



О. Г. Перетятко

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова Національної академії медичних наук України», м. Харків

© Перетятко О. Г.

ОСОБЛИВОСТІ АНТИБІОТИКОГРАМ ЕНТЕРОКОКІВ, ЩО РЕЗИСТЕНТНІ ДО ВИСОКИХ РІВНІВ АМІНОГЛІКОЗИДІВ

Резюме. Наведено результати вивчення антибіотикорезистентності 44 штамів ентерококів, вилучених з вмісту трофічних виразок та кишечника у хворих на цукровий діабет з синдромом «діабетична стопа». Встановлено високий рівень розповсюдження ентерококів HLAR та ARE – $(88,6 \pm 4,8) \%$ і $(41,0 \pm 7,8) \%$ відповідно, що виключає можливість застосування стандартної при лікуванні ентерококових інфекцій комбінації ампіциліну з аміноглікозидами. Встановлена низька активність фторхінолонів та хлорамфенікола. Підтверджена висока протиентерококова дія глікопептидів та лінезоліду. Обґрунтовано необхідність проведення мікробіологічного моніторингу антибіотикорезистентності ентерококів.

Ключові слова: антибіотикорезистентність, резистентність до високих доз аміноглікозидів (HLAR), ампіцилінрезистентні ентерококи (ARE).

Вступ

Ентерококи – представники нормальної мікрофлори людини, їх популяційний рівень у товстому кишечнику складає 10^6 - 10^8 життєздатних клітин на один грам фекалій. Але в останні роки науковцями багатьох країн світу відмічено зростання ролі цих мікроорганізмів у виникненні гнійно-септичних інфекцій [2, 12, 14]. Гострі гнійно-запальні процеси шкіри та м'яких тканин є частими супутниками цукрового діабету, що суттєво ускладнює перебіг захворювання та створює загрозу генералізації інфекції з розширенням зони гнійно-некротичного процесу. Виразкові дефекти стоп є важким ускладненням цукрового діабету [4, 5]. Вони утворюються в 6-10 % випадків захворювання, половина з яких інфікується. Інфіковані трофічні виразки приводять до ампутацій нижніх кінцівок з летальністю від 6 до 85 % випадків [7].

Планування антибактеріальної терапії ентерококових інфекцій ускладнюється природною резистентністю до деяких груп антибіотиків та швидким розповсюдженням набутої резистентності до нових антибактеріальних препаратів. При цьому ні один з відомих антибактеріальних препаратів не проявляє по відношенню до ентерококів бактерицидної дії [1, 14].

Для ентерококів характерна природна стійкість до антибіотиків цефалоспоринового ряду та низьких концентрацій аміноглікозидів, так званий «низький рівень резистентності», який обумовлено недостатньою проникливістю клітинної оболонки мікробів і неможливістю потрапляння антибіотика до чутливих мішеней. Механізм резистентності ентерококів до високих доз аміноглікозидів полягає у їх

ферментативній інактивації і втраті здатності зв'язуватись з рибосомами, внаслідок чого антибіотик стає неефективним. Не дивлячись на це, аміноглікозиди в комбінації з ампіциліном або ванкоміцином широко використовуються в терапії генералізованих ентерококових інфекцій. Доцільність таких схем лікування пояснюється вираженим синергізмом між аміноглікозидами та ампіциліном або ванкоміцином. Однак синергізм можливий тільки у випадку коли МІК аміноглікозидів не перевищує 500 мкг/мл для гентаміцину та 2000 мкг/мл для стрептоміцину, при цьому відсутня перехресна резистентність, що потребує проведення скринінгу на наявність у ентерококів високого рівня резистентності до обох препаратів [9, 15].

