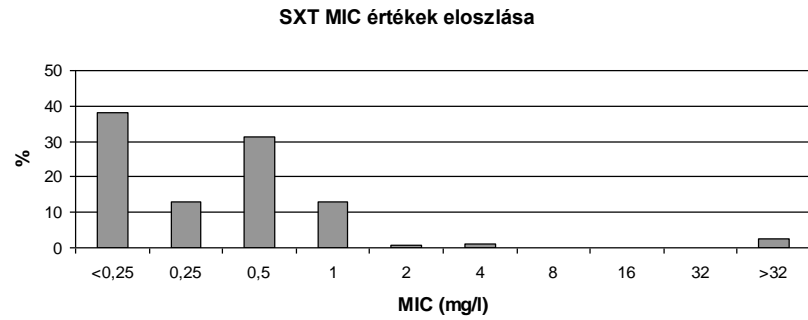
SXT mellett a ceftazidim, a levofloxacin, a minocyclin, a ticarcillin-klavulánsav és a kloramfenikol érzékenységi vizsgálata javasolt. A CLSI ajánlásban a *S. maltophilia* specifikus érzékenységi MIC határértékek mellett az SXT, minocyclin és levofloxacin esetében korong diffúziós átmérők is meghatározottak az interpretációhoz.

Az antibiotikum érzékenységi vizsgálatok eredményeit összevetettük az irodalmi adatokkal. Az SXT a nemzetközi eredményekkel megegyezően a leghatékonyabb antibiotikumnak bizonyult. A vizsgált 160 törzsből mindössze négy (2,5%) volt rezisztens az elsőként választani ajánlott gyógyszerre. Az alacsony rezisztencia ráta az európai és észak-amerikai adatokkal (2-10%) egyezik (1, 2, 123, 173). A magyar Nemzeti Nosokomiális Surveillance Rendszer (NNSR) adatai szerint az MDR *S. maltophilia* éves incidenciája 2005-2010 között minden évben 0,1/100000 kórházi beteg nap alatt volt (174). Érdekes összevetni a vizsgált törzsek MIC eloszlásait az EUCAST által vizsgált *S. maltophilia* MIC hisztogramjaival. Az SXT MIC értékek bimodális eloszlása az EUCAST 2188 törzs vizsgálatával kapott eredményein látható, míg az általunk vizsgált törzsek esetében, a relatív alacsony elemszám miatt, éppen csak sejthető (6. ábra és 7. ábra). Az érzékenységi határérték körüli, 4-8 mg/l MIC értékű törzsek száma alacsony. Ez a később tárgyalt, efflux pumpák által indukálható SXT rezisztencia szempontjából fontos eredmény, hisz a jelenség a *S. maltophilia* törzsek egyelőre igen kis részét érintheti. Több antibiotikumhoz hasonlóan SXT esetében is megállapították, hogy a biofilmben növekvő törzsek érzékenysége lényegesen alacsonyabb (10%) a planktonikus fázisú baktériumokhoz képest. Ezt olyan CF betegekből izolált *S. maltophilia* törzsek vizsgálatával igazolták, melyek körében az SXT rezisztencia aránya magasabb (50%) az általános rezisztencia értéknél (138). Bár a vizsgált kórokozó törzsek nagyrésze légúti mintákból és részben krónikus betegek mintáiból származott, a baktériumok biofilm képzését, illetve azok antibiotikum érzékenységét biofilm fázisban nem vizsgáltuk.

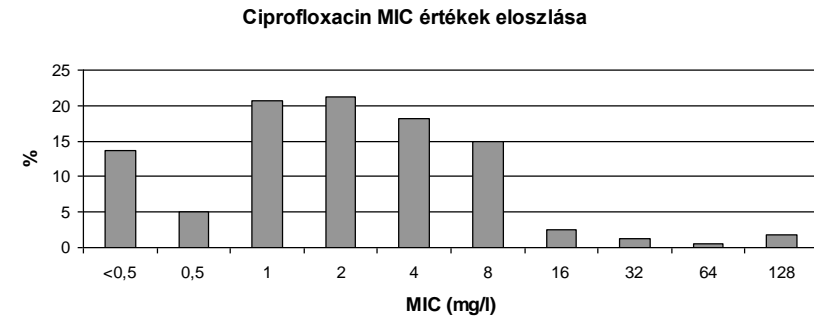
A fluorokinolonok alternatívát jelentenek a *S. maltophilia* fertőzések kezelésében. A levofloxacin vagy moxifloxacin monoterápia az SXT terápiával egyező hatékonyságú lehet (130, 131). A ciprofloxacin esetében a nem-érzékeny törzsek magas arányát észleltük. Ezzel szemben a moxifloxacinra és levofloxacinra nagyfokú *in vitro* érzékenységet mutattak az izolátumok. A moxifloxacin esetében kapott alacsony MIC értékek kiemelendők.



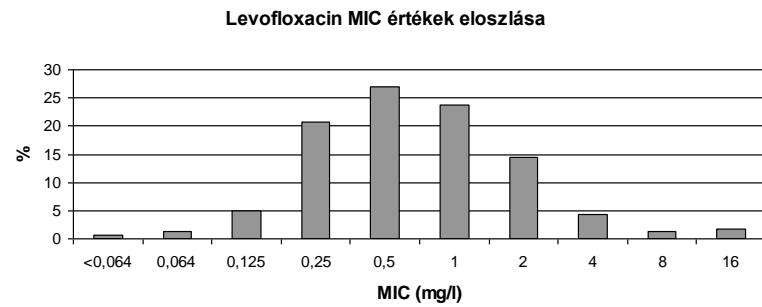
a)



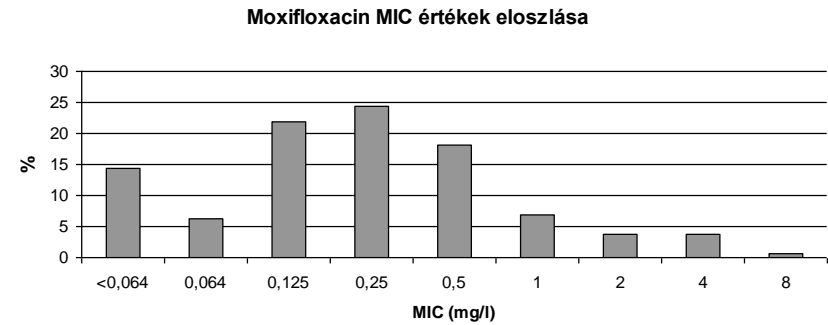
b)



c)

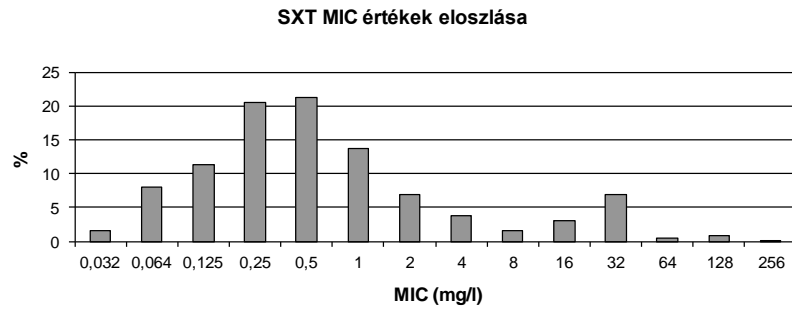


d)

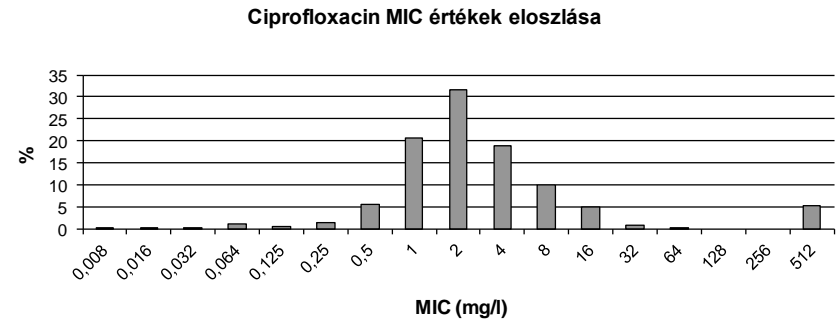


6. ábra: A vizsgált *S. maltophilia* törzsek SXT, ciprofloxacin, levofloxacin és moxifloxacin MIC értékeinek százalékos eloszlása.

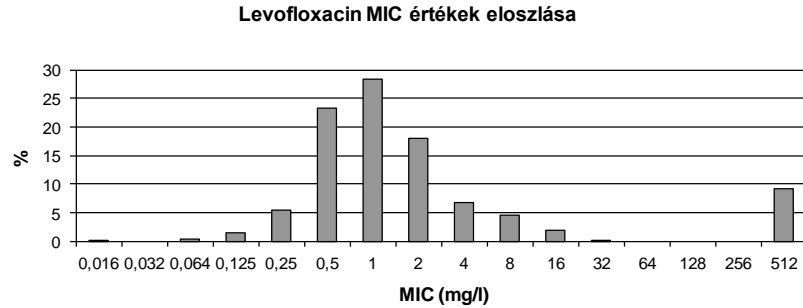
a)



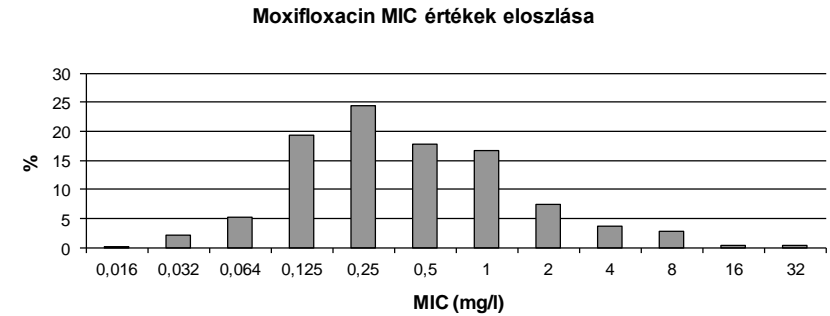
b)



c)



d)



7. ábra: A *S. maltophilia* ECOFF értékeinek megállapításához használt törzsek SXT, ciprofloxacin, levofloxacin és moxifloxacin MIC értékeinek százalékos eloszlása, az EUCAST alapján.

A három fluorokinolon közül más vizsgálat is a moxifloxacin MIC értékét találta a legalacsonyabbnak (1, 5, 123). Az ECOFF értékek megállapításához használt törzseket (továbbiakban EUCAST törzsek) tekintve 1 mg/l MIC felett, az általunk vizsgálatok nézve már 0,5 mg/l MIC felett lényegesen csökken a *S. maltophilia* törzsek száma. Az EUCAST törzsei között egy jelentős csoport magas, 512 mg/l MIC értéket mutatott, míg az általunk vizsgált törzsek körében 16 mg/l volt a legmagasabb érték. Ciprofloxacin esetében az EUCAST vizsgálatához hasonlóan mi is detektáltuk a magas fokú rezisztenciával bíró csoportot. A ciprofloxacin érzékeny törzsek mindegyike levofloxacinra és moxifloxacinra is érzékeny volt. A moxifloxacin és levofloxacin MIC értékek jól korreláltak egymással. Keresztérzékenységet a két antibiotikum között az izolátumok 88%-ában állapítottunk meg. Az egymástól eltérő interpretációt mutató izolátumok esetében is csak az érzékeny és mérsékelten érzékeny kategóriák közt volt változás.

Az EUCAST 2017-ben új nem faj-specifikus határértékeket adott ki a fluorokinolonokra. A korábbi értékeket egy felező léptékkal csökkentették, moxifloxacin esetében a rezisztencia határértéke >0,25 mg/l lett. A fluorokinolon érzékenységet az új ajánlás szerint interpretálva lényegesen eltérő eredményt kapunk. Így a kolonizáló törzsek között ciprofloxacin érzékeny nincs, a kórokozó törzsek csoportjának pedig csak 15%-a érzékeny. Levofloxacinra a kolonizáló baktériumok 30%-a, a kórokozók 36%-a érzékeny. A moxifloxacin érzékenység a kolonizáló csoportban 31%-ra, a kórokozó csoportban 40%-ra csökkent. Az új, látszólag rosszabb érzékenységi eredményeket azonban annak tükrében kell értékelni, hogy *S. maltophilia* specifikus határértékek továbbra sincsenek definiálva, illetve a *P. aeruginosa* ciprofloxacin érzékenységi határértéke továbbra is 0,5 mg/l, a levofloxaciné pedig továbbra is 1 mg/l, ami megegyezik a korábban használt nem faj-specifikus érzékenységi határértékekkel.

Irodalmi adatok alapján egyik fluorokinolonnak sincs baktericid hatása a *S. maltophiliára* (175). A terápiás szérum koncentrációjú (1,8 mg/l) moxifloxacin az érzékeny *S. maltophilia* törzsek jelentős csíraszám csökkenését eredményezi ugyan az inkubálás első 6 órája alatt, de azt a 24. óráig visszánövekedés követi (128). Ugyanakkor a levofloxacin és moxifloxacin terápiás értékét emeli, hogy képesek a *S. maltophilia* képezte biofilm megbontására és a biofilm állomány csökkentésére (1, 2,

138). A levofloxacin inhalációs formában történő alkalmazásának előnye, hogy a légutakban elérhető koncentráció (50-100 mg/l) magas, a vizsgálatunkban kapott legmagasabb MIC érték (16 mg/l) lényegesen meghaladja.

Bizonyos szubinhibitoros koncentrációjú antibiotikumra, mint stresszre egyes baktériumok fokozott biofilm képzéssel reagálnak (például a *P. aeruginosa* tobramycinre, gentamicinre, imipenemre, norfloxacinra, ciprofloxacinra, az *A. baumannii* imipenemre) (176). A stressz reakció része a megváltozott felszíni struktúra is, mellyel könnyebben tapadnak meg abiotikus vagy természetes felszíneken (177). A magas arányú és magas fokú ciprofloxacin rezisztencia alapján, és a ciprofloxacin egyéb fertőzésekben gyakori alkalmazása miatt a *S. maltophilia* könnyen szubinhibitoros ciprofloxacin környezetbe kerülhet. A moxifloxacin már szubinhibitoros koncentráció is képesek a *S. maltophilia* biofilm képzésének gátlására, de a ciprofloxacin esetében ez nem bizonyított. Ha a *P. aeruginosa*hoz hasonlóan a *S. maltophilia* is fokozott biofilm képzéssel reagál a szub-MIC értékű ciprofloxacin hatásra, az más antibiotikum, így az SXT hatékonyságának romlását vonhatja magával. A ciprofloxacin stressz hatására külső és belső membrán részeket is tartalmazó, citoszol fehérjékkel teli mikrovezikulák válnak le a baktériumról. Emellett az antibiotikum bakteriofágok kiszabadulását indukálja, ezzel megalapozva a horizontális – akár fajok közötti – géntranszfer lehetőségét (178). Tekintve a *S. maltophilia* izolátumok jellemzően polimikróbás eredetét, ez az antibiotikum rezisztencia terjedéséhez vezethet.

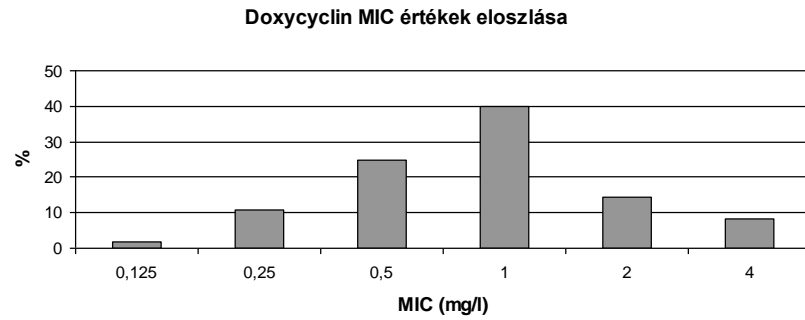
A fluorokinolon rezisztencia emelkedése a *S. maltophilia* esetén is megfigyelt (179). A monoterápia alatt kialakuló rezisztencia aránya fluorokinolonok esetén 30%, míg SXT esetén 20% volt egy vizsgálatban (16). Az indukált rezisztencia elkerülése érdekében kombinált, lehetőleg szinergén hatású antibiotikum terápia ajánlott (1, 6, 130, 180).

