УДК 615.015.8+615.33:616.98+369.223.22.008.064.3

МІКРОБІОЛОГІЧНИЙ МОНІТОРИНГ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ОСНОВНИХ ЗБУДНИКІВ ВНУТРІШНЬО-ЛІКАРНЯНИХ ІНФЕКЦІЇ НА ЗАКАРПАТТІ ЗА 2013 – 2014 РР.

Коваль Г.М. [1]***, Карабиньош С.О.,***[1] ***Коваль Н.М.*** [3]***, Туряниця С.М.*** [1]***, Русин В.І.*** [2]
ДВНЗ «Ужгородський національний університет», медичний факультет, кафедра мікробіології, вірусології та імунології з курсом інфекційних хвороб,[1] *кафедра хірургічних хвороб*[2]*, кафедра фармацевтичних дисциплін*[3]*, м. Ужгород*

Вступ

На сьогодні в Україні, незважаючи на актуальність проблеми, не розроблена система моніторингу за резистентністю мікроорганізмів до протимікробних препаратів, яка б дієво сприяла боротьбі з внутрішньолікарняною інфекцією. Виникнення резистентності до багатьох антибіотиків, таких як бета-лактамні препарати, макроліди, хінолони та глікопептиди, стає важливою проблемою охорони здоров'я в усьому світі. Однією з найзначніших проблем виявився метицилінрезистентний золотистий стафілокок (MRSA), рівні резистентності якого досягли 60% в Японії [1,8] та 40% в США [9], 70% в Україні [5]. Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) розроблені Рекомендації щодо організації спостереження за антибіотикорезистентністю [2, 12], згідно з якими для отримання інформації, необхідної для розробки і впровадження ефективних підходів до лікування інфекцій, стримування появи і розповсюдження мікробної резистентності на локальному, регіональному і національному рівнях необхідно налагодити систематичний епідеміологічний нагляд. З метою реалізації рекомендацій ВООЗ у більшості країн світу розроблені Національні програми боротьби з резистентністю. При цьому в кожній країні, з урахуванням її політичних, економічних, соціальних та інших особливостей, розроблені свої базові програми епідемічного нагляду, які адаптовано під умови конкретного закладу охорони здоров'я і можливостей мікробіологічної лабораторії [10, 11].

Європейська система нагляду і контролю за антибіотикорезистентністю – EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System) створена у 1999 році [3,13]. Вона є найбільшою системою нагляду і контролю у всьому світі, що фінансується за державні кошти. EARSS забезпечує обгрунтовані і порівняльні дані стосовно 7 видів бактерій, які є індикаторами розвитку АМР в Європі: *Streptococcus pneumoniae, Staphylococcus aureus, Escherichia coli, Enterococcus faecalis, Enterococcus faecium, Klebsiella pneumoniae і Pseudomonas aeuruginosa.*

На відміну від європейських країн, в Україні не існує загальнонаціонального центру чи контролюючого органу по боротьбі з нозокоміальними інфекціями. Тільки у 2010 році [4, 13] було представлено на розгляд Проект розпорядження Кабінету Міністрів України «Про схвалення Концепції Державної цільової програми профілактики внутрішньо-лікарняних інфекцій на період до 2015 року». Це дало би можливість запровадити моніторинг поширення і резистентності збудників внутрішньолікарняних інфекцій до дії протимікробних препаратів, удосконалення критеріїв їх раціонального використання, впровадження новітніх технологій, методів, засобів та приладів для точної мікробіологічної діагностики на території України.

На сьогодні у нашій країні визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів здійснюються на підставі методичних вказівок 9.9.5-143-2007, затверджених наказом МОЗ України від 05.04.2007 за № 167. В цьому ж документі викладено основні положення епідемічного нагляду за резистентністю антимікробних препаратів [6, 7].