В науковій літературі є повідомлення про розповсюдження ентерококів з високим рівнем резистентності до аміноглікозидів (HLAR). Так, за даними European Antimicrobial Resistance Surveillance System (EARSS) кількість резистентних до аміноглікозидів *E. faecium* з 28,1 % у 2008 р. підвищилась до 39,3 % у 2012 р. Серед *E. faecalis* питома вага ентерококів HLAR складала 30,5 % у 2008 р. і 32,9 % у 2012 р. За даними EARSS-Net реєструється стабільно високий рівень розповсюдження ампіцилінрезистентних (ARE) *E. faecium*: 95,1 % у 2008 р. і 92,9 % у 2012 р. Аналогічний показник у *E. faecalis* складав 0,7 % у 2008 р. і 4,0 % у 2012 р. Кількість VRE серед *E. faecium* підвищилась з 35,7 % у 2008 р. до 46,8 % у 2012 р., тоді як аналогічний показник у *E. faecalis* складав 3,7 % у 2008 р. та 3,0 % у 2012 р. Підвищився рівень полірезистентних *E. faecium* з 16,2 % у 2008 р. до 20,3 % у 2012 р [11].

Мета дослідження

Визначити антибіотикочутливість ентерококів, резистентних до високих доз аміноглікозидів.

Матеріали та методи досліджень

У роботі використано 44 штами мікроорганізмів роду *Enterococcus*, з них 23 вилучено з вмісту трофічних виразок у хворих на цукровий діабет з синдромом «діабетична стопа», 21 штама – з кишечника цих же хворих.

Виділення ентерококів проводили на ентерококагарі (Оболеньск), ідентифікацію – за допомогою EN-COCCUStest (Erba Lachema, Чехія).

Чутливість ентерококів до пеніциліну, ампіциліну, норфлоксацину, ципрофлоксацину, пefлоксацину, левофлоксацину, офлоксацину, хлорамфеніколу, тейкопланіну, лінезоліду проводили диско-дифузійним методом з використанням стандартних комерційних дисків з антибіотиками на середовищі Мюллер-Хінтон (HiMedia, India). Для визначення чутливості ентерококів до високих доз аміноглікозидів використовували набір № 27 (ФГУН НИИЕМ ім. Пастера, Санкт-Петербург). Скринінг чутливості ентерококів до ванкоміцину визначали методом серійних розведень на серцево-мозковому агарі (HiMedia, India) [3].

Приготування мікробних суспензій із визначеною концентрацією клітин проводили за шкалою McFarland з використанням приладу Densi-La-Meter (PLIVA-Lachema Diagnostika, Чехія) [6].

Статистична обробка отриманих даних проводилася за допомогою методів параметричної статистики з обчисленням стандартної помилки частки.

Для перевірки гіпотези про рівність генеральних середніх двох незалежних (незв'язаних) вибірок використовували t-критерій Стюдента.

Статистична обробка результатів досліджень проведена за допомогою комп'ютерних програм Microsoft Excel 2007 та Statistica-6.

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз отриманих в ході нашого дослідження даних показав, що кількість штамів HLAR дорівнювала (88,6±4,8) %, що узгоджується з результатами інших дослідників у яких аналогічний показник складав (84,1 %) [10]. Частота розповсюдження резистентних до обох препаратів (гентаміцин+стрептоміцин) складала (70,4±6,9) %, при цьому (2,3±2,2) % характеризувались стійкістю до гентаміцину при чутливості до стрептоміцину. В цей же час (16,0±5,5) % штамів були стійкими до стрептоміцину і чутливими до гентаміцину. При аналізі даних в залежності від екотопу виділення

ентерококів слід відзначити, що достовірних відмінностей у розповсюдженні штамів, резистентних до обох препаратів не виявлено (рис.).

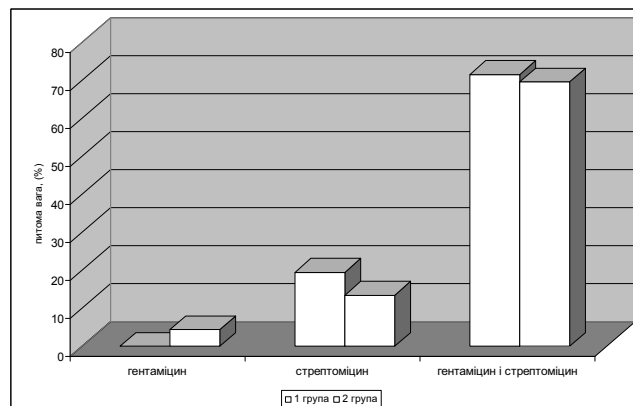


Рис. Питома вага ентерококів, нечутливих до аміноглікозидів: 1 група – штами, вилучені з кишечника; 2 група – штами, вилучені з трофічних виразок.