Magyarországon minocyclin nincs forgalomban (egyedi importtal beszerezhető), ezért helyette a doxycyclin *in vitro* hatását vizsgáltuk. A *S. maltophilia* ECOFF értékét használva az interpretáláshoz, minden törzs doxycyclinre érzékenynek mutatkozott. Mivel egy ECOFF érték és egy klinikai érzékenységi határérték szignifikánsan különbözhet egymástól, a 100%-os *in vitro* érzékenységi eredmény alapján a doxycyclint megbízható terápiás alternatívaként megnevezni *S. maltophilia* ellen hiba lenne. A doxycyclin rezisztencia arányát (a minocyclinhez hasonlóan) egy spanyol vizsgálat is

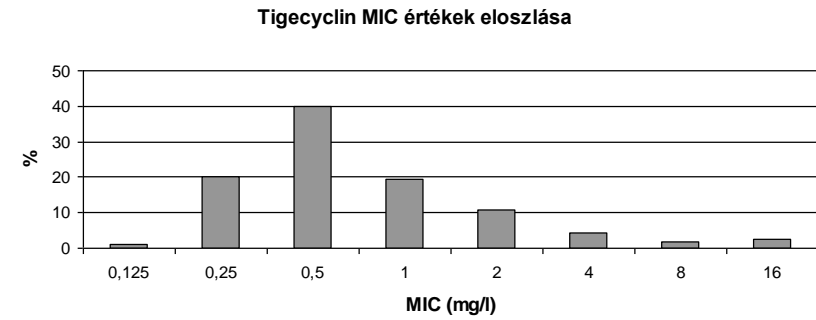
kiemelkedően alacsonynak, 1 % alattinak találta (181). Az EUCAST által elemzett törzsek MIC értékeinek eloszlása hasonló az általunk vizsgáltakéhoz, de EUCAST adatai 4 mg/L MIC feletti baktériumokat is mutatnak (8. ábra a, c). Egy 2013-ban gyűjtött, 154 európai izolátummal végzett vizsgálatban a minocyclin bizonyult a leghatékonyabb antibiotikumnak a *S. maltophilia* ellen, MIC90 1 mg/l értékkel (98,7 % érzékenység). A doxycyclin hatékonysága kevéssel maradt el a minocyclintól, MIC90 4 mg/l értékkel (94,8 % érzékenység) (182).

A tigecyclin *in vitro* hatása *S. maltophilia* törzseink ellen MIC50/MIC90 0,5/2 mg/l értékekkel írható le. Ez nemzetközi összehasonlításban néhány vizsgálat eredményével (Spanyolországban MIC50/MIC90 0,5-1,5 mg/l értékek) összhangban van, másoknál (Franciaországban MIC50/MIC90 2-8 mg/l, Taiwanon 2-4 mg/l értékek) alacsonyabb (123, 183, 184). Ahogy a 8. ábra b, d része mutatja, a MIC értékek eloszlása nagyban megegyezett az EUCAST által elemzett törzsek MIC eloszlásával. Az EUCAST nem faj-specifikus érzékenységi határértékeit használva, a kolonizáló törzsek 65%-a, míg a kórokozók 88%-a tigecyclinre nem-érzékenynek bizonyult. Az EUCAST *Enterobacteriaceae* specifikus határértékeit ( $E \leq 1$  mg/l,  $R > 2$  mg/l) alapul véve azonban a törzseknek csak 14%-, ill. 18%-a, a United States Food and Drug Administration (USFDA) *Enterobacteriaceae* specifikus határértékeit ( $E \leq 2$  mg/l,  $R > 8$  mg/l) használva pedig 10%-, ill. 4%-a bizonyult tigecyclinre nem-érzékenynek. A bizonytalan interpretáció miatt a tigecyclin szerepe a *S. maltophilia* fertőzések kezelésében egyelőre tisztázatlan. További, klinikai vizsgálatokra lenne szükség. Szinergén hatásáról az SXT-vel és a colistinnel ugyanakkor már beszámoltak (123, 141).

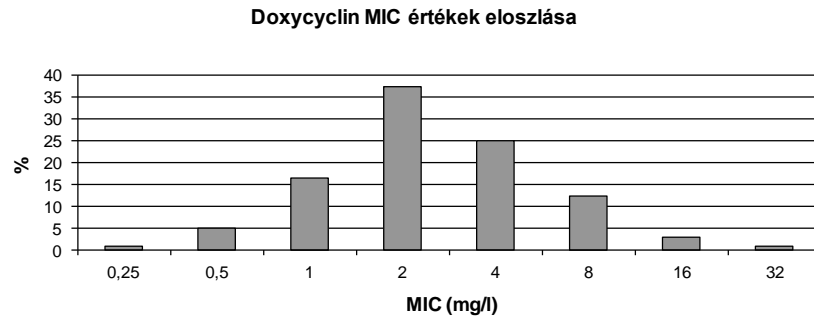
a)



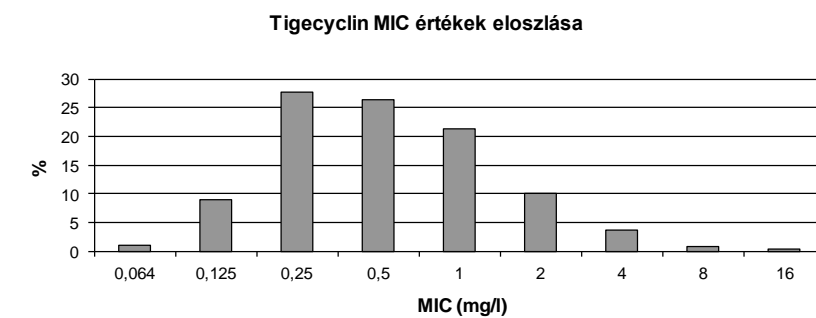
b)



c)



d)



8. ábra: Fent: A vizsgált *S. maltophilia* törzsek tigecyclin és doxycyclin MIC értékeinek százalékos eloszlása. Lent: A *S. maltophilia* ECOFF értékeinek megállapításához használt törzsek tigecyclin és doxycyclin MIC értékeinek százalékos eloszlása, az EUCAST alapján.

A colistin érzékenység vizsgálatának metodikájára csak 2016-ban tett ajánlást az EUCAST (185). Az általunk végzett vizsgálat módszere az ajánlásnak (colistin-szulfát vizsgálata kationnal kiegészített Mueller-Hinton levesben, polisztrén lemezen, additív anyagok nélkül) megfelelt. A colistin érzékenységi határértékét 2017-ban a korábbi 4 mg/l-ről 2 mg/l-re csökkentették. Ez eredményeinken gyakorlatilag nem változtatott. Az új határérték szerint interpretálva a kórokozó törzsek 98%-a, a kolonizáló törzsek 88%-a volt colistin rezisztens. A colistin érzékenység meghatározásának eltérő metodikai kapcsán megjelent számos közlemény miatt eredményeink megerősítését kívántak. A 0,002 % poliszorbát 80 (P80) használata több vizsgálat módszerében szerepelt, mivel a felületaktív anyag megakadályozza a colistin adhézióját a műanyag lemezek felületéhez (186, 187). A CLSI külön colistin érzékenységi céltartományokat adott meg a referencia törzsek P80 mellett és a nélkül mért MIC értékeire. A 2012-2016 periódusban hemokultúra mintákból izolált *S. maltophilia* törzsek colistin érzékenységét ezért P80 mellett és a nélkül is elvégeztük. A P80 mellett mért MIC értékek 2-4 felező hígítási lépéssel alacsonyabbak voltak. Az összesen 117 izolátumból azonban csak 4 olyan volt, melyeknél a MIC értékek 2 mg/l alá csökkentek és így az eltérő metodika eltérő interpretációt eredményezett. Bizonyították, hogy 0,016% P80 önmagában is gátolja a baktérium növekedését (és biofilm képzését) (188). A colistin érzékenység meghatározásához használt 0,002% P80 ilyen hatására vonatkozó irodalmi adat hiányában további vizsgálatokat végeztünk. A vizsgált törzsek növekedése 0,002% P80 tartalmú Mueller-Hinton levesben, 37°C-on történő 24 órás inkubáció után megegyezett a P80-mentes táplevesben elért növekedéssel, a növekedést 96 mélyedést tartalmazó lemezben, ELISA lemez olvasóval (BioRad PR3100, 450/620 nm) értékelve. Összegezve, a colistin gyenge *in vitro* hatásának bizonyult törzseink ellen, az alkalmazott vizsgálati módszertől függetlenül.

Az irodalomban jelentősen eltérő adatokat találhatók a *S. maltophilia* colistin érzékenységéről. A rezisztenciát 7-100%-ban állapítják meg, a különböző metodikáktól és érzékenységi határértékektől függően (1, 189, 190). Az efflux pumpa gátló szerek közül a cyanid-3-klorofenilhidrazon növeli a *S. maltophilia* colistin érzékenységét, feltehetően a külső membrán negatív töltésének erősítése által (191). A megfigyelésnek a cyanid-3-klorofenilhidrazon citotoxicitása miatt klinikai relevanciája ugyan nincs, de egy jövőbeli gyógyszerfejlesztésnek alapjául szolgálhat. Eredményeink alapján a

colistin monoterápiaként nem ajánlott *S. maltophilia* fertőzések kezelésére. Kombinációban mutathat szinergén hatást egyéb antibiotikumokkal, ahogy ezt vizsgálataink is igazolták (141).

Az SXT-rezisztens izolátumok többnyire kolonizálóként voltak jelen a betegekben. Ennek ellenére az esetükben megfigyelt magasabb rezisztencia ráta miatt komoly kihívást jelenthetnek. Az MDR törzsek magasabb antibiotikum rezisztenciája megegyezik más vizsgálatok eredményeivel. A levofloxacinra és moxifloxacinra csak a törzsek 37%-a mutatott érzékenységet, szemben a SXT-érzékeny törzsek 75-90%-os érzékenységgel. Ennek ellenére a fluorokinolonok terápiás alternatívát jelentenek. A hét SXT-rezisztens *S. maltophilia* fertőzött betegből négy esetben levofloxacin vagy moxifloxacin terápiát alkalmaztak, sikerrel. A moxifloxacin jelentősen időfüggő gátló hatását SXT-rezisztens *S. maltophilia* estén is bizonyították (192). Az ECOFF értéken alapuló interpretáció szerint az MDR *S. maltophilia* izolátumok körében is a doxycyclin bizonyult a leghatékonyabb antibiotikumnak. Ez egyezik egy korábbi, CF betegek SXT-rezisztens *S. maltophilia* izolátumain végzett vizsgálat eredményével (120). Kínai szerzők az SXT érzékeny törzsek 95%-át, míg az SXT rezisztens törzsek 86%-át találták érzékenynek minocyclinre (128). Saját vizsgálatunk ehhez hasonló eredményt mutat doxycyclin esetében. A CLSI *S. maltophilia* specifikus ajánlásában szereplő kloramfenikolra csak a vizsgált törzsek 13%-a mutatkozott érzékenynek. Súlyos mellékhatásai miatt alkalmazása még MDR *S. maltophilia* esetén is igen megfontolandó.

Mikrodilúcióval végzett vizsgálatunk alapján valamennyi SXT-rezisztens *S. maltophilia* törzs ceftazidim rezisztensnek bizonyult. Egy átfogó európai vizsgálat döntően *S. maltophilia* érzékeny törzseket vizsgálva hasonló eredményre jutott, a ceftazidim MIC50 és MIC90 értéke is elérte a 32 mg/l-t (182). Eredményeink újbóli értelmezését tette szükségessé a ceftazidim-avibaktám és a ceftolozan-tazobaktám megjelenése a Magyarországon forgalomban lévő antibiotikum arzenálban. Az avibaktám gátló hatása az MBL termelő Gram-negatív baktériumok esetében csekély, így az enzimet *ab ovo* termelő *S. maltophilianál* a ceftazidim-avibaktám kombináció hatása a ceftazidim hatásától elméletileg szignifikánsan nem térhet el. Ezt egy 41 klinikai törzsszel végzett vizsgálat igazolta: a törzsek 68%-a volt ceftazidim rezisztens 64/>64 mg/l MIC50/MIC90 értékekkel és 66%-a ceftazidim-avibaktám rezisztens



32/>32 mg/l MIC50/MIC90 értékekkel, mikrodilúciós vizsgálattal (193). A tazobaktám L2-cefalosporináz gátló hatása miatt a ceftolozan-tazobaktám hatékonysága a ceftazidimhez képest jobbnak bizonyult egy 78 törzsön végzett vizsgálatban (2-4 hígítási fokkal alacsonyabb MIC értékek), mégis a ceftolozan-tazobaktámot, akárcsak a ceftazidim-avibaktámot, a *S. maltophilia* ellen általában hatástalannak tartják (194-196). A 2017-ben a Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Laboratóriumban izolált SXT-rezisztens *S. maltophilia* izolátumok (n=7) vizsgálatával mind korábbi eredményeinkkel, mind a fenti közleménnyel látszólag ellentétes eredményt kaptunk. A ceftazidim-avibaktám és ceftolozán-tazobaktám érzékenység vizsgálatát csak Etest® módszerrel volt lehetőségünk elvégezni, korlátozott számban. A ceftazidim érzékenységi vizsgálatot az előbbi metodikai korlát miatt szintén grádiens diffúziós módszerrel végeztük. A vizsgálat alapján valamennyi izolátum ceftazidim (MIC értékek 1-4 mg/l között), ceftazidim-avibaktám és ceftolozan-tazobaktám (MIC értékek 0,75-2 mg/l között) érzékenynek bizonyult, a ceftazidim-avibaktám esetében a 8 mg/l, a ceftolozan-tazobaktám esetében a 4 mg/l értéket érzékenységi határnak elfogadva. A ceftolozán-tazobaktámot egy 34 CF törzzsel végzett vizsgálat is hatékonynak találta az izolátumok 59%-ában (197). A két új antibiotikum MIC értékei konzekvensen egy felező hígítási fokkal voltak alacsonyabbak a ceftazidim MIC értékeknél. Az – elsősorban a ceftolozan-tazobaktám – gátlási zónában megjelenő telepek alapján 20 óra inkubáció elteltével két törzs esetén, 72 óra inkubáció után azonban már 6 törzs esetében feltételeztünk az antibiotikum heterorezisztenciát. A jelenség magyarázata lehet a korábbi eredményeinkkel való ellentmondásnak: a mikrodilúcióval végzett vizsgálat rezisztenciát mutat, ha a baktérium populáció egy töredék része ( $10^{-6}$ ) is rezisztens a vizsgált antibiotikumra, míg grádiens diffúziós teszt alapján a populáció antibiotikum érzékenynek bizonyul, néhány rezisztens teleppel. A ceftazidim heterorezisztencia a *B. cenocepacia* esetén ismert jelenség (198).

