Антибиотикорезистентность штаммов E. coli и P. aeruginosa, выделенных от больных с гнойно-септическими инфекциями в стационарах Республики Беларусь

Горбунов В. А.,
Титов Л. П.,
Крылов И. А.

БГМУ,
НИИ эпидемиологии
и микробиологии МЗ РБ,
Минск

Успехи современной медицины в борьбе с инфекционными болезнями в меньшей степени проявляются в отношении гнойно-септических инфекций (ГСИ), этиологически связанных с условно-патогенными микроорганизмами [1, 3, 4, 5]. Несмотря на существенную роль грамположительных бактерий в этиологии ГСИ, проблемными возбудителями остаются грамотрицательные факультативно-анаэробные и аэробные микроорганизмы.

Кишечная палочка является одним из наиболее часто встречающихся возбудителей как внебольничных, так и нозокомиальных инфекций – кишечной и внекишечной локализации (инфекции мочевыводящих, дыхательных путей, интраабдоминальные, кожи и мягких тканей, а также генерализованные). Наибольшее значение из группы неферментирующих (глюкозу) грамотрицательных бактерий имеет P. aeruginosa, которая, как правило, является возбудителем различных форм нозокомиальных инфекций [1, 8].

Длительное время в качестве эмпирической терапии ГСИ, вызванных госпитальными штаммами E. coli и P. aeruginosa, использовали пенициллины и цефалоспорины в комбинации с аминогликозидами II и III поколений (гентамицином, тобрамицином и амикацином). Однако рост резистентности возбудителей к этим антибиотикам приводит к неэффективности антибактериальной терапии [4, 17]. Альтернативными препаратами в ряде случаев являются фторхинолоны (ципрофлоксацин), карбапенемы (имипенем, меропенем).

В настоящей работе представлен анализ данных об уровнях и спектре антибиотикорезистентности клинических штаммов P. aeruginosa, выделенных при многоцентровом исследовании в стационарах Республики Беларусь.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В исследование включено 100 изолятов E. coli и 74 – P. aeruginosa. Культуры выделялись в этиологически значимом количестве из клинического материала (образцы отделяемого ран, мокроты, мочи и крови) больных ГСИ в хирургических стационарах Республики Беларусь в 2005-2006 г.г. Идентификацию бактерий проводили с помощью микроскопического, культурального и биохимического методов. Чувствительность к антибиотикам исследовали методом серийных разведений субстанций антибиотиков в агаре Мюллера-Хинтон II. Определяли значения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) цефотаксима, цефтазидима, цефепима, имипенема, азтреонама, гентамицина, нетилмицина, амикацина, левомицетина, доксициклина, ципрофлоксацина, а в отношении E. coli, еще и амоксициллина, ампициллина/сульбактама и амоксициллина/клавуланата. Тестирование осуществляли в соответствии с рекомендациями NCCLS [10]. Внутренний контроль качества проводили параллельным тестированием контрольных штаммов E. coli ATCC 25922, P. aeruginosa ATCC 27853.

При характеристике микроорганизмов использовали общепринятые показатели: минимальная ингибирующая концентрация (МИК), среднегеометрическая МИК, $МИК_{50}$, $МИК_{90}$. При сравнении индивидуальных значений МИК штаммов с пограничными концентрациями препаратов, создающимися в тканях организма при назначении средних терапевтических и максимально допустимых доз антибиотиков, штаммы подразделяли на «чувствительные», «умеренно резистентные» и «резистентные». Для интегральной характеристики лекарственной устойчивости использовали термин «нечувствительные» штаммы, объединяющий умеренно резистентные и резистентные микроорганизмы [9, 11].

Статистическую обработку и анализ данных проводили с помощью пакета программ Statistica 5.5.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты определения показателей чувствительности к антибиотикам исследованных штаммов E. coli и P. aeruginosa представлены в таблице 1.

Более 80% всех ГСИ в стационаре имеют эндогенное происхождение, то есть вызываются микроорганизмами, которые колонизировали пациента до его поступления [1]. И если E. coli – постоянный обитатель кишечника здоровых людей, то носителями P. aeruginosa в норме являются до 5-10% людей. Очевидно, что при эшерихиозах преобладает аутоинфицирование, а при синегнойной инфекции – экзогенный способ заражения госпитальными штаммами, которые передаются путем непосредственного контакта с пациентом, например, через руки [1].

Известно, что синегнойная палочка обладает природной резистентностью ко многим антимикробным препаратам [2]. Госпитальные штаммы P. aeruginosa могут быть устойчивы ко всем или почти ко всем препаратам, применяемым в терапевтической практике [6, 7, 9].

Как видно из таблицы 1, штаммы P. aeruginosa характеризуются достоверно более высокими значениями среднегеометрических МИК большинства антибиотиков по сравнению со штаммами E. coli. С практической точки зрения для врача, практикующего эмпирическую антибактериальную терапию, могут представлять интерес результаты, представленные на рисунке 1.