Мета дослідження

Дослідити спектр домінуючих умовно-патогенних мікроорганізмів, що циркулюють у стаціонарних відділеннях районних та міських лікарень Закарпаття, для створення єдиного реєстру мікробіологічних карт, визначити їх чутливість до антибіотиків та потенційної належності до збудників внутрішньолікарняних інфекцій.

Матеріали і методи

Для ізоляції клінічних штамів мікроорганізмів, що циркулюють у обстежених клінічних відділеннях, використовували класичні методи мікробіологічного аналізу проб повітря, поверхонь стін, приладдя, столів, палат та маніпуляційних приміщень, мікрофлори рук та носової частини глотки обслуговуючого медичного персоналу та виділення (гній, раневий ексудат, дренаж) пацієнтів.

Для ідентифікації одержаних у клініці ізолятів усіх проб було проведено висів на хромогенні поживні середовища нового покоління (*Candida* ID 2, SM ID 2 (*Salmonella*), CPS ID 3 (*E.coli, Proteus, Enterococci*), *S.aureus* ID, MRSA ID, *Haemophilus* Chocolate 2 agar (Hemin + NAD), *Campylobacter* agar, SMAC CT agar (*E.coli* O157H7) *Clostridium difficile* agar, UriSelect agar). Видову належність бактерій визначали за вихідними рутинними тестами (мікроскопія, фарбування по Граму, КОН і оксидазний тести, плазмокоагулазна, лецитиназна, гемолітична активність тощо) у поєднанні із застосуванням пів-автоматизованих методів типування бактеріальних культур: біохімічні тест-системи: API (bioMerieux, Франція).

Виділені та ідентифіковані штами досліджували на їх чутливість до сучасних антибіотиків на середовищі АГВ дискодифузійним методом за Бауер-Кірбі [6] з використанням дисків виробництва фірм BioRad та OXOID у автоматичному режимі їх нанесення: TET-Тетрацикліну, CIX-Цефотаксиму, CN-Цефалексину, AZM-Азитроміцину, CXM-Цефуроксиму, AMC-Амоксациліну, AM-Ампіциліну, CIP-Ципрофлоксацину, LVX-Левофлоксацину, MOX-Моксифлоксацину, VA-Ванкоміцину, MA-Цефамандолу. Як тест-культури для перевірки придатності антибіотиків для досліджень використовували еталонні штами бактерій: *S. aureus* ATCC 25923 (F-49), *Escherichia coli* ATCC 25922 (F-50), *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853 (F-51), одержані з Філії Національного музею мікроорганізмів Інституту мікробіології та імунології ім. І. І. Мечникова. В залежності від діаметрів зон затримки росту мікроорганізмів навколо дисків із антибіотиками, штами відносили до чутливих, помірно стійких або стійких (резистентних). При оцінці активності антибіотиків користувалися критеріями виробника дисків, а також стандартами EUCAST [4,12]. Профілі антибіотикорезистентності визначали за діаметрами зон затримки росту мікроорганізмів навколо дисків з аналогічними антибіотиками, до яких досліджувані штами мікроорганізмів проявляють стійкість. Госпітальними вважаються штами мікроорганізмів, які мають множинну стійкість, принаймні до 5 антибіотиків, включаючи: для штамів стафілококів – стійкість до метициліну (оксациліну) та/або ванкоміцину; штамів ентерококів – до ванкоміцину; ентеробактерій – до гентаміцину і/або до цефалоспоринових антибіотиків III–IV поколінь; неферментуючих бактерій – до цефалоспоринових антибіотиків III–IV поколінь [4, 5].

Результати досліджень

Аналізуючи дані за 2013-2014 роки про частоту виявлення у лікарняних закладах Закарпатської області випадків госпітальної інфекції, слід відзначити, що ця проблема є доволі актуальною [1, 13]. Так, за вказаний період часу було виділено 509 ізолятів – у 2013 році, відповідно 511 – у 2014 році.

