

МІКРОБІОЛОГІЯ

© *Лобанова Ю. І., Крисенко О. В., Скляр Т. В., Вінніков А. І

УДК 576. 61:616

*Лобанова Ю. І., Крисенко О. В., Скляр Т. В., Вінніков А. І

АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ШТАМІВ ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ У ВІДДІЛЕННЯХ ХІРУРГІЧНОГО ПРОФІЛЮ

Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара

(м. Дніпропетровськ)

*Комунальна лікувально-профілактична установа «Донецьке обласне клінічне
територіальне медичне об'єднання» (м. Донецьк)

Дана робота є фрагментом НДР кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпропетровського Національного Університету ім. Олесь Гончара, яка виконана в рамках держбюджетної теми «Особливості антибіотикорезистентності бактерій родини *Enterobacteriaceae*», № держ. реєстрації 0112U00192, № 1-262-12.

Вступ. Проблема антибіотикорезистентності бактерій родини *Enterobacteriaceae* є досить актуальною в сучасній клінічній практиці, поширення яких лише зростає по мірі вдосконалення медичних технологій. Водночас, інтенсивний селективний натиск антибіотиків, обумовлює швидку еволюцію і поширення резистентних штамів бактерій, зокрема таких, що спричиняють інфекційні ускладнення у хірургії.

В етіологічній структурі хірургічних інфекцій провідна роль належить грамнегативним мікроорганізмам. Саме при цих інфекціях спостерігаються найбільші труднощі у виборі адекватного режиму антибіотикотерапії, оскільки для збудників характерні множинні та складні механізми резистентності, формування полірезистентності в процесі проведення антибіотикотерапії. Проблема ускладнюється тим, що на практиці не завжди вдається виявити резистентність *in vitro*, що призводить до помилкових рекомендацій у виборі ефективного режиму терапії [1, 2].

Метою роботи було дослідити рівень та спектри стійкості до антибіотиків бактерій родини *Enterobacteriaceae*.

Об'єкт і методи дослідження. Об'єктом дослідження були ізоляти ентеробактерій виділені від пацієнтів хірургічних відділень. Матеріалом для дослідження було відокремлюване з раневих поверхонь в разі виникнення післяопераційних ускладнень. Було проведено виділення та ідентифікація мікроорганізмів, а також визначення їх чутливості до антибіотиків.

Всього за 12 місяців 2012 року до лабораторії на дослідження надійшло 492 зразки патологічного

матеріалу, з підозрою на ураження викликане бактеріями, які було отримано з відділень хірургічного профілю, у 297 з них було виявлено мікроорганізми.

Ідентифікацію ентеробактерій проводили відповідно до наказу № 535 від 22. 04. 1985 р. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» [6]. Для визначення резистентності використовували метод дисків [5]. Проводили визначення резистентності до таких груп антибіотиків: пеніциліни – ампіциліни та амоксицилін; цефалоспорини – цефотаксим, цефтазідім та цефіпім; карбопенеми – меропенем; аміноглікозиди – гентаміцин, амікацін та тобраміцин; фторхінолони – ципрофлоксацин та норфлоксацин.

Результати досліджень та їх обговорення.

Всього за 12 місяців до лабораторії на дослідження надійшло 492 зразки патологічного матеріалу, які було отримано з хірургічних відділень. У 297 зразках (70,5%) було виділено мікроорганізми, що викликали інфекційне ураження раневої поверхні. Встановлено, що присутні мікроорганізми наступних родів: *Enterobacteriaceae*, *Staphylococcus*, *Pseudomonas* та інші мікроорганізми, що не належали до досліджуваних груп. Аналіз отриманих результатів показав, що основним етіологічним фактором післяопераційної раневої інфекції у дослідженій групі були умовно-патогенні ентеробактерії, які виявлено у 30,0% матеріалу (88 зразків). З представлених даних можна заключити, що найбільш широкий спектр збудників було виявлено у відділенні хірургії, що може бути пояснено особливостями біотопу. Водночас слід відмітити переважання мікроорганізмів родини *Enterobacteriaceae* (рис. 1) над усіма іншими, так, найбільш часто виявляли *Escherichia coli* (44,32%), дещо рідше – *Klebsiella pneumonia* (12,5%), *Morganella morganii* (10,23%), *Proteus mirabilis* (5,67%), на долю інших збудників – 13,64%.