A SXT kivételével még mindig nem eldöntött, hogy *S. maltophilia* esetén az egyes antibiotikumokra való érzékenysége milyen metodikával kerüljön meghatározásra. Az EUCAST deklaráta, hogy számos tényező, például az inkubációs hőmérséklet, a táptalaj vagy a vizsgálati technika jelentősen befolyásolja a *S. maltophilia* antibiotikum érzékenységi vizsgálatának eredményét (4). A SXT és a doxycylin esetében bizonyított, hogy a rezisztencia vizsgálatok eredményei a

metodikától függetlenek és jobban reprodukálhatók, mint egyéb antibiotikumoknál (162). Ezen két gyógyszer kivételével hosszabb, 48 órás inkubáció után javasolt az eredményeket leolvasni és interpretálni. Vizsgálatunkban a 20 óra inkubáció után leolvasott MIC értékek kerültek interpretálásra, a CLSI módszertani ajánlásának megfelelően. Felmerül, hogy más-más módszereket és érzékenységi határértékeket kellene alkalmazni az infekció helyétől függően. Egy véráram fertőzésből izolált és egy CF vagy egyéb krónikus tüdőbeteg légúti mintájából kitenyésztett *S. maltophilia* esetében eltérő módszerek alkalmazása és a vizsgálati eredmények eltérő interpretációja lehetne indokolt (5). Elég az SCV fenotípusú törzsekre gondolni, melyek tenyésztésük első 48 órájában csak adaptálódnak és stacioner fázisukat még 80 óra elteltével sem érik el. Az antibiotikumok és a szervezet immunrendszere közti dinamikus interakcióval is számolni kellene. Az állatmodelleket alkalmazó vizsgálatok a klinikai mikrobiológiai diagnosztikában nem használhatók, az *in vitro* sejtkultúrán alapuló, neutrofil granulocytákkal végzett baktericid tesztek is nehezen. Az antibiotikum érzékenység meghatározásához használt táplevesek módosítása viszont egyszerű metodikai változtatás, mely egyes antibiotikumok esetében az *in vivo* vizsgálati eredményeket jobban megközelítő eredményt adhat. Egy közlemény tanulsága alapján a standard Mueller-Hinton levesben magas fokú azythromycin rezisztenciát mutató *S. maltophilia* 10% Luria-Bertani táplevessel kiegészített RPMI szövettenyésztő tápfolyadékban vizsgálva azythromycin érzékenységet mutat. A módosított táplevesben az azythromycin colistinrel szinergén baktericid hatással rendelkezett, míg a standard közegben ez a hatás nem mutatkozott (148).

## 5.2. Az SXT rezisztencia vizsgálati eredményeinek diszkussziója

Az SXT-rezisztens izolátumokban detektáltuk a rezisztencia leggyakoribb okát, a *sul1* és *sul2* géneket. A 25 *sul1* pozitív törzs közül csak hét volt class 1 integron pozitív. Ennek magyarázata lehet, hogy a class 1 integron 5' és 3' végződése eltértek az általunk használt *intI* specifikus primerektől, így az integron detektálatlan maradt.

*Sul* és *dfr* gének SXT érzékeny törzsekben is detektálhatók. Egy kínai tanulmány a vizsgált SXT érzékeny törzsek 46%-ában *sul1*, 10%-ában *sul2*, 1-4%-ukban különböző *dfr* géneket azonosított. Ez alapján valószínű, hogy az SXT rezisztencia több gén együttesének következménye. Bizonyították, hogy a kvaterner

ammóniumvegyületekkel szembeni rezisztencia génje, a *qacEΔ1* kapcsolódik a *sul1*-hez, így az SXT rezisztencia a kvaterner ammónium rezisztenciával együtt szelektálódik. Ennek kórház higiénés szempontból komoly jelentősége van, hiszen a kvaterner ammónium tartalmú dezinficiensek növelhetik az SXT rezisztencia gyakoriságát a kórházi környezetben. Az MDR, class I integron pozitív törzsek gyakrabban hordoznak rezisztencia gén kazettákat. Az egyszerre jelenlévő gének kiterjedt, kapcsolt keresztrezisztenciát eredményeznek (100).

Az általunk is detektált rezisztencia mechanizmus mellett a túlexpresszált SmeDEF és SmeVWX efflux pumpa is állhat az SXT-rezisztencia hátterében. A SmeDEF és SmeVWX efflux pumpák fokozott expressziója a fluorokinolon rezisztens klinikai izolátumokban gyakran előfordul. Mivel az SmeDEF működési foka a kinolon rezisztencia egyik fő meghatározója, feltételezik, hogy a kinolon kezelés, mely indukálja az efflux pumpa működését, indirekt módon a baktérium SXT iránti érzékenységét is csökkenti (199). E hipotézisnek olyan esetben lehet leginkább klinikai relevanciája, ha egy beteg valamilyen indikációval kinolon terápiát kap, miközben SXT-re mérsékelten érzékeny *S. maltophilia*val kolonizált. Ha a *S. maltophilia* SXT érzékenysége a klinikai érzékenységi határérték közelében van (4 mg/l, de az ilyen törzsek aránya alacsony, lásd 6. ábra a) és 7. ábra a)), a túlaktivált efflux pumpa következtében a kinolon kezelést megelőzően érzékeny törzs rezisztenssé válhat. Az SmeVWX pumpa működése nagyobb mértékben járul hozzá az SXT rezisztencia kialakulásához, ennek fokozott működését viszont inkább az SXT indukálja és kevésbé a kinolonok. Ezért az SXT kezelés alatt szelektálódott rezisztens törzsek esetében fokozott fluorokinolon rezisztenciára is számítani lehet.

A 2009-2017 közötti időszakban saját adataink szerint az SXT rezisztens törzsek aránya nem változott. Évente 4-12 volt azon beteg száma, akiknek mintáiból MDR *S. maltophilia* tenyésztett. A teljes kilenc éves periódusban összesen 81 különböző SXT-rezisztens *S. maltophilia* került izolálásra, az összesített rezisztencia ráta 1,9% volt. A stagnáló 2% körüli rezisztencia biztató tény, mely szerint sem hatékony szelekciós nyomás nem érvényesül, sem MDR klón vagy mobil genetikai elem effektíven nem terjed.

### 5.3. Az antibiotikum kombinációk eredményeinek diszkussziója

Kellő számú klinikai vizsgálat hiányában még mindig vita tárgya, hogy a kombinált antibiotikum kezelés *S. maltophilia* fertőzésben hatékonyabb-e a monoterápiánál. Súlyos invazív fertőzés vagy immunokompromittált beteg esetén a kombinált terápia ajánlott, míg további klinikai vizsgálatok alapján nem születik bizonyítékon alapuló javaslat. Ahol magas az SXT-rezisztens *S. maltophilia* prevalenciája, ott empirikus terápiaként is szóba jön kombinált kezelés, akár csak polimikróbás fertőzésekben vagy biofilm képző *S. maltophilia* törzsek ellen (138, 141). Extrém rezisztens *S. maltophilia* fertőzésekben jelenleg nincs más lehetőség, mint a kombinált antibiotikum terápia. Nagyszámú közlemény található az irodalomban *S. maltophilia* törzseken végzett antibiotikum szinergia vizsgálatokról, azonban csak néhány fókuszált kifejezetten az SXT-rezisztens izolátumokra (200). Különböző metodikákkal sokféle szinergén hatású antibiotikum kombinációt azonosítottak, többek közt azokat az általunk teszteltet is (117, 121, 201-204). Eredményeink alapján megerősítjük, hogy egy-egy antibiotikum kombináció szinergén hatása izolátum függő. Általános érvényű szabály egy adott kombináció hatásáról nem állapítható meg. Vizsgálatunk eredményei szerint a ceftazidim és a colistin a fluorkinolonokkal mutathat szinergiát. A colistint vagy a levofloxacint aeroszolizált formában alkalmazva a légutakban a szérum szinthez képest 4-5-ször magasabb koncentráció érhető el. Így az inhalációs formában adott antibiotikum az intravénás antibiotikummal kombinációban még akkor is hatékony lehet, ha az SBPI alapján az *in vitro* szinergia nem igazolódott (142).

A szinergia vizsgálatok metodikájára vonatkozó aranystandard nincs. Nincs két szinergia vizsgálat, mely pontosan ugyanazt az eredményt adná. Ezt saját vizsgálati eredményeink is igazolták. Ezért lehetőleg különböző metodikák párhuzamos alkalmazása, az *in vitro* eredmények összegzése és megfontolt interpretálása szükséges. Több módszer megegyező eredménye alapján leírt szinergia valószínűleg fennáll. A szinergia vizsgálatok klinikai relevanciája nem ismert, mivel egyelőre hiányoznak a klinikai kimenetelt elemző vizsgálatok. A CB módszerrel kimutatott szinergén hatást minden antibiotikum kombináció esetén kombinált Etest<sup>®</sup> módszerrel is igazolni tudtuk. Bár ez utóbbi metodika a napi rutin diagnosztikai gyakorlatban egyszerűbben elvégezhető, pontos kivitelezése azonban nagy precíziót igényel. Sok esetben

tapasztaltuk tűszúrásnyi telepek gyér növekedését a gátlási zónában, mely az eredmények értékelését megnehezíti. A kettős korong diffúziós módszer egyes esetekben (vizsgálatunkban a ceftazidim+levofloxacin vagy moxifloxacin esetén) jelezheti a szinergén hatást egy szűk közös gátlási zóna megjelenésével. Segíthet, hogy mely antibiotikum kombinációt érdemes kvantitatív eredményt adó metodikával továbbvizsgálni, de *S. maltophilia* izolátumok vizsgálatára sem szűrő -, sem diagnosztikus módszerként nem ajánlható.

A betegek karbapenem rezisztens bélbaktériumokkal és *A. baumannii*val vagy *P. aeruginosa*val való ko-kolonizációja magasabb antibiotikum rezisztencia - és halálozási rátával jár (205). Egyelőre tisztázatlan, hogy a természetes karbapenem rezisztenciával bíró *S. maltophilia* a fenti két baktériumra pontosan milyen hatással van és megállapítható-e esetükben is az előző összefüggés. Vizsgálatunkban a ko-kolonizált vagy -fertőzött betegek fele meghalt. Ez nem különbözött a 100 *S. maltophilia* fertőzés kapcsán talált 45%-os össz kórházon belüli letalitástól.

A colistin aktivitása detergens szerű hatásán alapul. A bakteriális külső membrán foszfolipidjeivel és lipopoliszacharidjával interakcióba lépve a külső membrán dezintegrálásához, permeabilitás változásához vezet. Így lehetővé teszi nagy molekulaméretű vagy hidrofób anyagok, egyéb antibiotikumok – például glikopeptidek vagy a trimetoprim – baktériumba jutását (165). A colistin+SXT hatásának vizsgálata számos korábbi tanulmány tárgya volt, de e vizsgálatok mindig egy-egy adott kórokozóra vonatkozóan elemezték a kombinációt. Mi a betegek egyazon mintájából izolált, háromtagú multirezisztens baktérium csoportját vontuk vizsgálat alá. Egy közlemény a colistin+SXT szinergén hatásáról számol be a vizsgált *S. maltophilia* törzsek 47%-ában (200). Ez közel egyező az általunk CB vizsgálattal kapott eredménnyel (50%). A két metodikával is bizonyított szinergia aránya viszont csak 35% volt.

Az MDR *A. baumannii* törzsekkel végzett vizsgálatok döntő része > 70% SXT rezisztenciát igazolt, ezért a fertőzések kezelésére az SXT nem ajánlott. Vizsgálatunkban az *A. baumannii* törzsek 85%-a volt SXT rezisztens. A főként kombinációs terápia részeként alkalmazott SXT hatékonyságát *A. baumannii* fertőzésekben csak néhány esettanulmány elemzi. Bár beszámolnak sikeres kezelésekről, bizonyítékokon alapuló állásfoglalás még nincs (206). Súlyos,

karbapenem rezisztens *A. baumannii* fertőzésben alkalmazott colistin+SXT terápia hatékonyságáról is olvasható közlemény (207). Eredményeink, miszerint a kombináció CB módszer alapján 45%-ban, két módszer megegyező eredménye alapján 25%-ban szinergén hatású *A. baumannii* törzsekre, az irodalmi adatoknak megfelelnek. Nepka és szerzőtársai eredményéhez hasonlóan mi is megállapítottuk, hogy a kombináció az *A. baumannii* colistin mellett 24 óra után észlelhető visszaövekedését meggátolja (207). Colistin rezisztens *A. baumannii* törzsek esetén a kombináció szinergén hatását ritkán detektálták (208).

A *P. aeruginosa* magas fokú természetes SXT rezisztenciát mutat, így SXT monoterápia nem alkalmazható. Eredményeinkkel (20%-ban szinergiát detektáltunk) ellentétben Vidailiac és szerzőtársai nem találták a kombinációt szinergén hatásúnak *P. aeruginosa* törzseikre (165).

A colistin+SXT kombináció hatásának elemzésekor érdemes kitérni a colistin heterorezisztens baktériumokra. Korábbi vizsgálatok alapján feltételezhető, hogy a colistinre heterogén érzékenységet mutató törzsek azon populációja, amely colistinre rezisztensebb, egyéb antibiotikumokra nagyobb érzékenységet mutat (165). Saját vizsgálati eredményeink szerint az invazív *Pseudomonas* spp. izolátumok 27 %-a, az *Acinetobacter* spp. izolátumok 20 %-a mutat heterorezisztenciát colistinre. A rezisztens szubpopulációk aránya  $1,8 \times 10^{-5}$  és  $3 \times 10^{-2}$  % között változott. Bár a légúti ko-infekciókból, -kolonizációkból izolált törzsekben nem vizsgáltuk a heterorezisztencia meglétét és annak mértékét, az invazív törzsek eredményei alapján feltehető, hogy néhány törzs esetében a jelenség fennállt és befolyással bírt a colistin+SXT kombináció hatására. Azon törzseknek, melyeken a szinergén hatás nem mutatkozott, talán volt, illetve magasabb arányban volt colistin rezisztens szubpopulációja. A *P. aeruginosa* és az *A. baumannii* esetében is megfigyelt jelenség, hogy colistin monoterápia során rezisztencia fejlődik ki. A két antibiotikum néhány törzs esetében bizonyított szinergén hatásának klinikai relevanciáját erősíti, hogy a colistin rezisztencia kifejlődését megelőzheti.

#### 5.4. A *S. maltophilia* szerepe polimikrobás fertőzésekben

A *S. maltophilia* törzsek 68%-a polimikrobás fertőzésből vagy kolonizációból került izolálásra. A fajok közti interakcióknak fontos hatása van a baktériumok virulenciájára. A *S. maltophilia* jelenléte egy polimikrobás populációban elméletileg indukálhatja az antibiotikum rezisztencia kialakulását a társbaktériumokban, plazmidjai, transzpozonjai más fajokba történő átadásával (1). Egyelőre azonban nem tudjuk, hogy egy közös tenyészetben – elsősorban biofilm mátrixban – a *S. maltophilia* és egyéb baktériumok között az antibiotikum rezisztenciát meghatározó genetikai elemek transzmissziója valóban megtörténik-e (5). A *S. maltophilia* egyes antibiotikumokat degradálva a környezetében lévő baktériumokra protektív hatással lehet. A  $\beta$ -laktamáz termeléséből adódó indirekt patogenitását sikerült *in vitro* demonstrálni (209). A baktériumról karbapenem hatására nagyszámban leváló külső membrán vezikulák (OMP), melyek L1- és L2- $\beta$ -laktamázt is tartalmaznak, *in vitro* szignifikánsan növelik a *P. aeruginosa* és a *B. cenocepacia* imipenem és ticarcillin toleranciáját. A vezikulákba csomagolt enzimek ellenállnak a proteázok degradáló hatásának, így hosszabb ideig stabilak és aktívak maradnak (210).

A leggyakoribb ko-patogén vizsgálatunkban a *P. aeruginosa* volt. Így felmerül a kérdés, hogy az anti-Pseudomonas szerek közül a piperacillin-tazobaktám, a ceftazidim és a karbapenemek vajon hatékonyak-e egy olyan fertőzésben, ahol a *P. aeruginosa* mellett jelen van az L1- és L2- $\beta$ -laktamáz termelő *S. maltophilia*. A *S. maltophilia* ko-kolonizációnak negatív hatása lehet egy *P. aeruginosa* fertőzés aminoglikozidokkal történő kezelésének sikerére (6). Egy magas fokú polymyxin B rezisztenciát mutató *B. cenocepacia* populáció és egy polymyxin B érzékeny *P. aeruginosa* ko-kultúrájával bizonyították, hogy a *Burkholderia spp.* tenyészetnek protektív hatása volt a *P. aeruginosa* polymyxin B kezelés során (211). Ennek alapján felmerül, hogy egy magas fokú colistin rezisztenciát mutató *S. maltophilia* populáció hasonlóan protektív-e egy ko-kultúrában – akár planktonikus, még inkább biofilm formában – lévő *P. aeruginosa* vagy *A. baumannii* populációra. Egy kísérlet már bizonyította, hogy a *P. aeruginosa* polymyxin rezisztenciájának kockázatát növeli a ko-kultúrában lévő *S. maltophilia* (68).