Так пенетрантність штамів, стійких до гентаміцину і стрептоміцину серед ентерококів, вилучених з кишечника складала (71,4±9,9) %, з трофічних виразок – (69,5±9,6) % (p>0,05). Відмінністю групи кишкових ентерококів була відсутність резистентних до гентаміцину при чутливості до стрептоміцину, тоді як (4,3±4,2) % штамів, вилучених з трофічних виразок характеризувались даним фенотипом. Кількість резистентних до стрептоміцину при чутливості до гентаміцину складала (19,4±8,6) % серед кишкових штамів і (13,4±7,1) % серед вилучених з трофічних виразок.

На наступному етапі нами проведено порівняльний аналіз чутливості ентерококів HLAR до антибіотиків різних груп (табл.).

Як було вказано вище, резистентність до аміноглікозидів пов'язана з недостатньою проникливістю клітинної оболонки мікробів. Під дією бета-лактамних антибіотиків відбувається порушення цілісності зовнішніх структур клітини і пасивна дифузія аміноглікозидів стає ефективною. Тому при лікуванні ентерококових інфекцій застосовується стандартна схема комбінування бета-лактамамів з аміноглікозидами (ампіцилін+гентаміцин, ампіцилін+стрептоміцин) [1, 14].

Аналіз результатів показав, що питома вага стійких до пеніциліну серед ентерококів HLAR складала (89,7±4,7) %, при цьому не виявлено розбіжностей в залежності від екотопу виділення. Так, кількість резистентних до пеніциліну серед кишкових штамів дорівнювала (89,5±7,0) %, серед вилучених з трофічних виразок – (94,7±5,0) % (p>0,05).

Результати визначення чутливості до ампіциліну показали, що по відношенню до досліджених штамів цей антибіотик мав більшу активність, ніж пеніцилін. Кількість стійких



Пенетрантність антибіотикорезистентності серед ентерококів HLAR, вилучених з трофічних виразок і кишечника хворих на цукровий діабет

Антибіотик	Кількість нечутливих серед штамів резистентних до:					
	гентаміцину		стрептоміцину		гентаміцину та стрептоміцину	
	абс	M±m, %	абс	M±m, %	абс	M±m, %
Пеніцилін	1	2,6±2,5	7	17,9±6,1	27	69,2±7,4
Ампіцилін	1	2,6±2,5	3	7,7±4,2	12	30,8±7,4
Норфлораксацин	1	2,6±2,5	7	17,9±6,1	23	51,3±8,0
Ципрофлоксацин	1	2,6±2,5	7	17,9±6,1	30	77,0±6,7
Пефлоксацин	0	0	5	12,8±5,3	16	41,0±7,8
Левовфлоксацин	1	2,6±2,5	6	15,4±5,8	19	48,7±8,0
Офлоксацин	1	2,6±2,5	6	15,4±5,8	25	64,1±7,7
Хлорамфенікол	1	2,6±2,5	5	12,8±5,3	17	43,6±7,9
Ванкоміцин	0	0	1	2,6±2,5	7	17,9±6,1
Тейкопланін	0	0	0	0	1	2,6±2,5
Лінезолід	0	0	0	0	0	0

до ампіциліну (ARE) складала (41,0±7,8) %. Наші результати узгоджуються з даними інших дослідників, згідно з якими кількість ампіцилінрезистентних штамів серед ентерококів HLAR, вилучених у хворих хірургічного профілю складала (38,2±5,9) % [10]. По частоті розповсюдження ампіцилінстійких ентерококів між аналізованими групами не було достовірних розбіжностей (p>0,05).

Нашими дослідженнями підтверджена низька протиентерококова дія фторхінолонів. Найбільшу активність по відношенню до ентерококів проявляв пефлоксацин, (46,2±7,9) % штамів характеризувались чутливістю до цього препарату. До інших антибіотиків даного ряду виявлено велику кількість нечутливих від (66,7±7,5) % до (97,4±2,5) % від всіх взятих в дослід ентерококів. До рекомендуемого при ентерококових інфекціях ципрофлоксацину питома вага нечутливих штамів складала (97,4±2,5) %. Наші дослідження підтверджують дані інших авторів, що вказують на високу розповсюдженість резистентних до фторхінолонів ентерококів [8, 10, 13].