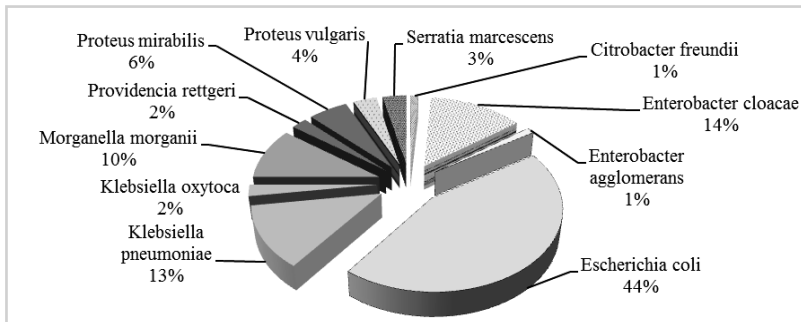


Рис. 1. Представники бактерій родини *Enterobacteriaceae*, виділені з ранових поверхонь.

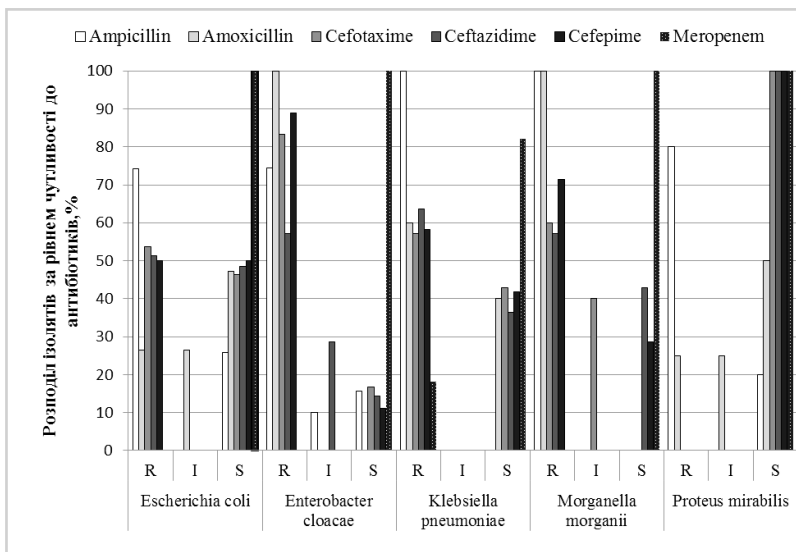


Рис. 2. Розподіл виділених ізолятів за рівнем чутливості до антибіотиків з груп пеніцилінів, цефалоспоринов та карбапенемів.

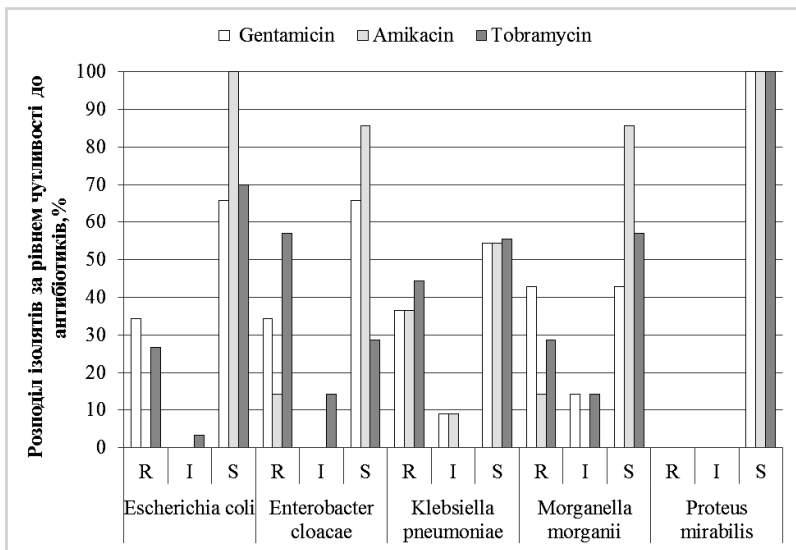


Рис. 3. Розподіл виділених ізолятів за рівнем чутливості до антибактеріальних препаратів з групи аміноглікозидів.

