

© Бурова Л.М., Брицька В.С., 2009
УДК 615.33-281.9:576.8

Л.М. Бурова, В.С. Брицька

Антибіотикорезистентність ентеробактерій, виділених з товстої кишки пацієнтів, які мешкають у Львові та Львівській області впродовж 2008 р. Виявлена висока частота асоційованої резистентності ентеробактерій, яка пов'язана з β -лактамазами розширеного спектру. У 3 % штамів наявна полірезистентність до 11 антибіотиків різних груп.

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Дана кількісна і профільна характеристика антибіотикорезистентності 69 штамів умовно-патогенних ентеробактерій, виділених з товстої кишки пацієнтів, які мешкають у Львові та Львівській області впродовж 2008 р. Виявлена висока частота асоційованої резистентності ентеробактерій, яка пов'язана з β -лактамазами розширеного спектру. У 3 % штамів наявна полірезистентність до 11 антибіотиків різних груп.

Ключові слова: антибіотикорезистентність, умовно-патогенні ентеробактерії, товста кишка.

В останні роки відмічається збільшення ролі умовно-патогенних мікроорганізмів (УПМ) в інфекційній патології. Це пов'язано з екологічними змінами, які розвиваються в умовах урбанізації суспільства, широким застосуванням антимікробних препаратів (АМП) у лікарській практиці [1].

Більшість ентеробактерій, а саме мікроорганізми родів *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Citrobacter*, *Enterobacter*, належать до УПМ, є облигатними або транзиторними представниками кишкової мікрофлори, здатні викликати інфекційні процеси при визначених умовах в ослаблених осіб [2]. Лікування хворих з патологією травного каналу ускладнюється через формування та зростаюче розповсюдження бактерійних штамів, стійких до антимікробних препаратів. У сучасній клінічній практиці найбільші проблеми антибіотикостійкості пов'язані з представниками родини ентеробактерій, для яких характерні як множинні і складні механізми резистентності, так і формування полірезистентності внаслідок комплексу складних біологічних процесів, які залежать від властивостей мікроорганізму, його генетичної структури, особливості застосованих препаратів і т. ін. Також має значення тривалість та безконтрольне застосування антимікробних препаратів [3].

З генетичної позиції стійкість до антибіотиків може бути природною (як успадкована видова ознака) або набутою [4]. Набута резистентність, яка розвивається в результаті мутації у власній ДНК або при внесенні чужорідної ДНК в процесі трансформації, трансдукції або кон'югації, може бути пов'язана як з хромосомною, так і позахромосомною (плазмідною) ДНК. Мутаційні процеси призводять до резистентності, не порушуючи патогенності або життєздатності бактерійного штаму, але порушують існуючі механізми резистентності, роблячи їх більш активними або надаючи їм ширший спектр активності. Прикладом цього є β -лактамази розширеного спектру (БЛРС) [5].

Біохімічні механізми резистентності поділяються на 4 основні типи: ензимна інактивація антибіотика (β -лактамазами, аміноглікозид-модифікуючими ферментами та ін.); зміни структури внутрішньоклітинних мішеней; активне виведення антибіотиків з бактерійної клітини; зниження проникності зовнішньої мембрани грамнегативної клітини [4].

Найбільш важливий механізм стійкості грамнегативних бактерій до цефалоспоринов пов'язаний з продукцією β -лактамаз, причому найбільшу загрозу становлять БЛРС, які здатні гідролізувати цефалоспоринов широкого спектру. БЛРС гідролізують більшість β -лактамних антибіотиків – пеніциліни, цефалоспоринов I, II та III (частково IV) покоління. Крім того, мікроорганізми, продукуючі БЛРС, часто стійкі до інших класів антибіотиків, включаючи аміноглікозиди і фторхінолони [6].

Гени, в яких закодована інформація про БЛРС, локалізовані в плазмідах, що полегшує можливість їх дисемінації серед грамнегативних мікроорганізмів. Найчастіше вони визначаються у *Klebsiella spp.* і *Escherichia coli*, і менше спостерігаються у *Proteus mirabilis*. Таким чином, ентеробактерії, які продукують БЛРС, можна однозначно віднести до полірезистентних бактерій.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

До найбільш розповсюджених ферментів з хромосомною локалізацією генів належать β-лактамази класу C (AmpC), тому, на відміну від БЛРС, зазвичай не передаються іншим ентеробактеріям. У той же час вони характеризуються індукцибельністю і гіперпродукцією, яка виникає на фоні лікування. З феноменом гіперпродукції може бути пов'язана недостатня ефективність цефалоспоринов III покоління або рецидиви інфекцій при застосуванні цих препаратів. Найчастішими гіперпродуцентами AmpC β-лактамаз є *Enterobacter spp.*, *Serratia marcescens*, *Citrobacter freundii*, *Morganella morganii*, *P. aeruginosa* [6-8].