Az *Enterobacteriaceae* család fajai voltak a második leggyakoribb ko-patogének vagy ko-kolonizálók. Köztük VIM-4 karbapenemáz termelő *E. cloacae* törzsek is

előfordultak. Hogy a *S. maltophilia* hatással volt-e ezen *E. cloacae* izolátumok antibiotikum rezisztenciájára vagy *vica versa*, tisztázatlan maradt. A ko-izolátumok teljes genom szekvenálási eredményeivel feltehetően választ találnánk a kérdésre. Az bizonyos, hogy a *S. maltophilia* fertőzések kimenetelét az egyéb baktériumok által okozott ko-infekciók is befolyásolják (130).

A *S. maltophilia* által termelt QS molekulák szintén hatással vannak a környezetében lévő baktériumokra (1, 212). A *S. maltophilia* és az *A. baumannii* kölcsönösen stimulálják egymás biofilm képzését, melyben a QS molekuláknak biztosan szerepük van (213). A *S. maltophilia* a *P. aeruginosa* egyes virulenciafaktorainak, például az alginát vagy alkalikus proteáz stimulálásával a fokozza annak biofilm képzését. Ugyanakkor az *in vitro* eredmények szerint a két kórokozó nem képes dinamikus egyensúlyban együtt tenyészni. A *P. aeruginosa* agresszív növekedésével kiszorítja a *S. maltophiliát* a planktonikus és idővel a biofilm formájú ko-kultúrából is. Feltehetően nem exogén termékekkel, hanem specifikus fehérjék *S. maltophiliába* való közvetlen juttatásával éri el a *P. aeruginosa* a térnyerést (68, 214). A *S. maltophiliáról* leváló OMV-k az antibiotikum rezisztencia mellett a környező baktériumok virulenciáját és biofilm képzését is befolyásolják, részben külső membrán fehérje (például Ax21) tartalmuk miatt. Az OMV szekréció mértékét és azok fehérje összetételét pedig, a mikrokörnyezet antibiotikum tartalma mellett, szintén a QS rendszer befolyásolja. A *S. maltophilia* saját maga által termelt és a *B. cenocepacia* által termelt diffúzibilis szignál molekulák fokozzák a szecernált OMV-k számát, míg a *P. aeruginosa* által termelt szignál molekula az eddigi vizsgálatok alapján azt nem befolyásolja (215).

## 5.5. A vizsgálatok korlátai

Az eredmények értékelésekor számolni kell a végzett vizsgálatok korlátaival. A vizsgálatok monocentrikus volta korlátozza azok értékét. Bár eredményeink jól illeszkednek mind a hazai (NNSR), mind az európai adatokhoz, egy multicentrikus vizsgálat pontosabb képet nyújtana a hazánkban előforduló *S. maltophilia* izolátumok antibiotikum érzékenységi profiljáról. A 100, fertőzést okozó *S. maltophilia* törzs 70%-a alsó légúti mintákból került izolálásra. Ez – bár reprezentálja a *S. maltophilia* fertőzések



leggyakoribb klinikai manifesztációját – befolyásolhatja a kórokozó törzsek antibiotikum rezisztenciájának általános értékelését.

A klinikai adatok értékelése retrospektív módon és csak a zárójelentésekre alapulva történt. Ha a *S. maltophilia* infekció ténye a zárójelentésben nem volt deklarálva, azt a laboratóriumi eredmények és az egyéb rögzített klinikai adatok nem támasztották alá, akkor az adott izolátumot a kolonizáló csoportba soroltuk. Ez a metodika az antibiotikum érzékenységi eredmények értékén nem változtatott, hiszen a kórokozó és kolonizáló törzsek közti lényegi különbség nem mutatkozott, a klinikai háttér értékelését viszont torzíthatta. Az alkalmazott antibiotikum terápia értékelése és azok mortalitási adatokkal való összevetése igen kritikus pontja a vizsgálatnak. Egy prospektív, szoros klinikusi együttműködéssel végzett vizsgálat erősíthetné meg *in vitro* eredményeinket.

Az SXT-rezisztens izolátumokon végzett CB vizsgálat eredményeit csak kombinált Etest® módszerrel erősítettük meg. Sem TKA vizsgálatot, sem többszörös kombinációs baktericid tesztet nem végeztünk (216). Csak 20 antibiotikum kombináció vizsgálatát végeztük el, olyan szerekekkel, melyeket gyakran használtak és Magyarországon elérhetőek. Számos egyéb antibiotikum, például a ticarcillin-klavulánsav, az aztreonam, az azithromycin vagy a rifampicin képezheti hatékony antibiotikum kombináció részét *S. maltophilia* ellen. Ahhoz, hogy az antibiotikum kombinációk *in vitro* eredményei klinikai szempontból is értékelhetőek legyenek, számos további vizsgálatra, így például *in vitro* farmakokinetikai/farmakodinámiai tesztekre, állatkísérletekre lenne szükség.

A vizsgált SXT rezisztens izolátumok száma alacsony volt. Döntően csak kolonizálók voltak. Az SXT rezisztencia genetikai háttérének elemzésekor csak a *sul1* és *sul2* géneket vizsgáltuk. Az ismertetett irodalmi adatok alapján ez csak részben ad magyarázatot a fenotípusos rezisztenciára. A rezisztencia gének vizsgálatát csak az MDR törzsek esetében végeztük el. Az SXT érzékeny törzseket, mint kontroll csoportot nem vizsgáltuk.

## 6. Következtetések

1. Az SXT még mindig a leghatékonyabb antibiotikum a *S. maltophilia* ellen. A törzsek 98-99%-a érzékeny az elsőként választandó antibiotikumra. A moxifloxacinnal és levofloxacinnal szembeni rezisztencia aránya egyelőre alacsony, így ezen fluorokinolonok akár magas dózisu monoterápiaként, még inkább kombinált antibiotikum terápia részeként alkalmazhatók. A doxycyclin kiváló *in vitro* hatékonyságúnak bizonyult. Eredményeink és az irodalmi adatok alapján valószínű, hogy a minocyclin hasonló hatékonyságot mutatna *S. maltophilia* törzseink ellen. Részben az SXT rezisztens törzsek, részben a súlyos állapotú krónikus légúti beteg fertőzései, részben az CLSI ajánlása miatt indokolt lenne a minocyclin forgalmazása hazánkban. A colistinnek a *S. maltophiliára* nincs gátló hatása, monoterápiaként nem alkalmazható. A *S. maltophiliára* specifikus, európai klinikai határértékek megállapítása és az érzékenységi vizsgálatok egységes metodikájának deklarálása szükségszerű, a közeljövő sürgető feladata.

2. A legtöbb fertőzés alapbetegségeik miatt súlyos állapotú, intenzív terápiás kezelésre szoruló betegekben alakult ki. A vizsgálatunkban felderített magas, kórházi kezelés alatti össz halálozási ráta (45%) inkább a súlyos alapbetegségekkel volt összefüggésben, mintsem magával a *S. maltophilia* fertőzéssel. Ugyanakkor a fertőzéssel egyértelműen összefüggő 11%-os halálozási ráta is igen magas. Különösen az intenzív terápiás kezelésre szoruló betegek esetében kell számolni a *S. maltophilia* fertőzés veszélyével, ezért körükben a *S. maltophilia* kolonizáció szűrő vizsgálatokkal való felderítése indokolt. Külön figyelem kell, hogy irányuljon a centrális vénás kanült viselő betegekre, mivel az *S. maltophilia* fertőzésben a halálozás egyik rizikófaktora.

3. A klinikusoknak mérlegelniük kell, hogy a *S. maltophilia* ko-patogénként vagy ko-kolonizálóként való jelenléte egy fertőzésben hatással lehet az antibiotikum terápia sikerére és a betegség kimenetelére. A leggyakoribb ko-patogénnek talált *P. aeruginosa* esetében a *S. maltophilia* ronthatja a karbapenem, cefalosporin és aminoglikozid terápia hatékonyságát. A *S. maltophilia* a környező baktériumok virulenciáját növelni képes, ezért eradikálása még akkor is indokolt lehet, különös krónikus légúti betegségekben, ha az csak kolonizálóként van jelen a betegben.

4. Az SXT rezisztens, MDR *S. maltophilia* előfordulása egyelőre ritka. A rezisztenciát meghatározó *sul* gének mobil genetikai elemekhez való kapcsolódása miatt

az SXT rezisztencia alakulásának folyamatos követése indokolt. Az MDR törzsek körében kimutatott magasabb antibiotikum rezisztencia klinikai konzekvenciával járó eredmény: a levofloxacin és moxifloxacin egyelőre terápiás alternatívát jelent MDR *S. maltophilia* fertőzésekben, de fluorokinolon rezisztencia esetében már csak egy-egy antibiotikum kombináció vagy a tetracyclin csoportba tartozó, a *S. maltophilia* fertőzések kezelésében egyelőre klinikai evidenciát nélkülöző antibiotikumok hatékonyságában lehet reménykedni.

5. A fluorokinolonokat, elsősorban a moxifloxacint tartalmazó kombinációk még abban az esetben is hatékonyak, ha az izolátum fluorokinolon rezisztenciát mutatott. A ceftazidim, melyre az MDR törzsek magas fokú rezisztenciát mutatnak, *in vitro* jelentősen növeli egyéb antibiotikumok hatékonyságát. Az inhalációs formában alkalmazható antibiotikumok intravénás antibiotikumokkal kombinálva még akkor is hatékonyak lehetnek, ha az *in vitro* szinergén hatás az SBPI alapján nem igazolt. A kombinációs tesztek eredménye izolátum függő, így minden esetben a szóba jövő antibiotikum kombinációk egyedi vizsgálata szükséges.

6. A *S. maltophilia*, MDR *P. aeruginosa* és MDR *A. baumannii* ko-infekciókban a colistin+SXT kombináció az *in vitro* eredmények alapján hatékony terápia. A kombináció antagonista hatást nem mutatott, a törzsek 20-35%-ánál szinergén hatásúnak bizonyult. Az MDR *A. baumannii* esetén a colistin mellett észlelhető visszánövekedését gátolta.

## 7. Összefoglalás

A *Stenotrophomonas maltophilia* az elmúlt évtizedekben jelentőssé vált, multirezisztens, opportunista, elsősorban nosokomiális kórokozó. A harmadik leggyakrabban előforduló Gram-negatív nem fermentáló pálca a klinikai mintákban. A *S. maltophilia* fertőzés általában pneumoniaként vagy véráram fertőzésként jelenik meg, magas letalitással (50%). Természetes antibiotikum rezisztenciája kiterjedt, a terápiás lehetőségek néhány antibiotikumra korlátozódnak. Az ajánlott, elsőként választandó antibiotikum a sulfamethoxazol-trimethoprim (SXT). Vizsgálatunk célja volt a laboratóriumunkban izolált *S. maltophilia* törzsek antibiotikum érzékenységének meghatározása, a SXT rezisztencia gyakoriságának felmérése és genetikai alapjának vizsgálata, a törzsek klinikai hátterének felderítése és az extrém rezisztens izolátumok ellen *in vitro* hatékony antibiotikum kombinációk azonosítása. A *S. maltophilia*, multirezisztens (MDR) *P. aeruginosa* és MDR *A. baumannii* ko-infekciók előfordulása miatt vizsgáltuk a colistin+SXT kombináció *in vitro* hatékonyságát a fenti baktériumok ellen. Összesen 160, különböző betegekből izolált *S. maltophilia* antibiotikum érzékenységét határoztuk meg. Az SXT-t, a moxifloxacint és levofloxacint találtuk a leghatékonyabb antibiotikumoknak MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> 0,5/1, 0,25/1, 1/2 mg/l értékekkel. A törzsek 90%-a colistin rezisztensnek bizonyult. A SXT rezisztens *S. maltophilia* izolátumok aránya 2% volt. A *S. maltophilia* fertőzött betegek 70%-át intenzív osztályon kezelték. A kórházi kezelés alatti teljes halálozási ráta 45% volt. Öt év alatt összesen 30 beteg mintájából izoláltunk SXT rezisztens *S. maltophil*át, melyek *sul1* vagy *sul2* gént hordoztak. Ezen törzsek nagy része kolonizálóként volt jelen a betegekből. Magasabb rezisztencia rátájuk miatt (20% levofloxacin -, 23% moxifloxacin rezisztencia) mégis problémát, alkalmasint komoly klinikai kihívást jelentenek. A vizsgált antibiotikum kombinációk közül a fluorokinolont, elsősorban a moxifloxacint tartalmazók bizonyultak a leghatékonyabbnak. A törzsek közel 70%-a polimikrobás fertőzésből vagy kolonizációból került izolálásra. Két év alatt húsz beteg alsó légúti mintájából került egyidejűleg kitenyésztésre *S. maltophilia*, MDR *P. aeruginosa* és MDR *A. baumannii*. Ezen esetekben a colistin+SXT kombináció kényszerű terápiás választás, amelyről bizonyítottuk, hogy *in vitro* antagonistá hatása a fenti baktériumokra nincs, szinergén hatás 20-35%-ban kimutatható volt.

## Summary

*Stenotrophomonas maltophilia* has emerged as an important multidrug resistant (MDR), opportunistic and nosocomial pathogen in the past two decades. It is the third most common non-fermenting Gram-negative bacillus in clinical specimens. Pneumonia and bacteraemia are the most frequent types of *S. maltophilia* infections, with high mortality rates (50%). Due to its inherent extended antibiotic resistance, therapeutic options are strongly limited. Sulfamethoxazol-trimethoprim (SXT) is recommended for therapy as first line agent. Aims of our studies were to investigate the antibiotic susceptibility of clinical *S. maltophilia* isolates, to determine the rate and genetic basis of SXT resistance, to reveal the clinical background of the strains and to identify antibiotic combinations with *in vitro* activity against extreme drug resistant isolates. Because of *S. maltophilia*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii* co-infections, the *in vitro* effect of colistin+SXT combination against the three MDR pathogens was tested. A total of 160 consecutive non-duplicate *S. maltophilia* isolates were tested for antibiotic susceptibility. The most effective agents were SXT, moxifloxacin and levofloxacin with MIC<sub>50</sub>/MIC<sub>90</sub> 0,5/1, 0,25/1, 1/2 mg/l, respectively. The rate of colistin resistance was 90%. Only 2% of isolates was resistant to SXT. Seventy % of *S. maltophilia* infected patients was treated at intensive care units. The all-cause in-hospital mortality rate was 45%. In a five-year period 30 SXT resistant strains were isolated from different patients. Each strain contained *sul1* or *sul2* genes. Most of them just colonized patients. The higher antibiotic resistance rate of SXT resistant strains (20% was resistant to levofloxacin, 23% to moxifloxacin) indicates that these bacteria mean a severe problem, with challenging clinical concerns. Among the tested antibiotic combinations the fluoroquinolone containing ones, especially those with moxifloxacin were found to be the most effective. Nearly 70% of the strains were isolated from polymicrobial infection or colonization. In a two-year period twenty cases occurred when *S. maltophilia*, MDR *P. aeruginosa* and MDR *A. baumannii* were isolated at the same time from the same lower respiratory tract (LRT) sample of patients. Colistin+SXT therapy is an obligatory antimicrobial strategy in LRT co-infections caused by these three bacteria. In 20-35% colistin+SXT combination was found to have *in vitro* synergic effect, while antagonism was not detected.