Найбільший рівень стійкості серед усіх ізолятів зафіксовано до пеніцилінів (ампіцилін та амоксицилін) від 77,9% до 85,7%. При цьому до цефалоспоринов стійкими були від 50% (*E. coli*) до 88,9% (*E. cloacae*).

Найефективнішим антибіотиком виявився меропенем: стійкість відмічено лише серед ізолятів *K. pneumoniae* (18% стійких), це негативна ознака, так як до сьогодні карбапенемі вважалися групою препаратів, проти якої мікроорганізми ще не мають стійкості (рис 2).

Основними механізмами стійкості до бета-лактамних антибіотиків у ентеробактерій є продукція плазмідних і хромосомних бета-лактамаз, порушення проникності зовнішньої мембрани, модифікація мішені пеніцилінз'вязуючих білків [3, 4, 11, 13].

Слід відзначити, що у літературних джерелах також відмічається резистентність ентеробактерій до цефалоспоринов I-III та частково IV поколінь [6, 9], які також можуть бути збудники післяопераційних ускладнень.

Наведені на рис. 3 дані свідчать, що ефективними виявилися аміноглікозидні антибіотики, з яких протестовано гентаміцин, амікацин та тобраміцин.

Визначено, що найефективнішим серед аміноглікозидів був амікацин – від 55% (*K. pneumoniae*) до 100% ізолятів (*E. coli* та *P. mirabilis*) були чутливими до нього.

Тобраміцин був менш активний по відношенню до *E. cloacae* – 57,1%, *K. pneumoniae* – 44,4% резистентних штамів, але 100% штамів *P. mirabilis*, 70% *E. coli* та 57,1% ізолятів *M. morganii* були чутливими.

До гентаміцину серед дослідних штамів були чутливими від 55% (*K. pneumoniae*) до 100% ізолятів (*P. mirabilis*). Але серед штамів *M. morganii* 43% ізолятів були стійкими.

Основним механізмом стійкості до аміноглікозидів є їхня інактивація шляхом модифікації. Модифіковані молекули аміноглікозидів втрачають здатність зв'язуватися з рибосомами й придушувати біосинтез білка [12].

Виділені штами ентеробактерій виявили значну варіабельність щодо стійкості до фторхінолонів (рис. 4). До ципрофлоксацину досліджені штами були стійкими від 45% (*K. pneumoniae*) до 71% (*M. morganii*) ізолятів, але 60% штамів *P. mirabilis* були чутливими.

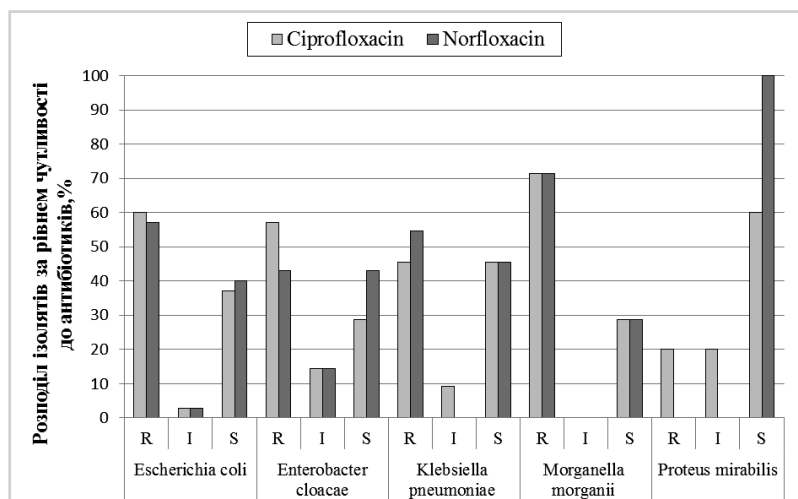


Рис. 4. Розподіл виділених ізолятів за рівнем чутливості до антибактеріальних препаратів з групи фторхінолонів.

До норфлоксацину була схожа стійкість, тільки серед штамів *P. mirabilis* були чутливими 100% ізолятів.