Успіх антибактерійної терапії в першу чергу залежить від правильного вибору антибіотика, з урахуванням чутливості до нього збудника. Це неможливо без постійного моніторингу антибіотикорезистентності циркулюючих у певному регіоні штамів мікроорганізмів.

Метою дослідження було визначення кількісної і профільної характеристики антибіотикорезистентності виділених штамів умовно-патогенних ентеробактерій (УПЕ) у хворих з патологією травного каналу у м. Львові та Львівській області, які лікувалися впродовж 2008 р.

І ації і і аї де

Обстежено 53 пацієнти з різною патологією травного каналу (гастрити, виразкова хвороба шлунка і дванадцятипалої кишки, ентерити, коліти, холециститу та ін.). Забір матеріалу при обстеженні на дисбактеріоз, виділення та ідентифікацію чистої культури збудників проводили відповідно до чинних методичних матеріалів [1].

Чутливість до антибіотиків визначали за допомогою диско-дифузійного методу з використанням стандартних дисків фірми ТОВ «Аспект» [9]. Для встановлення спектру чутливості використовували 15 антибіотиків різних груп.

Ді неї деї і да і і аї ві деї і і

Усі обстежені хворі були розділені на вікові групи: 1 – діти до 1 року (34 особи), 2 – діти до 14 років (9), 3 – дорослі (10 осіб). З них було 32 чоловіки і 21 жінка.

У результаті досліджень було виділено 69 штамів УПМ, які належали до родів: *Escherichia* (*E. coli* атипова – 15), *Citrobacter* (*C. koseri* – 20, *C. freundii* – 8), *Klebsiella* (*K. pneumoniae* – 12, *K. mobilis* – 14), *Enterobacter* (*E. cloacae* – 5 штамів).

Визначення фенотипів резистентності досліджуваних штамів до широкого кола антимікробних препаратів представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Частота антибіотикорезистентності штамів різних УПЕ (%)

Антибіотики		<i>E. coli</i> атипова	<i>E. cloacae</i>	<i>C. koseri</i>	<i>C. freundii</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. mobilis</i>
		Кількість досліджених штамів					
		10	5	20	8	12	14
β-лактами	амінопеніциліни	ампіцилін (10 мкг/диск)					
	цефалоспорины	цефутоксим (30 мкг/диск)					
		цефотаксим (30 мкг/диск)					
		цефтриаксон (30 мкг/диск)					
аміноглікозиди		гентаміцин (10 мкг/диск)					
		нетилміцин (30 мкг/диск)					
фторхінолони		ципрофлоксацин (5 мкг/диск)					
		офлоксацин (5 мкг/диск)					
		пєфлоксацин (10 мкг/диск)					
		норфлоксацин (10 мкг/диск)					
		гатифлоксацин (5 мкг/диск)					
тетрацикліни		тетрациклін (30 мкг/диск)					
нітрофураны		фуразолідон (300 мкг/диск)					
		фурамаг (300 мкг/диск)					
хлорамфенікол		левоміцетин (30 мкг/диск)					

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 2

Характеристика профілів
антибіотикорезистентності УПЕ

Профілі резистентності	Кількість антибіотиків, до яких резистентні штамми	Вид УПЕ					
		<i>E. coli</i> атипова	<i>E. cloacae</i>	<i>C. koseri</i>	<i>C. freundii</i>	<i>K. pneumoniae</i>	<i>K. mobilis</i>
A*	1	1**		3			
G	1		1				
M	1	1					
AT	2	1	2		2	2	3
MT	2					1	
AZ	2						1
AM	2		1				
ATL	3					2	
AMZ	3						1
AMT	3	1		4			1
ATZ	3			1		2	
MCY	3						1
AGTZ	4			1		1	
AMRT	4			1			
MCYN	4			1			
AMTZ	4	1	1		3		2
AMTL	4				1		1
AMGT	4	1					
AMTF	4						1
ATZF	4						1
AMTZL	5			1		1	
AGTZL	5			1			
CYTNZ	5			1			
AMCYT	5					1	
AMYNZ	5	1					
AMTZL	5	1					
AMTZF	5	1					
AMGNTZ	6			1	1		
GNROTZ	6						1
AMGNSTZ	7			1			
AMCYGTL	7					1	
AMYGTZL	7	1					
AMCGRTZF	8				1		
AMCYGRXTZ	9					1	
AMCYGNRPXT	10			1			
AMCYGNROPXT	11			1			
AMCYGNRPXST	11						1