## 8. Irodalomjegyzék

1. Abbott IJ, Slavin MA, Turnidge JD, Thursky KA, Worth LJ. (2011) *Stenotrophomonas maltophilia*: emerging disease patterns and challenges for treatment. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 9:471-488.
2. Brooke JS. (2012) *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging global opportunistic pathogen. *Clin Microbiol Rev*, 25:2-41.
3. Falagas ME, Kastoris AC, Vouloumanou EK, Dimopoulos G. (2009) Community-acquired *Stenotrophomonas maltophilia* infections: a systematic review. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 28:719-730.
4. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2012) EUCAST guidance documents in susceptibility testing. *Stenotrophomonas maltophilia*.
5. Brooke JS. (2014) New strategies against *Stenotrophomonas maltophilia*: a serious worldwide intrinsically drug-resistant opportunistic pathogen. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 12:1-4.
6. Looney WJ, Narita M, Muhlemann K. (2009) *Stenotrophomonas maltophilia*: an emerging opportunist human pathogen. *Lancet Infect Dis*, 9:312-323.
7. Paez JI, Tengan FM, Barone AA, Levin AS, Costa SF. (2008) Factors associated with mortality in patients with bloodstream infection and pneumonia due to *Stenotrophomonas maltophilia*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 27:901-906.
8. Orosi P, Farkas A, Berkes I, Salné NG, Szentkereszty Z, Mályi K, Dán A. (2007) Surveillance results of nosocomial infections of the ICU in Kenezy Hospital, based on two years data. *Orv Hetil*, 148:1469-1473.
9. Szabó M, Kanász N, Darvas K, Gál J. (2017) Identification of risk factors of multiresistant infections on two intensive care units. *Orv Hetil*, 158:1259-1268.
10. Marchaim D, Kaye, K. (2017) Infections and antimicrobial resistance in the intensive care unit: Epidemiology and prevention. *UptoDate<sup>®</sup>*, Wolters Kluwer.
11. Peleg AY, Hooper DC. (2010) Hospital-acquired infections due to gram-negative bacteria. *N Engl J Med*, 362:1804-1813.
12. Centers for Disease Control and Prevention. (2013) Antibiotic resistance threats in the United States.

13. Gniadek TJ, Carroll KC, Simner PJ. (2016) Carbapenem-Resistant Non-Glucose-Fermenting Gram-Negative Bacilli: the Missing Piece to the Puzzle. *J Clin Microbiol*, 54:1700-1710.
14. Samonis G, Karageorgopoulos DE, Maraki S, Levis P, Dimopoulou D, Spernovasilis NA, Kofteridis DP, Falagas ME. (2012) *Stenotrophomonas maltophilia* infections in a general hospital: patient characteristics, antimicrobial susceptibility, and treatment outcome. *PLoS One*, 7:e37375.
15. Lockhart SR, Abramson MA, Beekmann SE, Gallagher G, Riedel S, Diekema DJ, Quinn JP, Doern GV. (2007) Antimicrobial resistance among Gram-negative bacilli causing infections in intensive care unit patients in the United States between 1993 and 2004. *J Clin Microbiol*, 45:3352-3359.
16. Chang YT, Lin CY, Chen YH, Hsueh PR. (2015) Update on infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia* with particular attention to resistance mechanisms and therapeutic options. *Front Microbiol*, 6:893.
17. Ning BT, Zhang CM, Liu T, Ye S, Yang ZH, Chen ZJ. (2013) Pathogenic analysis of sputum from ventilator-associated pneumonia in a pediatric intensive care unit. *Exp Ther Med*, 5:367-371.
18. Arthur C, Tang X, Romero JR, Gossett JG, Harik N, Prophan P. (2015) *Stenotrophomonas maltophilia* infection among young children in a cardiac intensive care unit: a single institution experience. *Pediatr Cardiol*, 36:509-515.
19. Chang YT, Lin CY, Lu PL, Lai CC, Chen TC, Chen CY, Wu DC, Wang TP, Lin CM, Lin WR, Chen YH. (2014) *Stenotrophomonas maltophilia* bloodstream infection: comparison between community-onset and hospital-acquired infections. *J Microbiol Immunol Infect*, 47:28-35.
20. Fihman V, Le Monnier A, Corvec S, Jauregui F, Tankovic J, Jacquier H, Carbonnelle E, Bille E, Illiaquer M, Cattoir V, Zahar JR. (2012) *Stenotrophomonas maltophilia*--the most worrisome threat among unusual non-fermentative gram-negative bacilli from hospitalized patients: a prospective multicenter study. *J Infect*, 64:391-398.
21. Guyot A, Turton JF, Garner D. (2013) Outbreak of *Stenotrophomonas maltophilia* on an intensive care unit. *J Hosp Infect*, 85:303-307.

22. Sakhnini E, Weissmann A, Oren I. (2002) Fulminant *Stenotrophomonas maltophilia* soft tissue infection in immunocompromised patients: an outbreak transmitted via tap water. *Am J Med Sci*, 323:269-272.
23. Gulcan H, Kuzucu C, Durmaz R. (2004) Nosocomial *Stenotrophomonas maltophilia* cross-infection: three cases in newborns. *Am J Infect Control*, 32:365-368.
24. Waite TD, Georgiou A, Abrishami M, Beck CR. (2016) Pseudo-outbreaks of *Stenotrophomonas maltophilia* on an intensive care unit in England. *J Hosp Infect*, 92:392-396.
25. Meyer E, Schwab F, Gastmeier P, Rueden H, Daschner FD, Jonas D. (2006) *Stenotrophomonas maltophilia* and antibiotic use in German intensive care units: data from Project SARI (Surveillance of Antimicrobial Use and Antimicrobial Resistance in German Intensive Care Units). *J Hosp Infect*, 64:238-243.
26. Alvarez-Uria G, Gandra S, Mandal S, Laxminarayan R. (2018) Global forecast of antimicrobial resistance in invasive isolates of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Infect Dis*, 68:50-53.
27. Wang CH, Lin JC, Chang FY, Yu CM, Lin WS, Yeh KM. (2017) Risk factors for hospital acquisition of trimethoprim-sulfamethoxazole resistant *Stenotrophomonas maltophilia* in adults: A matched case-control study. *J Microbiol Immunol Infect*, 50:646-652.
28. LiPuma JJ, Currie BJ, Lum G, Vandamme PAR. *Burkholderia*, *Stenotrophomonas*, *Ralstonia*, *Cupriavidus*, *Pandorea*, *Brevundimonas*, *Comamonas*, *Delftia*, and *Acidovorax*. In: Murray PR (ed.), *Manual of Clinical Microbiology*. ASM Press, Washington, 2007:749-769.
29. Szentmihályi A. Gram-negatív nem, vagy gyengén fermentáló, nem tápigényes pálcák és coccobacillusok. In: Czirók É (szerk.), *Klinikai és járványügyi bakteriológia*. Melánia Kft., Budapest, 1999:405-429.
30. Jayol A, Corlouer C, Haenni M, Darty M, Maillard K, Desroches M, Lamy B, Jumas-Bilak E, Madec JY, Decousser JW. (2018) Are animals a source of *Stenotrophomonas maltophilia* in human infections? Contributions of a nationwide molecular study. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 37:1039-1045.



31. Pinot C, Deredjian A, Nazaret S, Brothier E, Cournoyer B, Segonds C, Favre-Bonte S. (2011) Identification of *Stenotrophomonas maltophilia* strains isolated from environmental and clinical samples: a rapid and efficient procedure. *J Appl Microbiol*, 111:1185-1193.
32. Goncalves-Vidigal P, Grosse-Onnebrink J, Mellies U, Buer J, Rath PM, Steinmann J. (2011) *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis: improved detection by the use of selective agar and evaluation of antimicrobial resistance. *J Cyst Fibros*, 10:422-427.
33. Denton M, Kerr KG. (1998) Microbiological and clinical aspects of infection associated with *Stenotrophomonas maltophilia*. *Clin Microbiol Rev*, 11:57-80.
34. Carmody LA, Spilker T, LiPuma JJ. (2011) Reassessment of *Stenotrophomonas maltophilia* phenotype. *J Clin Microbiol*, 49:1101-1103.
35. Adegoke AA, Stenstrom TA, Okoh AI. (2017) *Stenotrophomonas maltophilia* as an Emerging Ubiquitous Pathogen: Looking Beyond Contemporary Antibiotic Therapy. *Front Microbiol*, 8:2276.
36. Haiko J, Westerlund-Wikstrom B. (2013) The role of the bacterial flagellum in adhesion and virulence. *Biology (Basel)*, 2:1242-1267.
37. Grare M, Dibama HM, Lafosse S, Ribon A, Mourer M, Regnouf-de-Vains JB, Finance C, Duval RE. (2010) Cationic compounds with activity against multidrug-resistant bacteria: interest of a new compound compared with two older antiseptics, hexamidine and chlorhexidine. *Clin Microbiol Infect*, 16:432-438.
38. Liaw SJ, Lee YL, Hsueh PR. (2010) Multidrug resistance in clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*: roles of integrons, efflux pumps, phosphoglucomutase (SpgM), and melanin and biofilm formation. *Int J Antimicrob Agents*, 35:126-130.
39. Huedo P, Yero D, Martinez-Servat S, Ruyra A, Roher N, Daura X, Gibert I. (2015) Decoding the genetic and functional diversity of the DSF quorum-sensing system in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Front Microbiol*, 6:761.
40. Garcia CA, Alcaraz ES, Franco MA, Passerini de Rossi BN. (2015) Iron is a signal for *Stenotrophomonas maltophilia* biofilm formation, oxidative stress response, OMPs expression, and virulence. *Front Microbiol*, 6:926.

41. Liu W, Tian XQ, Wei JW, Ding LL, Qian W, Liu Z, Wang FF. (2017) BsmR degrades c-di-GMP to modulate biofilm formation of nosocomial pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Sci Rep*, 7:4665.
42. Anderson SW, Stapp JR, Burns JL, Qin X. (2007) Characterization of small-colony-variant *Stenotrophomonas maltophilia* isolated from the sputum specimens of five patients with cystic fibrosis. *J Clin Microbiol*, 45:529-535.
43. Pompilio A, Crocetta V, Verginelli F, Di Bonaventura G. (2016) In vitro activity of levofloxacin against planktonic and biofilm *Stenotrophomonas maltophilia* lifestyles under conditions relevant to pulmonary infection in cystic fibrosis, and relationship with SmeDEF multidrug efflux pump expression. *FEMS Microbiol Lett*, 363.
44. DuMont AL, Cianciotto NP. (2017) *Stenotrophomonas maltophilia* Serine Protease StmPr1 Induces Matrilysis, Anoikis, and Protease-Activated Receptor 2 Activation in Human Lung Epithelial Cells. *Infect Immun*, 85.
45. Corlouer C, Lamy B, Desroches M, Ramos-Vivas J, Mehiri-Zghal E, Lemenand O, Delarbre JM, Decousser JW. (2017) *Stenotrophomonas maltophilia* healthcare-associated infections: identification of two main pathogenic genetic backgrounds. *J Hosp Infect*, 96:183-188.
46. Wu AL, Yeh LK, Ma DH, Chen PY, Lin HC, Sun CC, Tan HY, Chen HC, Chen SY, Hsiao CH. (2016) Clinical Characteristics of *Stenotrophomonas maltophilia* Keratitis. *Cornea*, 35:795-800.
47. Chen YF, Chung PC, Hsiao CH. (2005) *Stenotrophomonas maltophilia* keratitis and scleritis. *Chang Gung Med J*, 28:142-150.
48. Treçarichi EM, Tumbarello M. (2014) Antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria in febrile neutropenic patients with cancer: current epidemiology and clinical impact. *Curr Opin Infect Dis*, 27:200-210.
49. Boktour M, Hanna H, Ansari S, Bahna B, Hachem R, Tarrand J, Rolston K, Safdar A, Raad I. (2006) Central venous catheter and *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia in cancer patients. *Cancer*, 106:1967-1973.
50. Apisarnthanarak A, Mayfield JL, Garison T, McLendon PM, DiPersio JF, Fraser VJ, Polish LB. (2003) Risk factors for *Stenotrophomonas maltophilia*

- bacteremia in oncology patients: a case-control study. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 24:269-274.
51. Lai CH, Wong WW, Chin C, Huang CK, Lin HH, Chen WF, Yu KW, Liu CY. (2006) Central venous catheter-related *Stenotrophomonas maltophilia* bacteraemia and associated relapsing bacteraemia in haematology and oncology patients. *Clin Microbiol Infect*, 12:986-991.
  52. Hotta G, Matsumura Y, Kato K, Nakano S, Yunoki T, Yamamoto M, Nagao M, Ito Y, Takakura S, Ichiyama S. (2014) Risk factors and outcomes of *Stenotrophomonas maltophilia* bacteraemia: a comparison with bacteraemia caused by *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter* species. *PLoS One*, 9:e112208.
  53. Garazi M, Singer C, Tai J, Ginocchio CC. (2012) Bloodstream infections caused by *Stenotrophomonas maltophilia*: a seven-year review. *J Hosp Infect*, 81:114-118.
  54. Harada K, Sekiya N, Konishi T, Nagata A, Yamada Y, Takezaki T, Kaito S, Kurosawa S, Sakaguchi M, Yasuda S, Sasaki S, Yoshioka K, Watakabe-Inamoto K, Igarashi A, Najima Y, Hagino T, Muto H, Kobayashi T, Doki N, Kakihana K, Sakamaki H, Ohashi K. (2017) Predictive implications of albumin and C-reactive protein for progression to pneumonia and poor prognosis in *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia following allogeneic hematopoietic stem cell transplantation. *BMC Infect Dis*, 17:638.
  55. Lakatos B, Jakopp B, Widmer A, Frei R, Pargger H, Elzi L, Battegay M. (2014) Evaluation of treatment outcomes for *Stenotrophomonas maltophilia* bacteraemia. *Infection*, 42:553-558.
  56. Lee JY, Kang CI, Ko JH, Lee WJ, Seok HR, Park GE, Cho SY, Ha YE, Chung DR, Lee NY, Peck KR, Song JH. (2016) Clinical Features and Risk Factors for Development of Breakthrough Gram-Negative Bacteremia during Carbapenem Therapy. *Antimicrob Agents Chemother*, 60:6673-6678.
  57. Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. (2014) Antimicrobial susceptibility of Gram-negative organisms isolated from patients hospitalised with pneumonia in US and European hospitals: results from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, 2009-2012. *Int J Antimicrob Agents*, 43:328-334.

58. Araoka H, Fujii T, Izutsu K, Kimura M, Nishida A, Ishiwata K, Nakano N, Tsuji M, Yamamoto H, Asano-Mori Y, Uchida N, Wake A, Taniguchi S, Yoneyama A. (2012) Rapidly progressive fatal hemorrhagic pneumonia caused by *Stenotrophomonas maltophilia* in hematologic malignancy. *Transpl Infect Dis*, 14:355-363.
59. Tada K, Kurosawa S, Hiramoto N, Okinaka K, Ueno N, Asakura Y, Kim SW, Yamashita T, Mori SI, Heike Y, Maeshima AM, Tanosaki R, Tobinai K, Fukuda T. (2013) *Stenotrophomonas maltophilia* infection in hematopoietic SCT recipients: high mortality due to pulmonary hemorrhage. *Bone Marrow Transplant*, 48:74-79.
60. Lewis S, Zaas A. (2017) *Stenotrophomonas maltophilia*. UptoDate<sup>®</sup>, Wolters Kluwer.
61. Salsgiver EL, Fink AK, Knapp EA, LiPuma JJ, Olivier KN, Marshall BC, Saiman L. (2016). Changing Epidemiology of the Respiratory Bacteriology of Patients With Cystic Fibrosis. *Chest*, 149:390-400.
62. Stanojevic S, Ratjen F, Stephens D, Lu A, Yau Y, Tullis E, Waters V. (2013) Factors influencing the acquisition of *Stenotrophomonas maltophilia* infection in cystic fibrosis patients. *J Cyst Fibros*, 12:575-583.
63. Amin R, Waters V. (2016) Antibiotic treatment for *Stenotrophomonas maltophilia* in people with cystic fibrosis. *Cochrane Database Syst Rev*, 7:Cd009249.
64. Gibson RL, Burns JL, Ramsey BW. (2003) Pathophysiology and management of pulmonary infections in cystic fibrosis. *Am J Respir Crit Care Med*, 168:918-951.
65. Millar FA, Simmonds NJ, Hodson ME. (2009) Trends in pathogens colonising the respiratory tract of adult patients with cystic fibrosis, 1985-2005. *J Cyst Fibros*, 8:386-391.
66. Esposito A, Pompilio A, Bettua C, Crocetta V, Giacobazzi E, Fiscarelli E, Jousson O, Di Bonaventura G. (2017) Evolution of *Stenotrophomonas maltophilia* in Cystic Fibrosis Lung over Chronic Infection: A Genomic and Phenotypic Population Study. *Front Microbiol*, 8:1590.