Таким чином, фторхінолони займають одне з провідних місць у терапії раневих інфекцій, особливо тих, що спричинені грамнегативними мікроорганізмами. Вище ми вже відмічали, що частка представників родини *Enterobacteriaceae* у етіології раневих інфекцій пацієнтів лікарняних стаціонарів доволі висока (майже третина випадків), і по відношенню до них саме фторхінолони є одними з найбільш дієвих агентів [8]. Звичайно ж слід урахувати протипоказання при застосуванні (вагітність, порушення ниркової діяльності тощо), що зменшує спектр пацієнтів [9], однак, при перевищенні терапевтичним ефектом ризиків та при відсутності альтернативи можливе використання цих препаратів навіть у тих випадках, до яких є протипоказання.

механізмів антибіотикорезистентності клінічних ізолятів ентеробактерій, зокрема виявлення штамів, що продукують бета-лактамази розширеного спектру (БЛРС), оскільки саме ці бактерії характеризуються здатністю до продукції такого типу бета-лактамаз. Актуальність та практична значимість таких досліджень зумовлена тим, що БЛРС забезпечують резистентність до цефалоспоринових різних поколінь, які є препаратами вибору у терапії хірургічних ускладнень.

Отримані дані можуть бути рекомендовані клініцистам для складання формулярів емпіричної антибіотикотерапії в медичних установах хірургічного профілю; епідеміологам – для розробки заходів з обмеження розповсюдження множиннорезистентних ентеробактерій та планування профілактичних заходів.

Висновок. Визначено, що найбільший відсоток стійких штамів ентеробактерій був виявлений по відношенню до пеніцилінів (ампіцилін та амоксицилін) від 77,9 до 85,7%. При цьому до цефалоспоринових стійкими були від 50% до 88,9%. Встановлено, що найбільш чутливими ізоляти були до карбопенемів (96,6%), лише серед *K. pneumoniae* 18% стійких ізолятів. По відношенню до аміноглікозидів найбільша чутливість спостерігалась до амікацину (85%). Понад 65% ізолятів ентеробактерій були чутливими до фторхінолонів.

Перспективи подальших досліджень. Перспективою подальших досліджень є встановлення

Література

1. Антибактериальная терапия. Практическое руководство / Под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. – Москва: Б. и., 2000. – С. 27-39.
2. Белоусова С. Н. Антибактериальная терапия / С. Н. Белоусова, Р. С. Козлов. – М.: Полимаг, 2000. – С. 190-198.
3. Беляев А. В. Клиническое значение β-лактамаз расширенного спектра действия / А. В. Беляев // Клиническая антибиотикотерапия. – 2003. – № 1. – С. 10-14.
4. Костюченко А. Л. Эмпирическая антимикробная химиопрофилактика и химиотерапия у хирургического больного / А. Л. Костюченко // Анестезиология и реаниматология. – 1999. – № 2. – С. 45-48.
5. Наказ МОЗ України № 167 від 05. 04. 2007 «Про затвердження методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». – К: МОЗ України, 2007. – 63 с.
6. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: приказ № 535. – [чинний від 22.04.1985р.]. – М.: МОЗ СССР, 1985. – 65 с.
7. Поздеев О. К. Энтеробактерии: Руководство для врачей / О. К. Поздеев, Р. В. Федоров. – М.: ГЭОТАР-Медиа, 2007. – 720 с.
8. Страчунский Л. С. Антибиотики: клиническая фармакология / Л. С. Страчунский, С. Н. Козлов. – Смоленск: Град, 1994. – С. 208-254.
9. Яковлев С. В. Место фторхинолонов в лечении бактериальных инфекций / С. В. Яковлев // Лечащий врач. – 2008. – № 2. – С. 59-63.
10. Liu P. Y. Antimicrobial resistance to cefotaxime and ertapenem in *Enterobacteriaceae*: The effects of altering clinical breakpoints / P. Y. Liu, Z. Y. Shi, K. C. Tung [et al.] // J. Infect. Dev. Ctries. – 2014. – Vol. 8 (3). – P. 289-296.
11. Livermore D. M. β-lactamases in laboratory and clinical resistance / D. M. Livermore // Clin. Microbiol. Rev. – 2005. – Vol. 8. – P. 557-584.