Примітка: * – код антибіотика: А – ампіцилін; М – цефуроксим; С – цефотаксим; Y – цефтриаксон; G – гентаміцин; N – нетилміцин; R – цiproфлораксин; O – офлораксин; P – пefлораксин; X – норфлораксин; S – гатифлораксин; T – тетрациклін; Z – фуразолідон; F – фурамаг; L – левоміцетин; ** – кількість виявлених штамів.

Вивчення чутливості мікрофлори до антибіотиків показало, що найбільшу антибіотикорезистентність проявляють бактерії *C. koseri* та *K. mobilis*. Високий рівень резистентності ентеробактерій відмічається до ампіциліну та тетрацикліну. Всі виділені штамми *C. freundii* були резистентними до зазначених антибіотиків на 100 %. Таку ж резистентність до тетрацикліну проявили і штамми *K. pneumoniae*. Частота виявленої стійкості інших мікроорганізмів до ампіциліну становила від 80,0 до 91,7 %, до тетрацикліну – 60,0-78,6 %. Більше як 50 % стійкість проявили мікроорганізми (крім *E. cloacae*) до β-лактамного антибіотика – цефуроксиму. До інших цефалоспоринов – цефотаксиму та цефтриаксону – стійкість не перевищувала 25 %.

За результатами наших досліджень не було виявлено жодного резистентного штамму серед *E. cloacae* та *E. coli* атипичних до всіх досліджуваних антибіотиків групи фторхінолонів. Теж саме спостерігається в *C. freundii* (за винятком цiproфлораксину), до якого резистентність становить 12,5 %, та *K. pneumoniae* (за винятком цiproфлораксину і норфлораксину) – 8,3 %.

Різною виявилась чутливість до нітрофуранів. Стійкість до фурамагу була найбільша у *K. mobilis* і не перевищувала 14,3 %. У той же час штамми *C. freundii* були резистентними до фуразолідону на 62,5 %, а *C. koseri* – 35,0 %; 50 % резистентність проявили *K. pneumoniae* та *E. coli* атипова.

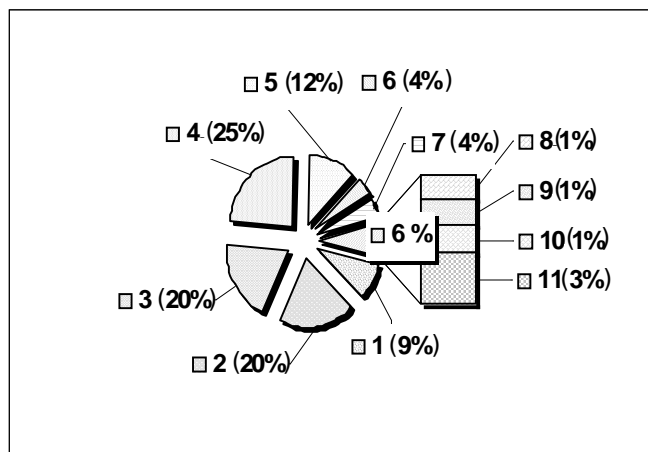
Стійкість виділених штамів мікроорганізмів до левоміцетину становила від 7,1 до 33,3 %.

Наведені результати підтверджують дані про високу частоту асоційованої резистентності у БЛРС-продукуючих ентеробактерій, а також показують, що вивчені штамми мають гени резистентності до антимікробних препаратів інших класів (аміноглікозиди, фторхінолони). Так, стійкість до гентаміцину – нетилміцину – цiproфлораксину у *C. koseri* відповідно становить 30,0-30,0-15,0 %, *C. freundii* – 25,0-12,5-12,5 %, *K. pneumoniae* – 25,0-8,3 %, *K. mobilis* – 14,3-14,3-14,0 %. Однак інакша резистентність проявилась у *E. coli* – 20-10-0 %. Щодо *E. cloacae* підтверджуються дані відносно β-лактамаз класу С з хромосомною локалізацією, які на відміну від БЛРС зазвичай не передаються іншим ентеробактеріям: у цих штамів резистентність до цефуроксиму і гентаміцину становила 40 і 20 % відповідно, до інших досліджуваних цефалоспоринов та нетилміцину в даного мікроорганізму проявилась 100 % стійкість.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Наступним етапом роботи було вивчення характеристик профілів антибіотикорезистентності штамів досліджуваних бактерій з метою визначення множинної стійкості до антибіотиків.