67. Chung H, Lieberman TD, Vargas SO, Flett KB, McAdam AJ, Priebe GP, Kishony R. (2017) Global and local selection acting on the pathogen *Stenotrophomonas maltophilia* in the human lung. *Nat Commun*, 8:14078.
68. Pompilio A, Crocetta V, De Nicola S, Verginelli F, Fiscarelli E, Di Bonaventura G. (2015) Cooperative pathogenicity in cystic fibrosis: *Stenotrophomonas maltophilia* modulates *Pseudomonas aeruginosa* virulence in mixed biofilm. *Front Microbiol*, 6:951.
69. Waters V, Yau Y, Prasad S, Lu A, Atenafu E, Crandall I, Tom S, Tullis E, Ratjen F. (2011) *Stenotrophomonas maltophilia* in cystic fibrosis: serologic response and effect on lung disease. *Am J Respir Crit Care Med*, 183:635-640.
70. Dalboge CS, Hansen CR, Pressler T, Hoiby N, Johansen HK. (2011) Chronic pulmonary infection with *Stenotrophomonas maltophilia* and lung function in patients with cystic fibrosis. *J Cyst Fibros*, 10:318-325.
71. Berdah L, Taytard J, Leyronnas S, Clement A, Boelle PY, Corvol H. (2018) *Stenotrophomonas maltophilia*: A marker of lung disease severity. *Pediatr Pulmonol*, 53:426-430.
72. Goss CH, Mayer-Hamblett N, Aitken ML, Rubenfeld GD, Ramsey BW. (2004) Association between *Stenotrophomonas maltophilia* and lung function in cystic fibrosis. *Thorax*, 59:955-959.
73. Lehoux Dubois C, Boudreau V, Tremblay F, Lavoie A, Berthiaume Y, Rabasa-Lhoret R, Coriati A. (2017) Association between glucose intolerance and bacterial colonisation in an adult population with cystic fibrosis, emergence of *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Cyst Fibros*, 16:418-424.
74. Lobo LJ, Tulu Z, Aris RM, Noone PG. (2015) Pan-Resistant *Achromobacter xylosoxidans* and *Stenotrophomonas maltophilia* Infection in Cystic Fibrosis Does Not Reduce Survival After Lung Transplantation. *Transplantation*, 99:2196-2202.
75. Li X-ZL, J. Antimicrobial resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*: Mechanisms and clinical implications. In: Mayers DL (ed.), *Antimicrobial drug resistance*. Springer International Publishing AG., Basel, 2017:937-958.
76. Rocco F, De Gregorio E, Colonna B, Di Nocera PP. (2009) *Stenotrophomonas maltophilia* genomes: a start-up comparison. *Int J Med Microbiol*, 299:535-546.

77. Sanschagrín F, Dufresne J, Levesque RC. (1998) Molecular heterogeneity of the L-1 metallo-beta-lactamase family from *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*, 42:1245-1248.
78. Sanchez MB. (2015) Antibiotic resistance in the opportunistic pathogen *Stenotrophomonas maltophilia*. *Front Microbiol*, 6:658.
79. Rahmati-Bahram A, Magee JT, Jackson SK. (1997) Effect of temperature on aminoglycoside binding sites in *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother*, 39:19-24.
80. McKay GA, Woods DE, MacDonald KL, Poole K. (2003). Role of phosphoglucomutase of *Stenotrophomonas maltophilia* in lipopolysaccharide biosynthesis, virulence, and antibiotic resistance. *Infect Immun*, 71:3068-3075.
81. Wang Y, He T, Shen Z, Wu C. (2018) Antimicrobial Resistance in *Stenotrophomonas* spp. *Microbiol Spectr*, 6.
82. Crowder MW, Walsh TR, Banovic L, Pettit M, Spencer J. (1998) Overexpression, purification, and characterization of the cloned metallo-beta-lactamase L1 from *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*, 42:921-926.
83. Payne DJ, Hueso-Rodriguez JA, Boyd H, Concha NO, Janson CA, Gilpin M, Bateson JH, Cheever C, Niconovich NL, Pearson S, Rittenhouse S, Tew D, Diez E, Perez P, De La Fuente J, Rees M, Rivera-Sagredo A. (2002) Identification of a series of tricyclic natural products as potent broad-spectrum inhibitors of metallo-beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother*, 46:1880-1886.
84. Denny BJ, Lambert PA, West PW. (2002) The flavonoid galangin inhibits the L1 metallo-beta-lactamase from *Stenotrophomonas maltophilia*. *FEMS Microbiol Lett*, 208:21-24.
85. Sanschagrín F, Levesque RC. (2005) A specific peptide inhibitor of the class B metallo-beta-lactamase L-1 from *Stenotrophomonas maltophilia* identified using phage display. *J Antimicrob Chemother*, 55:252-255.
86. Avison MB, Higgins CS, von Heldreich CJ, Bennett PM, Walsh TR. (2001) Plasmid location and molecular heterogeneity of the L1 and L2 beta-lactamase genes of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*, 45:413-419.

87. Yang Z, Liu W, Cui Q, Niu W, Li H, Zhao X, Wei X, Wang X, Huang S, Dong D, Lu S, Bai C, Li Y, Huang L, Yuan J. (2014) Prevalence and detection of *Stenotrophomonas maltophilia* carrying metallo-beta-lactamase blaL1 in Beijing, China. *Front Microbiol*, 5:692.
88. Hu RM, Huang KJ, Wu LT, Hsiao YJ, Yang TC. (2008) Induction of L1 and L2 beta-lactamases of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*, 52:1198-1200.
89. Lin CW, Huang YW, Hu RM, Chiang KH, Yang TC. (2009) The role of AmpR in regulation of L1 and L2 beta-lactamases in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Res Microbiol*, 160:152-158.
90. Huang YW, Lin CW, Hu RM, Lin YT, Chung TC, Yang TC. (2010) AmpN-AmpG operon is essential for expression of L1 and L2 beta-lactamases in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*, 54:2583-2589.
91. Zhao Y, Niu W, Sun Y, Hao H, Yu D, Xu G, Shang X, Tang X, Lu S, Yue J, Li Y. (2015) Identification and characterization of a serious multidrug resistant *Stenotrophomonas maltophilia* strain in China. *Biomed Res Int*, 2015:580240.
92. Avison MB, von Heldreich CJ, Higgins CS, Bennett PM, Walsh TR. (2000) A TEM-2beta-lactamase encoded on an active Tn1-like transposon in the genome of a clinical isolate of *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother*, 46:879-884.
93. Maravic A, Skocibusic M, Fredotovic Z, Cvjetan S, Samanic I, Puizina J. (2014) Characterization of environmental CTX-M-15-producing *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*, 58:6333-6334.
94. Liu W, Zou D, Wang X, Li X, Zhu L, Yin Z, Yang Z, Wei X, Han L, Wang Y, Shao C, Wang S, He X, Liu D, Liu F, Wang J, Huang L, Yuan J. (2012) Proteomic analysis of clinical isolate of *Stenotrophomonas maltophilia* with blaNDM-1, blaL1 and blaL2 beta-lactamase genes under imipenem treatment. *J Proteome Res*, 11:4024-4033.
95. Sanchez MB, Martinez JL. (2010) SmQnr contributes to intrinsic resistance to quinolones in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*, 54:580-581.

96. Wareham DW, Gordon NC, Shimizu K. (2011) Two new variants of and creation of a repository for *Stenotrophomonas maltophilia* quinolone protection protein (Smqnr) genes. *Int J Antimicrob Agents*, 37:89-90.
97. Garcia-Leon G, Ruiz de Alegria Puig C, Garcia de la Fuente C, Martinez-Martinez L, Martinez JL, Sanchez MB. (2015) High-level quinolone resistance is associated with the overexpression of smeVWX in *Stenotrophomonas maltophilia* clinical isolates. *Clin Microbiol Infect*, 21:464-467.
98. Barbolla R, Catalano M, Orman BE, Famiglietti A, Vay C, Smayevsky J, Centron D, Pineiro SA. (2004) Class 1 integrons increase trimethoprim-sulfamethoxazole MICs against epidemiologically unrelated *Stenotrophomonas maltophilia* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*, 48:666-669.
99. Adegoke AA, Okoh AI. (2015) Antibigram of *Stenotrophomonas maltophilia* Isolated From Nkonkobe Municipality, Eastern Cape Province, South Africa. *Jundishapur J Microbiol*, 8:e13975.
100. Hu LF, Chen GS, Kong QX, Gao LP, Chen X, Ye Y, Li JB. (2016) Increase in the Prevalence of Resistance Determinants to Trimethoprim/Sulfamethoxazole in Clinical *Stenotrophomonas maltophilia* Isolates in China. *PLoS One*, 11:e0157693.
101. He T, Shen J, Schwarz S, Wu C, Wang Y. (2015) Characterization of a genomic island in *Stenotrophomonas maltophilia* that carries a novel floR gene variant. *J Antimicrob Chemother*, 70:1031-1036.
102. Crossman LC, Gould VC, Dow JM, Vernikos GS, Okazaki A, Sebahia M, Saunders D, Arrowsmith C, Carver T, Peters N, Adlem E, Kerhornou A, Lord A, Murphy L, Seeger K, Squares R, Rutter S, Quail MA, Rajandream MA, Harris D, Churcher C, Bentley SD, Parkhill J, Thomson NR, Avison MB. (2008) The complete genome, comparative and functional analysis of *Stenotrophomonas maltophilia* reveals an organism heavily shielded by drug resistance determinants. *Genome Biol*, 9:R74.
103. Wu CJ, Chiu TT, Lin YT, Huang YW, Li LH, Yang TC. (2018) Role of smeU1VWU2X Operon in Alleviation of Oxidative Stresses and Occurrence of Sulfamethoxazole-Trimethoprim-Resistant Mutants in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*, 62:e02114-17.



104. Huang YW, Hu RM, Yang TC. (2013) Role of the pcm-tolCsm operon in the multidrug resistance of *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother*, 68:1987-93.
105. Sanchez P, Alonso A, Martinez JL. (2002) Cloning and characterization of SmeT, a repressor of the *Stenotrophomonas maltophilia* multidrug efflux pump SmeDEF. *Antimicrob Agents Chemother*, 46:3386-3393.
106. Garcia-Leon G, Hernandez A, Hernando-Amado S, Alavi P, Berg G, Martinez JL. (2014) A function of SmeDEF, the major quinolone resistance determinant of *Stenotrophomonas maltophilia*, is the colonization of plant roots. *Appl Environ Microbiol*, 80:4559-4565.
107. Lin YT, Huang YW, Liou RS, Chang YC, Yang TC. (2014) MacABCsm, an ABC-type tripartite efflux pump of *Stenotrophomonas maltophilia* involved in drug resistance, oxidative and envelope stress tolerances and biofilm formation. *J Antimicrob Chemother*, 69:3221-3226.
108. Hu RM, Liao ST, Huang CC, Huang YW, Yang TC. (2012) An inducible fusaric acid tripartite efflux pump contributes to the fusaric acid resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *PLoS One*, 7:e51053.
109. Al-Hamad A, Upton M, Burnie J. (2009) Molecular cloning and characterization of SmrA, a novel ABC multidrug efflux pump from *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother*, 64:731-734.
110. Chang YC, Tsai MJ, Huang YW, Chung TC, Yang TC. (2011) SmQnrR, a DeoR-type transcriptional regulator, negatively regulates the expression of Smqnr and SmtcrA in *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother*, 66:1024-1028.
111. Huang YW, Hu RM, Chu FY, Lin HR, Yang TC. (2013) Characterization of a major facilitator superfamily (MFS) tripartite efflux pump EmrCABsm from *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother*, 68:2498-2505.
112. Alonso A, Morales G, Escalante R, Campanario E, Sastre L, Martinez JL. (2004) Overexpression of the multidrug efflux pump SmeDEF impairs *Stenotrophomonas maltophilia* physiology. *J Antimicrob Chemother*, 53:432-434.

113. Sanchez MB, Martinez JL. (2018) Overexpression of the efflux pumps SmeVWX and SmeDEF is a major cause of resistance to cotrimoxazole in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*, 62:e00301-18.
114. Blanchard C, Barnett P, Perlmutter J, Dunman PM. (2014) Identification of *Acinetobacter baumannii* serum-associated antibiotic efflux pump inhibitors. *Antimicrob Agents Chemother*, 58:6360-6370.
115. Moon K, Gottesman S. (2009) A PhoQ/P-regulated small RNA regulates sensitivity of *Escherichia coli* to antimicrobial peptides. *Mol Microbiol*, 74:1314-1330.
116. Hu LF, Chang X, Ye Y, Wang ZX, Shao YB, Shi W, Li X, Li JB. (2011) *Stenotrophomonas maltophilia* resistance to trimethoprim/sulfamethoxazole mediated by acquisition of sul and dfrA genes in a plasmid-mediated class 1 integron. *Int J Antimicrob Agents*, 37:230-234.
117. Hu LF, Gao LP, Ye Y, Chen X, Zhou XT, Yang HF, Liiu YY, Mei Q, Li JB. (2014) Susceptibility of *Stenotrophomonas maltophilia* clinical strains in China to antimicrobial combinations. *J Chemother*, 26:282-286.
118. Chang LL, Lin HH, Chang CY, Lu PL. (2007) Increased incidence of class 1 integrons in trimethoprim/sulfamethoxazole-resistant clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother*, 59:1038-1039.
119. Kaur P, Gautam V, Tewari R. (2015) Distribution of Class 1 Integrons, sul1 and sul2 Genes Among Clinical Isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* from a Tertiary Care Hospital in North India. *Microb Drug Resist*, 21:380-385.
120. San Gabriel P, Zhou J, Tabibi S, Chen Y, Trauzzi M, Saiman L. (2004) Antimicrobial susceptibility and synergy studies of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother*, 48:168-171.
121. Milne KE, Gould IM. (2012) Combination antimicrobial susceptibility testing of multidrug-resistant *Stenotrophomonas maltophilia* from cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother*, 56:4071-4077.
122. Gales AC, Jones RN, Forward KR, Linares J, Sader HS, Verhoef J. (2001) Emerging importance of multidrug-resistant *Acinetobacter* species and *Stenotrophomonas maltophilia* as pathogens in seriously ill patients: geographic

- patterns, epidemiological features, and trends in the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (1997-1999). *Clin Infect Dis*, 32:S104-13.
123. Farrell DJ, Sader HS, Jones RN. (2010) Antimicrobial susceptibilities of a worldwide collection of *Stenotrophomonas maltophilia* isolates tested against tigecycline and agents commonly used for *S. maltophilia* infections. *Antimicrob Agents Chemother*, 54:2735-2737.
  124. Sader HS, Farrell DJ, Flamm RK, Jones RN. (2014) Variation in potency and spectrum of tigecycline activity against bacterial strains from U.S. medical centers since its approval for clinical use (2006 to 2012). *Antimicrob Agents Chemother*, 58:2274-2280.
  125. Pien CJ, Kuo HY, Chang SW, Chen PR, Yeh HW, Liu CC, Liou ML. (2015) Risk factors for levofloxacin resistance in *Stenotrophomonas maltophilia* from respiratory tract in a regional hospital. *J Microbiol Immunol Infect*, 48:291-295.
  126. Sader HS, Flamm RK, Jones RN. (2013) Tigecycline activity tested against antimicrobial resistant surveillance subsets of clinical bacteria collected worldwide (2011). *Diagn Microbiol Infect Dis*, 76:217-221.
  127. Pfaller MA, Huband MD, Streit JM, Flamm RK, Sader HS. (2018) Surveillance of tigecycline activity tested against clinical isolates from a global (North America, Europe, Latin America and Asia-Pacific) collection (2016). *Int J Antimicrob Agents*, doi:10.1016/j.ijantimicag.2018.01.006.
  128. Wei C, Ni W, Cai X, Zhao J, Cui J. (2016) Evaluation of Trimethoprim/Sulfamethoxazole (SXT), Minocycline, Tigecycline, Moxifloxacin, and Ceftazidime Alone and in Combinations for SXT-Susceptible and SXT-Resistant *Stenotrophomonas maltophilia* by In Vitro Time-Kill Experiments. *PLoS One*, 11:e0152132.
  129. Nicodemo AC, Paez JI. (2007) Antimicrobial therapy for *Stenotrophomonas maltophilia* infections. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 26:229-237.
  130. Wang YL, Scipione MR, Dubrovskaya Y, Papadopoulos J. (2014) Monotherapy with fluoroquinolone or trimethoprim-sulfamethoxazole for treatment of *Stenotrophomonas maltophilia* infections. *Antimicrob Agents Chemother*, 58:176-182.