12. Miller G. H. Nature and rate of aminoglycoside resistance mechanisms / G. H. Miller // Clin. Drug Invest. – 1996. – Vol. 12, Suppl. 1. – P. 1-12.
13. The new beta-lactamases / J. W. Decousser, P. Pfister, X. Xueref [et al.] / Med. Trop. – 1999. – № 59 (3). – P. 259-265.

УДК 576. 61:616

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ШТАМІВ ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ У ВІДДІЛЕННЯХ ХІРУРГІЧНОГО ПРОФІЛЮ

Лобанова Ю. І., Крисенко О. В., Скляр Т. В., Вінніков А. І

Резюме. Об'єктом досліджень були ізоляти бактерій родини *Enterobacteriaceae* від пацієнтів хірургічних відділень, та особливості їх антибіотикорезистентності.

Метою роботи було вивчити біологічні властивості клінічних штамів ентеробактерій, виділених у хірургічних відділеннях та дослідити їхні рівні та спектри стійкості до антибіотиків.

Одержані висновки та їх новизна: визначено ентеробактерії, що виділяються з матеріалу від пацієнтів хірургічних відділень. Визначено спектр чутливості до антибіотиків цих мікроорганізмів. Встановлено, що серед збудників раневих інфекцій у відділеннях хірургічного профілю виявляють *Enterobacteriaceae* (30%), *Staphylococcus* (25%), *Pseudomonas* (15%) та інші мікроорганізми, що не належали до цих таксономічних груп. Водночас в структурі ентеробактерій переважали *Escherichia* (44,32%), на долю інших збудників припадали 12,5% (*Klebsiella*), до 5,67% (*Proteus*). Встановлено, що найбільше чутливими ізоляти були до карбопенемів (96,6%), лише серед *K. pneumonia* 18% стійких ізолятів. По відношенню аміноглікозидів найбільша чутливість спостерігалась до амікацину (85%). Понад 65% ізолятів ентеробактерій були чутливими до норфлоксацину. Визначено, що найбільший відсоток стійких штамів ентеробактерій був виявлений по відношенню до пеніцилінів (ампіцилін та амоксицилін) від 77,9 до 85,7%. При цьому до цефалоспоринів стійкими були від 50% до 88,9%.

Результати досліджень можуть бути використані для розробки раціональних схем емпіричної антибіотикотерапії пацієнтів із іншими ускладненнями раневих поверхонь у відділеннях хірургічного профілю.

Ключові слова: ентеробактерії; антибіотикотерапія; стійкість до антибіотиків.

УДК 576. 61:616

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ШТАММОВ ЭНТЕРОБАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ В ОТДЕЛЕНИЯХ ХИРУРГИЧЕСКОГО ПРОФИЛЯ

Лобанова Ю. И., Крысенко А. В., Скляр Т. В., Винников А. И

Резюме. Объектом исследования были изоляты бактерий семейства *Enterobacteriaceae* от пациентов хирургических отделений, и особенности их антибиотикорезистентности.

Целью работы было изучить биологические свойства клинических штаммов энтеробактерий, выделенных в хирургических отделениях и исследовать их уровни и спектры устойчивости к антибиотикам.

Полученные выводы и их новизна: изучен спектр энтеробактерий, выделяемых из материала от пациентов хирургических отделений. Определен спектр чувствительности к антибиотикам этих микроорганизмов. Установлено, что среди возбудителей раневых инфекций в отделениях хирургического профиля обнаруживаются *Enterobacteriaceae* (30%), *Staphylococcus* (25%), *Pseudomonas* (15%) и другие микроорганизмы, которые не принадлежали к изучаемым группам. Одновременно в структуре энтеробактерий преобладали *Escherichia* (44,32%), на долю других возбудителей приходилось 12,5% (*Klebsiella*), до 5,67% (*Proteus*). Установлено, что наиболее чувствительными изоляты были к карбопенемам (96,6%), и только среди *K. pneumonia* – 18% устойчивых изолятов. По отношению к аминогликозидам наибольшая чувствительность наблюдалась к амикацину (85%). Более 65% изолятов энтеробактерий были чувствительными к норфлоксацину. Определено, что наибольший процент устойчивых штаммов энтеробактерий был обнаружен по отношению к пенициллинам (ампициллин и амоксициллин) от 77,9 до 85,7%. При этом к цефалоспорином устойчивыми были от 50% до 88,9%.