Як видно з таблиці 2, виявлено 37 профілів антибіотикорезистентності. П'ять (6 %) виділених штамів (мал. 1) від пацієнтів різної вікової категорії проявили стійкість до половини і більше досліджуваних антибіотиків.



Мал. 1. Діаграма резистентності штамів до різних УПЕ антибіотиків:

1 – стійкість до одного з антибіотиків, 2 – до двох, 3 – до трьох, 4 – до чотирьох, 5 – до п'яти, 6 – до шести, 7 – до семи, 8 – до восьми, 9 – до дев'яти, 10 – до десяти, 11 – до одинадцяти.

Найбільша частота антибіотикорезистентності припадає на стійкість до чотирьох антибіотиків – 25 %. Два штами (3 % – *S. koseri*, *K. mobilis*) були стійкими до 11 антибіотиків різних груп за винятком препаратів нітрофуранового ряду та хлорамфеніколу. Мікроорганізми, які проявили максимальне розмаїття стійкості до антимікробних препаратів, виділені від дітей до 1 року. Безумовно, що поява таких штамів потребує епідеміологічного спостереження.

Висновки

1. Найбільшу антибіотикорезистентність проявили бактерії *S. koseri* та *K. mobilis*.
2. Найвищу резистентність УПЕ проявили до ампіциліну, цефуроксиму, фуразолідону, тетрацикліну.
3. Підтверджені дані високої частоти асоційованої резистентності у БЛРС-продукуючих ентеробактерій.

4. При встановленні профілів антибіотикорезистентності досліджуваних штамів виявлена полірезистентність до 11 антибіотиків.

5. Адекватне використання арсеналу антибіотиків та розумне застосування нових антимікробних середників може стати основою для стримування унікального біологічного феномену.

І, нарешті, «резистентність створюється людиною, і лише людина може вирішити цю проблему» [8].

Література

1. Клиническая лабораторная аналитика / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Агат-Мед, 2003. – Т. IV. – 815 с.
2. Toltzis P. Antibiotic-resistant gram-negative bacteria in hospitalized children // Clin. Lab. Med. – 2004. – V. 24, N 2. – P. 363-380.
3. Сидоренко С.В. Исследования распространения антибиотикорезистентности: практическое значение для медицины // Инфекции и антимикробная терапия. – 2002. – Т. 4, N 2. – С. 38-41.
4. Moreillon P. Means of bacterial resistance // Rev. Med. Suisse Romande. – 2000. – V. 120, N 8. – P. 641-650.
5. Сидоренко С.В., Тишков В.И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам // Успехи биологической химии. – 2004. – Т. 44. – С. 263-306.
6. Susic E. Mechanisms of resistance in Enterobacteriaceae towards beta-lactamase antibiotics // Acta Med. Croatica. – 2004. – V. 58, N 4. – P. 307-312.
7. Pfaller MA, Segreti J. Overview of the epidemiological profile and laboratory detection of extended-spectrum beta-lactamases // Clin. Infect. Dis. – 2006. – V. 15, N 42 (Suppl. 4). – P. 153-163.
8. Rubinstein E., Ronald A. Toronto declaration to combat antimicrobial resistance. Proceedings of the Global Resistance Day // 40th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy, September 16, 2000. – Toronto, Ontario, Canada.
9. Інструкція для визначення чутливості мікроорганізмів до лікарських засобів. Наказ МОЗ України № 30 від 19.01.2004.

QUANTITATIVE AND PROFILE CHARACTERISTICS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE OF CONDITIONALLY-PATHOGENIC ENTEROBACTERIA

L.M. Burova, V.S. Brytska

SUMMARY. It was established the quantitative and profile characteristics of antibiotic resistance of 69 strains of conditionally-pathogenic enterobacteria allocated from large intestine of the patients who live in Lviv and Lviv area during 2008. The high frequency of associated resistance of enterobacteria, caused by extended-spectrum beta lactamases, was revealed. In 3 % strains was found out multiresistance to 11 antibiotics of different groups.

Key words: antibiotic resistance, conditionally-pathogenic enterobacteria, large intestine.