131. Cho SY, Kang CI, Kim J, Ha YE, Chung DR, Lee NY, Peck KR, Song JH. (2014) Can levofloxacin be a useful alternative to trimethoprim-sulfamethoxazole for treating *Stenotrophomonas maltophilia* bacteremia? *Antimicrob Agents Chemother*, 58:581-583.
132. Watson L, Esterly J, Jensen AO, Postelnick M, Aguirre A, McLaughlin M. (2018) Sulfamethoxazole/trimethoprim versus fluoroquinolones for the treatment of *Stenotrophomonas maltophilia* bloodstream infections. *J Glob Antimicrob Resist*, 12:104-106.
133. Wang A, Wang Q, Kudinha T, Xiao S, Zhuo C. (2016) Effects of Fluoroquinolones and Azithromycin on Biofilm Formation of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Sci Rep*, 6:29701.
134. Hand E, Davis H, Kim T, Duhon B. (2016) Monotherapy with minocycline or trimethoprim/sulfamethoxazole for treatment of *Stenotrophomonas maltophilia* infections. *J Antimicrob Chemother*, 71:1071-1075.
135. Tekce YT, Erbay A, Cabadak H, Sen S. (2012) Tigecycline as a therapeutic option in *Stenotrophomonas maltophilia* infections. *J Chemother*, 24:150-154.
136. Pintado V, San Miguel LG, Grill F, Mejia B, Cobo J, Fortun J, Martin-Davila P, Moreno S. (2008) Intravenous colistin sulphomethate sodium for therapy of infections due to multidrug-resistant gram-negative bacteria. *J Infect*, 56:185-190.
137. Falagas ME, Rafailidis PI, Ioannidou E, Alexiou VG, Matthaiou DK, Karageorgopoulos DE, Kapaskelis A, Nikita D, Michalopoulos A. (2010) Colistin therapy for microbiologically documented multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections: a retrospective cohort study of 258 patients. *Int J Antimicrob Agents*, 35:194-199.
138. Wu K, Yau YC, Matukas L, Waters V. (2013) Biofilm compared to conventional antimicrobial susceptibility of *Stenotrophomonas maltophilia* Isolates from cystic fibrosis patients. *Antimicrob Agents Chemother*, 57:1546-1548.
139. Munoz JL, Garcia MI, Munoz S, Leal S, Fajardo M, Garcia-Rodriguez JA. (1996) Activity of trimethoprim/sulfamethoxazole plus polymyxin B against

- multiresistant *Stenotrophomonas maltophilia*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 15:879-882.
140. Hornsey M, Longshaw C, Phee L, Wareham DW. (2012) In vitro activity of telavancin in combination with colistin versus Gram-negative bacterial pathogens. *Antimicrob Agents Chemother*, 56:3080-3085.
  141. Betts JW, Phee LM, Woodford N, Wareham DW. (2014) Activity of colistin in combination with tigecycline or rifampicin against multidrug-resistant *Stenotrophomonas maltophilia*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 33:1565-1572.
  142. Wood GC, Underwood EL, Croce MA, Swanson JM, Fabian TC. (2010) Treatment of recurrent *Stenotrophomonas maltophilia* ventilator-associated pneumonia with doxycycline and aerosolized colistin. *Ann Pharmacother*, 44:1665-1668.
  143. Saiman L, Chen Y, Gabriel PS, Knirsch C. (2002) Synergistic activities of macrolide antibiotics against *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, and *Alcaligenes xylosoxidans* isolated from patients with cystic fibrosis. *Antimicrob Agents Chemother*, 46:1105-1107.
  144. Mojica MF, Ouellette CP, Leber A, Becknell MB, Ardura MI, Perez F, Shimamura M, Bonomo RA, Aitken SL, Shelburne SA. (2016) Successful Treatment of Bloodstream Infection Due to Metallo-beta-Lactamase-Producing *Stenotrophomonas maltophilia* in a Renal Transplant Patient. *Antimicrob Agents Chemother*, 60:5130-5134.
  145. Mojica MF, Papp-Wallace KM, Taracila MA, Barnes MD, Rutter JD, Jacobs MR, LiPuma JJ, Walsh TJ, Vila AJ, Bonomo RA. (2017) Avibactam Restores the Susceptibility of Clinical Isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* to Aztreonam. *Antimicrob Agents Chemother*, 61:e00777-17.
  146. Wright H, Bonomo RA, Paterson DL. (2017) New agents for the treatment of infections with Gram-negative bacteria: restoring the miracle or false dawn? *Clin Microbiol Infect*, 23:704-712.
  147. Zhang H, Zhang Q. (2015) Clinical efficacy and safety of colistin treatment in patients with pulmonary infection caused by *Pseudomonas aeruginosa* or *Acinetobacter baumannii*: a meta-analysis. *Arch Med Sci*, 11:34-42.

148. Kumaraswamy M, Lin L, Olson J, Sun CF, Nonejuie P, Corriden R, Dohrmann S, Ali SR, Amaro D, Rohde M, Pogliano J, Sakoulas G, Nizet V. (2016) Standard susceptibility testing overlooks potent azithromycin activity and cationic peptide synergy against MDR *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother*, 71:1264-1269.
149. Livermore DM, Mushtaq S, Warner M, Woodford N. (2014) Comparative in vitro activity of sulfametrole/trimethoprim and sulfamethoxazole/trimethoprim and other agents against multiresistant Gram-negative bacteria. *J Antimicrob Chemother*, 69:1050-1056.
150. Lai CC, Lee KY, Lin SW, Chen YH, Kuo HY, Hung CC, Hsueh PR. (2014) Nemonoxacin (TG-873870) for treatment of community-acquired pneumonia. *Expert Rev Anti Infect Ther*, 12:401-417.
151. O'Riordan W, Mehra P, Manos P, Kingsley J, Lawrence L, Cammarata S. (2015) A randomized phase 2 study comparing two doses of delafloxacin with tigecycline in adults with complicated skin and skin-structure infections. *Int J Infect Dis*, 30:67-73.
152. Peters DL, Lynch KH, Stothard P, Dennis JJ. (2015) The isolation and characterization of two *Stenotrophomonas maltophilia* bacteriophages capable of cross-taxonomic order infectivity. *BMC Genomics*, 16:664.
153. Lee CN, Tseng TT, Chang HC, Lin JW, Weng SF. (2014) Genomic sequence of temperate phage Smp131 of *Stenotrophomonas maltophilia* that has similar prophages in xanthomonads. *BMC Microbiol*, 14:17.
154. Pallecchi L, Landini G, DiMaggio, T, Sottoletti, S, Cariani, L, Blasi, F, Serio, F, Roddolini, GM. (2017) Synergistic activity of N-acetylcysteine in combination with colistin against *Stenotrophomonas maltophilia*. 26th ECCMID:EV0492.
155. Landini G, DiMaggio, T, Girelli, D, Teri, A, Cariani, L, Blasi, F, Sergio, F, Pallecchi, L, Rossolini, GM. (2017) Antimicrobial activity of N-acetylcystein against *Stenotrophomonas maltophilia* and *Burkholderia cepacia* complex grown in planktonic phase and biofilm. 27th ECCMID:P0596.
156. Skurnik D, Davis MR, Jr., Benedetti D, Moravec KL, Cywes-Bentley C, Roux D, Traficante DC, Walsh RL, Maira-Litran T, Cassidy SK, Hermos CR, Martin

- TR, Thakkallapalli EL, Vargas SO, McAdam AJ, Lieberman TD, Kishony R, Lipuma JJ, Pier GB, Goldberg JB, Priebe GP. (2012) Targeting pan-resistant bacteria with antibodies to a broadly conserved surface polysaccharide expressed during infection. *J Infect Dis*, 205:1709-1718.
157. Pages JM, Amaral L. (2009) Mechanisms of drug efflux and strategies to combat them: challenging the efflux pump of Gram-negative bacteria. *Biochim Biophys Acta*, 1794:826-833.
  158. Gupta D, Singh A, Khan AU. (2017) Nanoparticles as Efflux Pump and Biofilm Inhibitor to Rejuvenate Bactericidal Effect of Conventional Antibiotics. *Nanoscale Res Lett*, 12:454.
  159. Ford BA, Burnham CA. (2013) Optimization of routine identification of clinically relevant Gram-negative bacteria by use of matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry and the Bruker Biotyper. *J Clin Microbiol*, 51:1412-1420.
  160. Clinical and Laboratory Standards Institute. (2014) CLSI approved Standard. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility testing. CLSI, Wayne, PA, USA.
  161. Garcia L. Synergism Testing: Broth microdilution checkerboard and broth macrodilution methods. In: Garcia L (ed.), *Clinical Microbiology Procedures Handbook*. ASM Press, Washington DC, 2010:140-162.
  162. Carroll KC, Cohen S, Nelson R, Campbell DM, Claridge JD, Garrison MW, Kramp J, Malone C, Hoffmann M, Anderson DE. (1998) Comparison of various in vitro susceptibility methods for testing *Stenotrophomonas maltophilia*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 32:229-235.
  163. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2013-2018) Clinical breakpoints. Breakpoint tables for bacteria v3.0-8.0
  164. Balke B, Hogardt M, Schmoltdt S, Hoy L, Weissbrodt H, Haussler S. (2006) Evaluation of the E test for the assessment of synergy of antibiotic combinations against multiresistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates from cystic fibrosis patients. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 25:25-30.
  165. Vidailiac C, Benichou L, Duval RE. (2012) In vitro synergy of colistin combinations against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas*

- aeruginosa, and *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*, 56:4856-4861.
166. Silbert S, Pfaller MA, Hollis RJ, Barth AL, Sader HS. (2004) Evaluation of three molecular typing techniques for nonfermentative Gram-negative bacilli. *Infect Control Hosp Epidemiol*, 25:847-851.
  167. Grape M, Farra A, Kronvall G, Sundstrom L. (2005) Integrons and gene cassettes in clinical isolates of co-trimoxazole-resistant Gram-negative bacteria. *Clin Microbiol Infect*, 11:185-192.
  168. Gilbert G, Moellering R, Eliopoulos G, Sande M. (2013) *The Sanford guide to antimicrobial therapy*. Antimicrobial Therpay Inc, Sperryville.
  169. Anzai Y, Kim H, Park JY, Wakabayashi H, Oyaizu H. (2000) Phylogenetic affiliation of the pseudomonads based on 16S rRNA sequence. *Int J Syst Evol Microbiol*, 50 Pt 4:1563-1589.
  170. Patil PP, Midha S, Kumar S, Patil PB. (2016) Genome Sequence of Type Strains of Genus *Stenotrophomonas*. *Front Microbiol*, 7:309.
  171. Angrup A, Krishnamoorthi S, Biswal M, Gautam V, Ray P, Agarwal A, Dogra MR, Singh R, Katoch D, Gupta V. (2018) Utility of MALDI-TOF MS in an outbreak investigation of acute endophthalmitis following intra-vitreous injection. *J Hosp Infect*, doi:10.1016/j.jhin.2018.03.032.
  172. Rhee JY, Choi JY, Choi MJ, Song JH, Peck KR, Ko KS. (2013) Distinct groups and antimicrobial resistance of clinical *Stenotrophomonas maltophilia* complex isolates from Korea. *J Med Microbiol*, 62:748-753.
  173. Toleman MA, Bennett PM, Bennett DM, Jones RN, Walsh TR. (2007) Global emergence of trimethoprim/sulfamethoxazole resistance in *Stenotrophomonas maltophilia* mediated by acquisition of *sul* genes. *Emerg Infect Dis*, 13:559-565.
  174. Caini S, Hajdu A, Kurcz A, Böröcz K. (2013) Hospital-acquired infections due to multidrug-resistant organisms in Hungary, 2005-2010. *Euro Surveill*, 18.
  175. Grillon A, Schramm F, Kleinberg M, Jehl F. (2016) Comparative Activity of Ciprofloxacin, Levofloxacin and Moxifloxacin against *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia* Assessed by Minimum Inhibitory Concentrations and Time-Kill Studies. *PLoS One*, 11:e0156690.