Результаты исследований могут быть использованы для разработки рациональных схем эмпирической антибиотикотерапии пациентов с осложнениями раневых поверхностей в отделениях хирургического профиля.

Ключевые слова: энтеробактерии; антибиотикотерапия; устойчивость к антибиотикам.

UDC 576. 61: 616

Antibioticresistance of Enterobacteria Strains, Isolated in Surgical Departments

Lobanova Y. I., Krysenko O. V., Skliar T. V., Vinnikov A. I.

Abstract. The problem of antibioticresistance of the family *Enterobacteriaceae* bacteria are significant for clinical practice, the spreading of them increases with improving of medical technology. The intense selective pressure of antibiotics causes the rapid evolution and spreading of resistant strains of bacteria, that provoke infectious lesions in surgery. In the etiological structure of surgical infections the leading role belong to gram-negative organisms. Under these infections observed difficulties in choosing of appropriate antibiotic therapy,

because for these pathogens multiple complex mechanisms of resistance and forming of polyresistance is typical process under antibiotic therapy. The problem is complicated by the fact, that in practice is not always possible to detect resistance in vitro, that lead to mistakes in recommendations of effective mode of therapy choose.

The aim of the study was to investigate the level and spectrum of antibiotic resistance of family *Enterobacteriaceae* representatives.

Object and methods. The object of the study were isolates of enterobacteria, received from surgeries departments patients. Material for the study was collected from the wound surface, in cause of postoperative lesions. Isolation and identification of microorganisms and their sensitivity to antibiotics were studied. A total 492 samples of pathological material from suspected lesions caused by bacteria, that received from surgical departments, were studied. The antibiotic resistance was studied by the method of disks.

The obtained results and their novelty. From total 492 samples of pathological material 297 (70.5%) bacterial strains were isolated. These strains were identified as representatives of family *Enterobacteriaceae* (30%), genus *Staphylococcus* (25%), *Pseudomonas* (15%) and others. *Predominance* of enterobacteria among others was shown. The most frequently isolated were the stains of *Escherichia coli* (44,32%), less frequently – *Klebsiella pneumoniae* (12,5%), *Morganella morganii* (10,23%), *Proteus mirabilis* (5,67%), the share of other pathogens – 13.64%.

The highest level of resistance among all isolates was fixed to β -lactame antibiotics (ampicillin and amoxicillin): from 77.9% to 85.7% of isolates were resistant. Resistant to cephalosporins were 50% of *E. coli* and 88,9% of *E. cloacae*.

The most effective antibiotic was meropenem, resistant to it was only 18% isolates of *K. pneumoniae*.

It was determined, that the most effective among the aminoglycosides was amikacin – (55% of *K. pneumoniae*, 100% of *E. coli* and *P. mirabilis* isolates were sensitive to it. Tobramycin was less active in relation to *E. cloacae* – 57,1%, *K. pneumoniae* – 44,4% resistant strains, but 100% of *P. mirabilis* strains, 70% of *E. coli* and 57.1% of *M. morganii* isolates were sensitive. Among experimental strains were susceptible to gentamicin 55% isolates of *K. pneumoniae* and 100% of isolates *P. mirabilis*. But among *M. morganii* strains 43% were resistant.

Isolated strains of enterobacteria revealed significant variability of resistance level to fluoroquinolones. 45% of *K. pneumoniae* and 71% of *M. morganii* strains were resistant to ciprofloxacin, but among the studied *P. mirabilis* strains 100% of isolates were susceptible.

Prospects for further research is to establish the mechanisms of antibiotic resistance of enterobacteria clinical isolates, including identifying strains, that produce beta-lactamases with extended spectrum (ESBL), because these bacteria are characterized by the ability to product of this type of beta-lactamases. The relevance and practical importance of such research is significant, because known, that ESBL provide resistance to cephalosporins of different generations, that are the drugs of choice in the treatment of surgical lesions.

Received data can be recommended for clinicians to compile forms of empirical antibiotic therapy in surgical departments of healthcare facilities; for epidemiologists – to develop measures for limit the spreading of multidrug resistant strains of enterobacteria and planning preventive measures.

Keywords: enterobacteria, antibiotic therapy, resistance to antibiotics.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.
Стаття надійшла 10. 09. 2014 р.