Нами вивчено та проаналізовано профілі антибіотикорезистентності – сполучення детермінант резистентності кожного виділеного штаму мікроорганізму, які характеризують біологічні особливості мікробної екосистеми, що сформувалася у стаціонарі. Постійне стеження за появою та циркуляцією в окремому стаціонарі штамів умовно патогенних мікроорганізмів з однаковими профілями антибіотикорезистентності має важливе значення для виявлення госпітальних штамів умовно-патогенних мікроорганізмів та вивчення епідеміології госпітальних інфекцій. Виділення патогенних бактерій від пацієнтів, об'єктів внутрішнього середовища штамів мікроорганізмів з однотипними профілями антибіотикорезистентності, діаметри зон затримки росту яких навколо дисків з однаковими антибіотиками однакові або відрізняються не більше ніж на 3 мм, свідчить про формування та циркуляцію у стаціонарі госпітальних штамів [6].

За 2014 рік у Закарпатській області виділено 511 ізолятів збудників госпітальних інфекцій (рис. 1), з них 54,8% складає *S. aureus*. Однак слід зазначити, що відсоток резистентних штамів даної групи на 2,5% більше, ніж за попередній період. Найвищу резистентність *S. aureus* зафіксовано до препаратів групи макролідів (кларитроміцин – 46%), аміноглікозидів (гентаміцин – 43,8%), фторхінолонів (ципрофлоксацин – 44%), амфеніколів (хлорамфенікол – 34,6%). 66% виділених ізолятів *S. aureus* віднесені до групи метицилін-резистентних (MRSA).

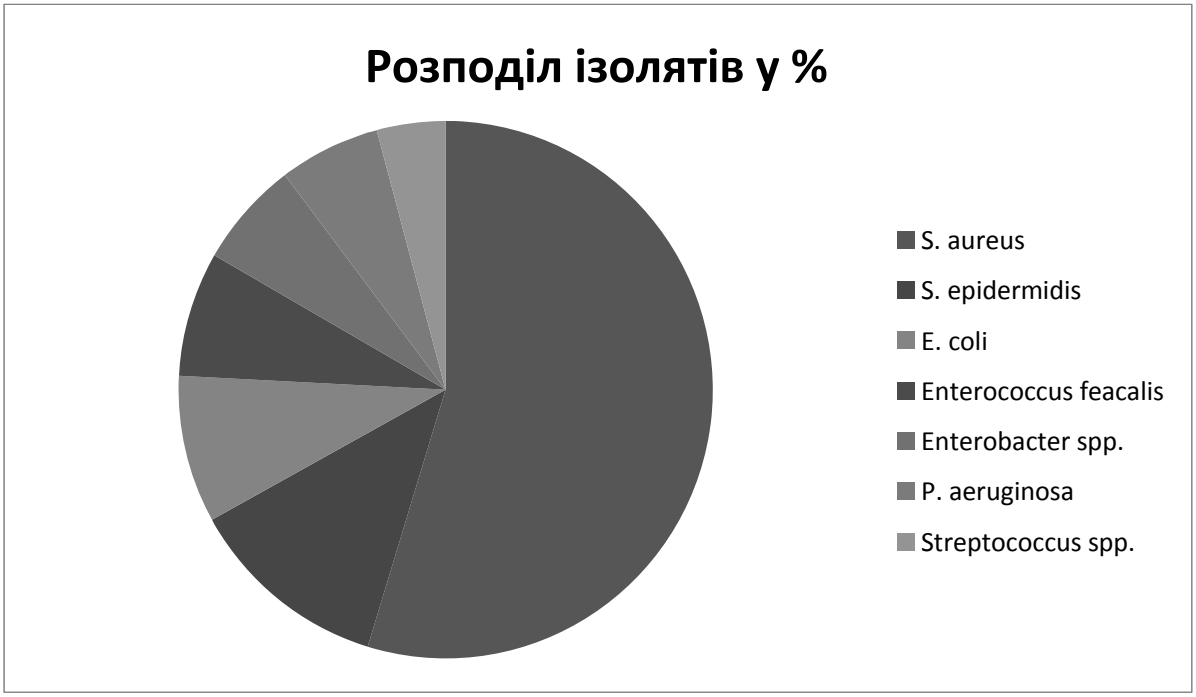

Рис. 1. Розподіл внутрішньо-лікарняних інфекцій за видом збудника (2014 р.)