Аналізуючи чутливість ентерококів до фторхінолонів в залежності від екоотопу виділення встановлено, що відмінністю групи кишкових штамів була 100 % нечутливість до ципрофлоксацину, тоді як у групі ентерококів, вилучених з трофічних виразок (10,0±6,7) % штамів були чутливими до дії цього антибіотика. По відношенню до кишкових ентерококів пефлоксацин був більш активним, так (52,6±11,4) % штамів характеризувались чутливістю, аналогічний показник у штамів з трофічних виразок складав (40,0±10,9) %. Взагалі, кількість нечутливих до фторхінолонів серед кишкових штамів складала від (47,4±10,9) % до 100,0 %, серед раневих – від (60,0±10,2) % до (90,5±6,1) %.

При аналізі антибактеріальної активності хлорамфеніколу виявлено (59,0±7,9) % резистентних штамів. При цьому встановлено, що по відношенню до кишкових ентерококів хлорамфенікол був більш активним, так (57,9±11,3) % штамів були чутливими, тоді як кількість раневих ентерококів, чутливих до цього препарату була меншою в 2,3 рази і складала (25,0±9,7) % (p<0,05).

Нашими дослідженнями підтверджена висока активність глікопептидних антибіотиків, що узгоджується з літературними даними [8, 10]. Виявлено лише один резистентний до тейкопланіну штам, серед вилучених з вмісту трофічних виразок, що складало (2,6±2,4) % від взятих в дослід ентерококів. До ванкоміцину виявлено (20,5±6,1) % помірно чутливих штамів (МІК 8–16 мкг/мл). Встановлена 100 % чутливість до лінезоліду. На наш погляд, ефективність глікопептидів та лінезоліду пов'язана з нечастим застосуванням цих препаратів як у цілому в Україні так і в даному стаціонарі зокрема.

Висновки

1. Встановлено високу розповсюдженість ентерококів HLAR (88,6±4,8) % та ARE (41,0±7,8) %, що виключає можливість застосування стандартної при лікуванні ентерококових інфекцій комбінації ампіциліну з аміноглікозидами.
2. Встановлено низьку протиентерококову активність фторхінолонів. питома вага нечутливих складала від (53,8±7,9) % до (97,4±2,5) %.
3. Підтверджено високу активність глікопептидів та лінезоліду.
4. Результати наших досліджень обґрунтовують доцільність періодичного мікробіологічного моніторингу в лікувальних закладах для своєчасного усвідомлення зміни антибіотикочутливості ентерококів і внесення коректив в етіотропну терапію ентерококових інфекцій.