176. Kaplan JB. (2011) Antibiotic-induced biofilm formation. *Int J Artif Organs*, 34:737-751.
177. Kumar A, Ting YP. (2013) Effect of sub-inhibitory antibacterial stress on bacterial surface properties and biofilm formation. *Colloids Surf B Biointerfaces*, 111:747-754.
178. Devos S, Van Putte W, Vitse J, Van Driessche G, Stremersch S, Van Den Broek W, Raemdonck K, Braeckmans K, Stahlberg H, Kudryashev M, Savvides SN, Devreese B. (2017) Membrane vesicle secretion and prophage induction in multidrug-resistant *Stenotrophomonas maltophilia* in response to ciprofloxacin stress. *Environ Microbiol*, 19:3930-3937.
179. Wu H, Wang JT, Shiau YR, Wang HY, Lauderdale TL, Chang SC. (2012) A multicenter surveillance of antimicrobial resistance on *Stenotrophomonas maltophilia* in Taiwan. *J Microbiol Immunol Infect*, 45:120-126.
180. Falagas ME, Valkimadi PE, Huang YT, Matthaiou DK, Hsueh PR. (2008) Therapeutic options for *Stenotrophomonas maltophilia* infections beyond cotrimoxazole: a systematic review. *J Antimicrob Chemother*, 62:889-894.
181. Valdezate S, Vindel A, Loza E, Baquero F, Canton R. (2001) Antimicrobial susceptibilities of unique *Stenotrophomonas maltophilia* clinical strains. *Antimicrob Agents Chemother*, 45:1581-1584.
182. Flamm RK, Castanheira, M., Streit, J.M., Jones, R.N. (2016) Minocycline activity tested against *Acinetobacter baumannii*, *Burkholderia cepacia* species complex, *Stenotrophomonas maltophilia*, and selected *Enterobacteriaceae* isolates from a European surveillance program 2013. 25th ECCMID:EV0254.
183. Chen YH, Lu PL, Huang CH, Liao CH, Lu CT, Chuang YC, Tsao SM, Chen YS, Liu YC, Chen WY, Jang TN, Lin HC, Chen CM, Shi ZY, Pan SC, Yang JL, Kung HC, Liu CE, Cheng YJ, Liu JW, Sun W, Wang LS, Ko WC, Yu KW, Chiang PC, Lee MH, Lee CM, Hsu GJ, Hsueh PR. (2012) Trends in the susceptibility of clinically important resistant bacteria to tigecycline: results from the Tigecycline In Vitro Surveillance in Taiwan study, 2006 to 2010. *Antimicrob Agents Chemother*, 56:1452-1457.
184. Jacquier H, Le Monnier A, Carbonnelle E, Corvec S, Illiaquer M, Bille E, Zahar JR, Jaureguy F, Fihman V, Tankovic J, Cattoir V. (2012) In vitro antimicrobial

- activity of "last-resort" antibiotics against unusual nonfermenting Gram-negative bacilli clinical isolates. *Microb Drug Resist*, 18:396-401.
185. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. (2016) EUCAST Guidance documents in susceptibility testing. Recommendations for colistin (polymyxin E) MIC testing.
  186. Sader HS, Rhomberg PR, Flamm RK, Jones RN. (2012) Use of a surfactant (polysorbate 80) to improve MIC susceptibility testing results for polymyxin B and colistin. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 74:412-414.
  187. Dafopoulou K, Zarkotou O, Dimitroulia E, Hadjichristodoulou C, Gennimata V, Pournaras S, Tsakris A. (2015) Comparative Evaluation of Colistin Susceptibility Testing Methods among Carbapenem-Nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* Clinical Isolates. *Antimicrob Agents Chemother*, 59:4625-4630.
  188. Malinowski AM, McClarty BM, Robinson C, Spear W, Sanchez M, Sparkes TC, Brooke JS. (2017) Polysorbate 80 and polymyxin B inhibit *Stenotrophomonas maltophilia* biofilm. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 87:154-156.
  189. Biswas S, Dubus JC, Reynaud-Gaubert M, Stremmler N, Rolain JM. (2013) Evaluation of colistin susceptibility in multidrug-resistant clinical isolates from cystic fibrosis, France. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis*, 32:1461-1464.
  190. Moskowitz SM, Garber E, Chen Y, Clock SA, Tabibi S, Miller AK, Doctor M, Saiman L. (2010) Colistin susceptibility testing: evaluation of reliability for cystic fibrosis isolates of *Pseudomonas aeruginosa* and *Stenotrophomonas maltophilia*. *J Antimicrob Chemother*, 65:1416-1423.
  191. Ni W, Li Y, Guan J, Zhao J, Cui J, Wang R, Liu Y. (2016) Effects of Efflux Pump Inhibitors on Colistin Resistance in Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria. *Antimicrob Agents Chemother*, 60:3215-3218.
  192. Giamarellos-Bourboulis EJ, Karnesis L, Galani I, Giamarellou H. (2002) In vitro killing effect of moxifloxacin on clinical isolates of *Stenotrophomonas maltophilia* resistant to trimethoprim-sulfamethoxazole. *Antimicrob Agents Chemother*, 46:3997-3999.
  193. Hachem R, Reitzel R, Rolston K, Chaftari AM, Raad I. (2017) Antimicrobial Activities of Ceftazidime-Avibactam and Comparator Agents against Clinical

- Bacteria Isolated from Patients with Cancer. *Antimicrob Agents Chemother*, 61:e02106-16.
194. Livermore DM, Mushtaq S, Meunier D, Hopkins KL, Hill R, Adkin R, Chaudhry A, Pike R, Staves P, Woodford N. (2017) Activity of ceftolozane/tazobactam against surveillance and 'problem' Enterobacteriaceae, *Pseudomonas aeruginosa* and non-fermenters from the British Isles. *J Antimicrob Chemother*, 72:2278-2289.
  195. Pfaller MA, Bassetti M, Duncan LR, Castanheira M. (2017) Ceftolozane/tazobactam activity against drug-resistant Enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* causing urinary tract and intraabdominal infections in Europe: report from an antimicrobial surveillance programme (2012-15). *J Antimicrob Chemother*, 72:1386-1395.
  196. van Duin D, Bonomo RA. (2016) Ceftazidime/Avibactam and Ceftolozane/Tazobactam: Second-generation beta-Lactam/beta-Lactamase Inhibitor Combinations. *Clin Infect Dis*, 63:234-241.
  197. Gramegna A, Millar BC, Blasi F, Elborn JS, Downey DG, Moore JE. (2018) In vitro antimicrobial activity of ceftolozane/tazobactam against *P. aeruginosa* and other non-fermenting Gram-negative organisms in adults with cystic fibrosis. *J Glob Antimicrob Resist*, doi:10.1016/j.jgar.2018.03.002.
  198. El-Halfawy OM, Valvano MA. (2015) Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity. *Clin Microbiol Rev*, 28:191-207.
  199. Sanchez MB, Martinez JL. (2015) The efflux pump SmeDEF contributes to trimethoprim-sulfamethoxazole resistance in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*, 59:4347-4348.
  200. Giamarellos-Bourboulis EJ, Karnesis L, Giamarellou H. (2002) Synergy of colistin with rifampin and trimethoprim/sulfamethoxazole on multidrug-resistant *Stenotrophomonas maltophilia*. *Diagn Microbiol Infect Dis*, 44:259-263.
  201. Church D, Lloyd T, Peirano G, Pitout J. (2013) Antimicrobial susceptibility and combination testing of invasive *Stenotrophomonas maltophilia* isolates. *Scand J Infect Dis*, 45:265-270.
  202. Visalli MA, Jacobs MR, Appelbaum PC. (1998) Activities of three quinolones, alone and in combination with extended-spectrum cephalosporins or gentamicin,

- against *Stenotrophomonas maltophilia*. *Antimicrob Agents Chemother*, 42:2002-2005.
203. Entenza JM, Moreillon P. (2009) Tigecycline in combination with other antimicrobials: a review of in vitro, animal and case report studies. *Int J Antimicrob Agents*, 34:8.e1-9.
  204. Gulmez D, Cakar A, Sener B, Karakaya J, Hascelik G. (2010) Comparison of different antimicrobial susceptibility testing methods for *Stenotrophomonas maltophilia* and results of synergy testing. *J Infect Chemother*, 16:322-328.
  205. Marchaim D, Perez F, Lee J, Bheemreddy S, Hujer AM, Rudin S, Hayakawa K, Lephart PR, Blunden C, Shango M, Campbell ML, Varkey J, Manickam P, Patel D, Pogue JM, Chopra T, Martin ET, Dhar S, Bonomo RA, Kaye KS. (2012) "Swimming in resistance": Co-colonization with carbapenem-resistant Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* or *Pseudomonas aeruginosa*. *Am J Infect Control*, 40:830-835.
  206. Falagas ME, Vardakas KZ, Roussos NS. (2015) Trimethoprim/sulfamethoxazole for *Acinetobacter* spp.: A review of current microbiological and clinical evidence. *Int J Antimicrob Agents*, 46:231-241.
  207. Nepka M, Perivolioti E, Kraniotaki E, Politi L, Tsakris A, Pournaras S. (2016) In vitro bactericidal activity of trimethoprim-sulfamethoxazole alone and in combination with colistin, against carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother*, 60:6903-6906.
  208. Bae S, Kim MC, Park SJ, Kim HS, Sung H, Kim MN, Kim SH, Lee SO, Choi SH, Woo JH, Kim YS, Chong YP. (2016) In vitro synergistic activity of antimicrobial agents in combination against clinical isolates of colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother*, 60:6774-6779.
  209. Kataoka D, Fujiwara H, Kawakami T, Tanaka Y, Tanimoto A, Ikawa S, Tanaka Y. (2003) The indirect pathogenicity of *Stenotrophomonas maltophilia*. *Int J Antimicrob Agents*, 22:601-606.
  210. Devos S, Stremersch S, Raemdonck K, Braeckmans K, Devreese B. (2016) Intra- and Interspecies Effects of Outer Membrane Vesicles from *Stenotrophomonas maltophilia* on beta-Lactam Resistance. *Antimicrob Agents Chemother*, 60:2516-2518.

211. El-Halfawy OM, Valvano MA. (2013) Chemical communication of antibiotic resistance by a highly resistant subpopulation of bacterial cells. *PLoS One*, 8:e68874.
212. Sherrard LJ, Tunney MM, Elborn JS. (2014) Antimicrobial resistance in the respiratory microbiota of people with cystic fibrosis. *Lancet*, 384:703-713.
213. Varposhti M, Entezari F, Feizabadi MM. (2014) Synergistic interactions in mixed-species biofilms of pathogenic bacteria from the respiratory tract. *Rev Soc Bras Med Trop*, 47:649-652.
214. Magalhaes AP, Lopes SP, Pereira MO. (2016) Insights into Cystic Fibrosis Polymicrobial Consortia: The Role of Species Interactions in Biofilm Development, Phenotype, and Response to In-Use Antibiotics. *Front Microbiol*, 7:2146.
215. Devos S, Van Oudenhove L, Stremersch S, Van Putte W, De Rycke R, Van Driessche G, Vitse J, Raemdonck K, Devreese B. (2015) The effect of imipenem and diffusible signaling factors on the secretion of outer membrane vesicles and associated Ax21 proteins in *Stenotrophomonas maltophilia*. *Front Microbiol*, 6:298.
216. Doern CD. (2014) When does 2 plus 2 equal 5? A review of antimicrobial synergy testing. *J Clin Microbiol*, 52:4124-4128.

## 9. Saját publikációk jegyzéke

### **Az értekezéshez kapcsolódó közlemények:**

Juhász E, Krizsán G, Lengyel G, Grósz G, Pongrácz J, Kristóf K. (2014) Infection and colonization by *Stenotrophomonas maltophilia*: antimicrobial susceptibility and clinical background of strains isolated at a tertiary care centre in Hungary. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*, 13:333.

Juhász E, Pongrácz J, Iván M, Kristóf Katalin. (2015) Antibiotic susceptibility testing of sulfamethoxazole-trimethoprim resistant *Stenotrophomonas maltophilia* strains isolated at a tertiary care centre in Hungary. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 62:295-305.

Juhász E, Kovács A, Iván M, Pongrácz J, Kristóf K. (2017) In vitro activity of colistin and trimethoprim/sulfamethoxazole against consortia of multidrug resistant non-fermenting Gram-negative bacilli isolated from lower respiratory tract. *Jundishapur J Microbiol*, 10: e14034.

Juhász E, Iván M, Pongrácz J, Kristóf K. (2018) Ritkábban előforduló, alsó légúti fertőzést okozó Gram-negatív nem fermentáló pálcák. *Orv Hetil*, 159:23-30.

### **Az értekezéstől független közlemények:**

Sárvári P, Sóki J, Kristóf K, Juhász E, Miszti C, Melegh Sz, Latkóczy K, Urbán E. (2018) A multicentre survey of the antibiotic susceptibility of clinical *Bacteroides* species from Hungary. *Infect Dis*, 50:372-380.

Sárvári P, Sóki J, Kristóf K, Juhász E, Miszti C, Latkóczy K, Melegh Sz, Urbán E. (2017) Molecular characterization of multidrug resistant *Bacteroides* isolates from Hungarian clinical samples. *J Glob Antimicrob Resist*, 13:65-69.

Juhász E, Pintér E, Iván M, Pongrácz J, Kristóf K. (2017) Colistin resistance among blood culture isolates at a tertiary care centre in Hungary. *J Glob Antimicrob Resist*, 11:167-170.

Adegathe J, Juhász E, Pongrácz J, Rimanóczy E, Kristóf K. (2016) Does *Staphylococcus saprophyticus* cause acute cystitis only in young females, or is there more to the story? A one-year comprehensive study done in Budapest, Hungary. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 63:57-67.

Pongrácz J, Benedek K, Juhász E, Iván M, Kristóf K. (2016) In vitro biofilm production of *Candida* bloodstream isolates: Any association with clinical characteristics? *J Med Microbiol*, 65:272-277.

Pongrácz J, Juhász E, Iván M, Kristóf K. (2015) Significance of yeasts in bloodstream infection: epidemiology and predisposing factors of candidaemia in adult patients at a university hospital (2010-2014). *Acta Microbiol Immunol Hung*, 62:317-329.

Nagy E, Ábrók M, Bartha N, Bereczki L, Juhász E, Kardos G, Kristóf K, Misztó C, Urbán E. (2014) Mátrix-asszisztált lézer deszorpciós, ionizációs, repülési idő mérésen alapuló tömegspektrometria speciális alkalmazása a klinikai mikrobiológiai diagnosztika területén. *Orv Hetil*, 155:1495-1503.

Juhász E, Jánvári L, Tóth A, Damjanova I, Nobilis A, Kristóf K. (2012) Emergence of VIM-4- and SHV-12-producing *Enterobacter cloacae* in a neonatal intensive care unit. *Int J Med Microbiol*, 302:257-260.

Juhász E, Béres J, Kanizsai S, Nagy K. (2012) The Consequence of a Founder Effect: CCR5-Delta 32, CCR2-64I and SDF1-3 ' A Polymorphism in Vlach Gypsy Population in Hungary. *Pathol Oncol Res*, 18:177-182.

Guba Z, Hadadi E, Major A, Furka T, Juhász E, Koos J, Nagy K, Zeke T. (2011) HVS-I polymorphism screening of ancient human mitochondrial DNA provides evidence for

N9a discontinuity and East Asian haplogroups in the Neolithic Hungary. *J Hum Genet*, 56:784-796.

Juhász E, Nagy K. Comparison of thirteen methods for aDNA (1731-1841) extractions. In: Gyulai G (szerk.), *Plant Archaeogenetics (Botanical Research and Practices)*. Nova Science Publishers, New York, 2011:129-134.

Juhász E, Ostorházi E, Pónyai K, Silló P, Párducz L, Rozgonyi F. (2011) Ureaplasmas: from commensal flora to serious infections. *Rev Med Microbiol*, 22:73-83.

Dobay O, Juhász E, Ungvári Á, Jeney C, Amyes S, Nagy K. (2009) Taguchi optimisation of a multiplex pneumococcal serotyping PCR and description of 11 novel serotyping primers. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 56:327-338.

Talha E, Juhász E, Kanizsai S, Nagy K. (2009) Molecular detection of *T. pallidum* by PCR in seronegative cases. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 56:181-189.

Juhász E, Ghidán A, Kemény B, Nagy K. (2008) Emergence of antiretroviral drug resistance in therapy-naive HIV infected patients in Hungary. *Acta Microbiol Immunol Hung*, 55:383-394.



## 10. Köszönetnyilvánítás

Köszönettel tartozom Kristóf Katalinnal, amiért figyelmemet a *S. maltophilia*ra irányította és lehetővé tette a vizsgálatok elvégzését a Laboratóriumi Medicina Intézet Klinikai Mikrobiológiai Diagnosztikai Laboratóriumában. Lehetőséget adott a multirezisztens törzsekkel végzett vizsgálatok eredményeinek bemutatására a Magyar Infektológiai és Klinikai Mikrobiológiai Társaság 40. kongresszusán. Lehetővé tette részvételemet a European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases 23. kongresszusán. Támogatta számos kiegészítő, klinikai mikrobiológiához szorosan nem kapcsolódó, inkább alapkutatás jellegű vizsgálat elvégzését. Több témába bevont, amivel szélesítette ismereteimet és segítette klinikai mikrobiológiai témájú közleményeim gyarapodását.

Köszönettel tartozom Vásárhelyi Barna programvezetőnek, amiért az „Alapkutatások klinikai alkalmazása” doktori programba bevonta a „Modern diagnosztikai eljárások alkalmazása a klinikai mikrobiológiában” témát. A Laboratóriumi Medicina Intézet igazgatójaként a vizsgálatok elvégzésének feltételeit biztosította, a klinikusokkal való együttműködésre és a laboratóriumi vizsgálatok eredményeinek integrált szemléletére tanított. Köszönöm a statisztikai számításokhoz nyújtott segítségét és a közlemények megírásához tett javaslatait.

Köszönettel tartozom Pongrácz Júlia, Iván Miklós Ábel, Kovács Andrea, Krizsán Gergely, Grósz Gábor, Lengyel György társszerzőknek és Pesti Józsefné asszisztensnek, amiért hozzájárultak az értekezés alapjául szolgáló közlemények létrejöttéhez.