Спостерігається незначна зміна у структурі виділених мікроорганізмів у порівнянні з 2013 роком (рис. 2).

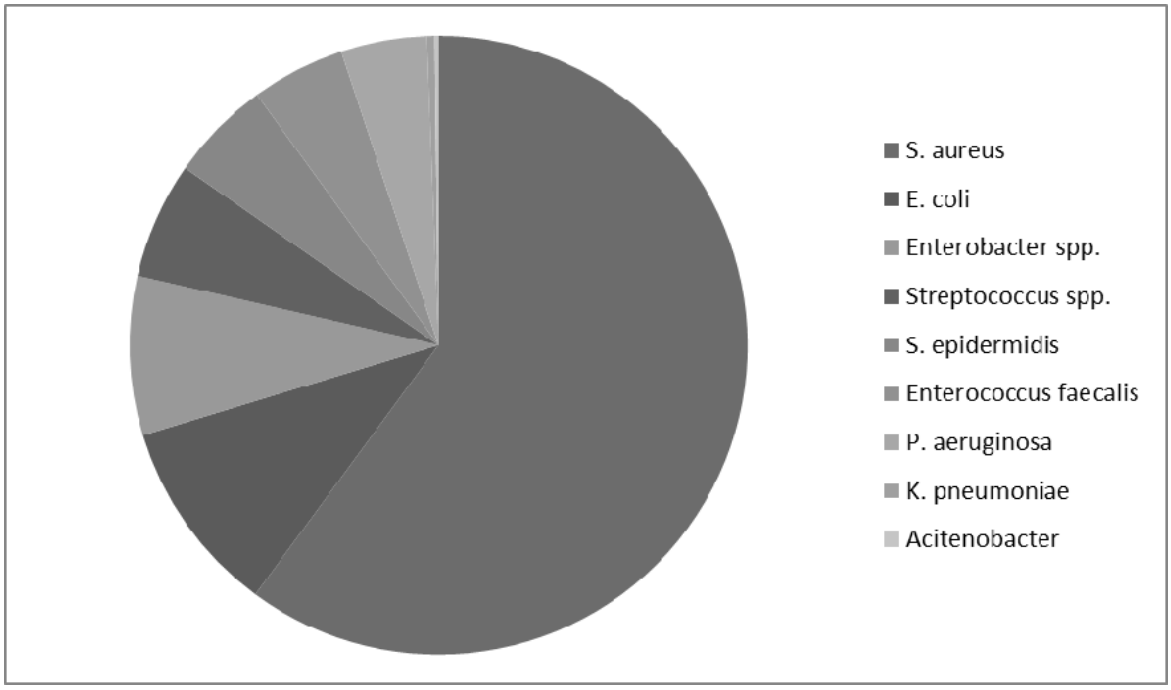

Рис. 2. Розподіл внутрішньо-лікарняних інфекцій за видом збудника (2013 р.)