ЛІТЕРАТУРА

1. Журавков Ю. Л. Проблема антибиотикотерапии резистентных инфекций на современном этапе / Ю. Л. Журавков, А. А. Королева, А. Л. Станишевский // Военная медицина. – 2013. – № 2. – С. 110–119.
2. Меркоданова Ю. А. Механизмы уропатогенности бактерий при хроническом пиелонефрите у детей / Ю. А. Меркоданова // Саратовский научно-медицинский журнал. – 2010. – Том 6, № 2. – С. 383–385.
3. Про затвердження методичних вказівок : Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів : [Чинний від 05.04.2007]. – К. : МОЗ України, 2007. – 51 с. (Нормативний документ МОЗ України. Наказ № 167).
4. Прошин А. В. Хирургическое лечение гнойно-некротических осложнений синдрома диабетической стопы : автореф. дис. ... док. мед. наук: 14.01.17 / Прошин Андрей Владимирович ; Московский государственный медико-стоматологический университет им. А. И. Евдокимова – М., 2012. – 54 с.
5. Рациональная антибактериальная терапия гнойных осложнений синдрома диабетической стопы / М. Д. Дибиров, Р. У. Гаджимурадов, А. В. Прошин [и др.] // Ангиология и сосудистая хирургия. – 2012. – Т. 18. – С. 113–114.
6. Стандартизація приготування мікробних суспензій : Інформаційний лист / Укрмедпатентінформ. – К., 2006. – 6 с.
7. Французов, В. Н. Диагностика и лечение хирургических инфекций стопы при сахарном диабете / В. Н. Французов, Е. В. Хайкина, Г. К. Решедько // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 235–244.
8. Шишло И. Ф. Рациональный выбор антимикробных препаратов для терапии послеоперационного перитонита, вызванного энтерококками / И. Ф. Шишло // Рецепт. – 2009. – № 5. – С. 87–91.
9. Яковлев С. В. Обоснование антибактериальной терапии нозокомиальных инфекций, вызванных полирезистентными микроорганизмами / С. В. Яковлев, М. П. Суворова // Клиническая фармакология и терапия. – 2011. – Т. 20, № 2. – С. 24–34.
10. Яновська В. В. Біологічні властивості ентерококів як збудників запальних процесів сечовивідних шляхів : автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.07 / Яновська Валентина Володимирівна ; Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського – К. 2009. – 24 с.
11. Antimicrobial resistance in Europe [electronic resource]. – Mode of access : [http://www.ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARSNet/Pages/index.aspx].
12. Munita J. Enterococcal endocarditis: can we win the war? [Text] / M. Munita, C. Arias, B. Murray // Current infectious disease reports. – 2012. – № 14 (4). – P. 339–349.
13. Sreeja S. The Prevalence and the Characterization of the Enterococcus Species from Various Clinical Samples in a Tertiary Care Hospital / S. Sreeja, S. Babu, P. Prathab // Journal of Clinical and Diagnostic Research. – 2012. – Vol. 6(9). – P. 1486–1488.
14. The Sanford Guide to Antimicrobial Therapy, 2010 / D.N. Gilbert, R.C. Moellering, G.M. Eliopoulos 42-th edition. // Antimicrobial Therapy Inc. Sperryville VA, USA. – 2010. – 220 p.
15. Treatment of dialysis catheter-related Enterococcus bacteremia with an antibiotic lock: a quality improvement report / W. J. Peterson, I. D. Maya, D. Carlton [et al.] // Am. J. Kidney Dis. – 2009. – № 53(1). – P. 107–111.

ОСОБЕННОСТИ
АНТИБИОГРАММ
ЭНТЕРОКОККОВ,
РЕЗИСТЕНТНЫХ К
ВЫСОКИМ УРОВНЯМ
АМИНОГЛИКОЗИДОВ

Е. Г. Перетятко

Резюме. Приведены результаты изучения антибиотикорезистентности 44 штаммов, выделенных из трофических язв и кишечника у больных сахарным диабетом с синдромом «диабетическая стопа». Установлен высокий уровень распространенности энтерококков HLAR и ARE – (88,6±4,8) % и (41,0±7,8) % соответственно, что исключает возможность проименения стандартной при лечении энтерококковых инфекций комбинации аминогликозидов с ампициллином. Установлена низкая активность фторхинолонов и хлорамфеникола. Подтверждено противоэнтерококковое действие гликопептидов и линезолида. Обоснована необходимость проведения микробиологического мониторинга антибиотикорезистентности энтерококков.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, резистентность к высоким дозам аминогликозидов (HLAR), ампициллин-резистентные энтерококки (ARE).

FEATURES
OF ANTI BIOGRAM
OF ENTEROCOCCI
RESISTANT
TO HIGH LEVELS
OF AMINOGLYCOSIDES

Е. Г. Peretyatko

Summary. The results of studies of antibiotic resistance of 44 strains isolated from trophic ulcers and intestine in diabetic patients with the syndrome of «diabetic foot» are given. Established a high level of prevalence of enterococci HLAR and ARE - (88,6 ± 4,8)% and (41,0 ± 7,8)%, respectively, which precludes the standard in the treatment of enterococcal infections in the combination of aminoglycoside with ampicillin. Established low activity of fluoroquinolones and chloramphenicol. Validated anti enterococcal action of glycopeptides and linezolid. Substantiated the necessity of microbiological monitoring of antibiotic resistance of enterococci.

Key words: antibiotic resistance, resistance to high doses of aminoglycosides (HLAR), ampicillin resistant enterococci (ARE).