На 2-му місці по виявленню – *S. epidermidis*, який займає 12,3% ізолятів (5,3% – у 2013 році), з них 28,5% резистентних. Найбільшу резистентність проявляли до групи пеніцилінів (пеніцилін – 19%), фторхінолонів (ципрофлоксацин – 14,3%), макролідів (еритроміцин, азитроміцин – 10%), глікопептидів (ванкоміцин – 10%), цефалоспоринів III-го покоління (цефтріаксон – 10%). Кількість виділених *E. coli* за 2014 рік (45 ізолятів – 8,8%) на 2,5% нижче, ніж у 2013 році. При цьому також спостерігається незначне зниження резистентних штамів (на 2%). Найвищу резистентність спостерігали до: бета-лактамів (ампіцилін, амоксицилін – 58%), цефалоспоринів III покоління (цефтріаксон – 45,5%), фторхінолонів (ципрофлоксацин – 40%), аміноглікозидів (гентаміцин – 31%). Значне зростання спостерігається і *Enterococcus faecalis,* відтак у 2014 році виділено 39 ізолятів (на 2,8% більше ніж у 2013 році), з них 16 антибіотикорезистентних (41%). Найбільш резистентними ентерококи були до: бета-лактамів (пеніцилін, ампіцилін – 75%), аміноглікозидів (гентаміцин – 56,2%), цефалоспоринів III покоління (цефтріаксон, цефатоксім – 43,7%), фторхінолонів II й III покоління (левофлоксацин, ципрофлоксацин – 43%). *Enterobacter spp*. та *P. aeruginosa* складають 6,3% від усіх виділених ізолятів, що свідчить про незначний перерозподіл, адже кількість виділених ізолятів *Enterobacter spp*. у 2013 році складала – 8,3%, а *P. aeruginosa* 4,5%. При цьому кількість антибіотикорезистентних ізолятів *P. aeruginosa* залишилася сталою на рівні 4,5%, а *Enterobacter spp*. – знизилась на 9%. Найменш чутливими *Enterobacter spp*. виявились до: цефалоспоринів I, II, та III покоління (цефазолін – 34%, цефуроксим – 34%, цефтріаксон – 76,5%), фторхінолонів III покоління – 47%). Резистентність *P. aeruginosa* була однаковою впродовж двох років: до фторхінолонів (ципрофлоксацину, офлоксацину – 78%), до цефалоспоринів III та IV покоління (цефтріаксону – 55%, цефепіму – 66%), аміноглікозидів (амікацину, гентаміцину – 88%), карбапенемів (іміпенему – 33%).

Висновки

Важливим є питання вивчення частоти виявлення збудників госпітальних захворювань серед пацієнтів лікарень та персоналу, об'єктів зовнішнього середовища, аналіз змін цього показника протягом останніх років із метою визначення ефективності лікувальних та санаційних процедур, що застосовуються у відділеннях різних профілів.

Перспективи подальших розробок. З метою підвищення ефективності і безпеки застосування антимікробних засобів, запобігання появи і селекції резистентних штамів збудників інфекційних захворювань у лікувально-профілактичних установах, на нашу думку, необхідно:

1. Прийняти необхідні заходи, спрямовані на розвиток та зміцнення мережі клінічних мікробіологічних лабораторій. Створити в лікарнях добре оснащені клінічні мікробіологічні лабораторії.
2. Забезпечити лабораторії достатньою кількістю поживних середовищ гарантованої якості, дисками для визначення антибіотикорезистентності, міжнародними тест-штамами .
3. Впровадити сучасні лабораторні технології, оптимізувати усі технічні і організаційні складові лабораторного процесу, що гарантувало би якісний результат і його коректну інтерпретацію.

Резюме. В статті приведено аналіз даних щодо визначення домінуючих агентів, мікроорганізмів, які контамінують об'єкти внутрішнього середовища стаціонарів лікарень Закарпатської області, вивчення їх біологічних властивостей, в т.ч. антибіотикорезистентності та її профілів для удосконалення тактики раціональної та емпіричної антибіотикотерапії, антибіотикопрофілактики та удосконалення дезінфекційних заходів.

Ключові слова: мікробіологічний моніторинг, внутрішньо-лікарняна інфекція, антибіотикорезистентність.

Antibiotic-resistance microbiological monitoring of the main nosocomial infections pathogens of in Transcarpathia region 2013-2014

Koval G. M. [1], Karabynosh S. O. [1], Koval N. M.[3], Turyanytsya S. M. [1], Rusin V. I. [2]

Summary. The analysis of data to determine the dominant agents of microorganisms that contaminate the objects of inpatient hospital environment of Transcarpathian region, the study of their

biological properties, including antibiotic-resistance profiles and tactics to improve rational and empirical antibiotic therapy, antibiotic prophylaxis and improvement of disinfection measures.

Key words: microbiological monitoring, nosocomial infections, antibiotic resistance.

ЛІТЕРАТУРА

1. Брико Н. И. Особенности эпидемиологии внутрибольничных инфекций на современном этапе / Н.И. Брико// Медицинская сестра. – 2012. – № 2. – С. 41-43.
2. Брусина Е.Б. Принципы классификации внутрибольничных инфекций /Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2010. – № 5. – С. 31-34.
3. Ковалёва Е.П. Эпидемиология и профилактика внутрибольничных инфекций / Е.П. Ковалёва, Н.А. Семина, Л.А. Генчиков [и др.] // Эпидемиология и инфекционные болезни. – 2007. – № 6. – С. 4–8.
4. Куля А. Ф. Порівняльний аналіз методів визначення антибіотикочутливості умовно-патогенних бактерій – збудників опортуністичних інфекцій людини /Ф. Ф. Куля, Ю. Сабо, Г. М. Коваль, Н. В. Бойко // Мікробіол. журн. – 2011. – Т. 73, № 5. – С. 47–53.
5. Куля А.Ф. Антибіотикорезистентність умовно-патогенних мікроорганізмів, ізольованих в угорській та українській неінфекційній клініці. / Г. М. Коваль, Н. В. Бойко //. Науковий вісник Ужгородського університету. Серія «Медицина». – 2009. – Вип. 37. – С. 97–106.
6. Інформаційний лист про нововведення в системі охорони здоров'я «Визначення фенотипової однотипності госпітальних штамів мікроорганізмів» № 173-2006 (Київ: МОЗ України, Український центр наукової медицини інформації та патентно-ліцензійної роботи (Укрмедпатентінформ). – 2006. – 4 с.
7. Levy S. B. Antibacterial resistance worldwide: causes challenges and responses / S. B. Levy, B. Marshall // Nat. Med. – 2004. – № 10. – P. 122-128.
8. Wise R. Antimicrobial resistance is a major threat to public health / R. Wise, T. Hart, O. Cars // Br. Med. J. – 2008. – Vol. 317. – P. 609-610.
9. Emmerzon A.M. The second national prevalence survey of infection in hospitals: methodology / A.M. Emmerzon , J.E. Enstone , M.C. Kelsey // J. Hosp. Infect. – 2015. – № 30. – P. 7.
10. Pfaller M. A. The clinical microbiology laboratory and infection control: emerging path-ogenes, antimicrobial resistance and new technology // Clin. Infect. Diseases. – 2014. – Vol. 25, № 24. – P. 858-870.
11. Boyko N. V. Nosocomial infections in clinical units from Ukrainian-Hungarian transborder area: current state, ecological aspects and novel strategy for its prevention / N. V Boyko // MicroCAD: Proc. Inte-rnational Scientific Conference, Section R: «Health Science», Miskolc, 20-21 March 2008. – Miskolc: Miskolci Egyetem Innovációs és Technológiai Transzfer Centruma, 2008. – P. 7–14. – (ISBN 978-963-661-906-0).
12. Koval G. Commensals of Mucous Surfaces Used to Control Nosocomial Diseases: Efficacy and Possible Acting Mechanisms. MicroCad, Health Science, NKTH. – Nyiregyhaza: Bessenyei Gyorgy, 2008. – P. 138-140.
13. Amabile-Cuevas C.F. Antimicrobial Resistance in Bacteria / Horizon Scientific Press. – 2006. – 201 p.