К аминопенициллинам штаммы E. coli проявили высокие уровни резистентности (55-89% нечувствительных штаммов). Из ингибиторозащищенных пенициллинов толь-

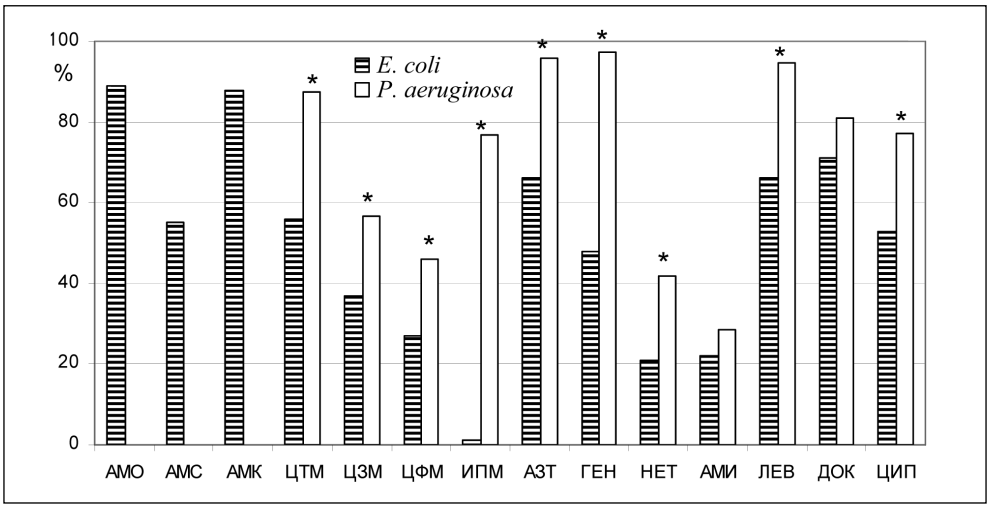

Рисунок 1
Удельный вес (%) нечувствительных к антибиотикам штаммов E. coli и P. aeruginosa – возбудителей ГСИ в Республике Беларусь (- различия достоверны ($p \leq 0,05$)).*

Таблица 1
Показатели антибиотикорезистентности штаммов E. coli и P. aeruginosa - возбудителей ГСИ в Республике Беларусь

Антибиотик	E. coli (n=100)			P. aeruginosa (n=74)		
	$МИК_{50}$, мг/л	$МИК_{90}$, мг/л	Геометрическая средняя МИК ± σ, мг/л	$МИК_{50}$, мг/л	$МИК_{90}$, мг/л	Геометрическая средняя МИК ± σ, мг/л
АМО	64	64	40,5 ± 20,6	-	-	-
АМС	16	64	14,8 ± 27,1	-	-	-
АМК	64	64	32,5 ± 23,8	-	-	-
ЦТМ	32	64	8,5 ± 29,8	128	128	59,4 ± 51,2*
ЦЗМ	8	64	3,6 ± 23,1	16	128	19,1 ± 50,1*
ЦФМ	4	64	2,0 ± 22,3	8	128	22,6 ± 59,8*
ИМП	0,25	1	0,4 ± 6,4	16	64	13,1 ± 31,9*
АЗТ	64	64	9,1 ± 30,0	128	128	80,9 ± 44,2*
ГЕН	4	64	5,7 ± 27,7	128	128	65,2 ± 50,2*
НЕТ	4	32	2,6 ± 16,1	8	128	15,1 ± 52,8*
АМИ	4	32	3,4 ± 18,6	16	128	12,7 ± 40,8*
ЛЕВ	64	64	19,6 ± 29,1	32	128	33,5 ± 35,5*
ДОК	8	32	8,3 ± 13,4	16	64	15,3 ± 35,5
ЦИП	2	64	2,0 ± 22,2	16	32	6,2 ± 17,6

Примечания: АМО – амоксициллин, АМС – ампициллин/сульбактам, АМК – амоксициллин/клавуланат, ЦТМ – цефотаксим, ЦЗМ – цефтазидим, ЦФМ – цефепим, АЗТ – азтреонам, ГЕН – гентамицин, НЕТ – нетилмицин, АМИ – амикацин, ЛЕВ – левомицетин, ДОК – доксициклин, ЦИП – ципрофлоксацин;
** - различия между E. coli и P. aeruginosa достоверны ($p \leq 0,05$).*

ко ампициллин/сульбактам проявил достоверно более высокую активность. Некоторые авторы считают клавуланат более эффективным ингибитором β-лактамаз [2].

Из семейства цефалоспоринов максимальную активность в отношении штаммов изучаемых видов проявил цефепим. Нечувствительными к нему были 27 и 45,9% штаммов E. coli и P. aeruginosa, соответственно. Второе и третье места по активности заняли цефтазидим (37,0 и 56,8% нечувствительных) и цефотаксим (56,0 и 87,6% нечувствительных штаммов E. coli и P. aeruginosa соответственно). Максимальную активность из β-лактамных антибиотиков по отношению к E. coli проявил имипенем (1,0% нечувствительных штаммов), вместе с тем в отношении P. aeruginosa данный препарат проявил низкую активность. Это, вероятно, связано с частым применением имипенема для терапии синегнойной инфекции и формированием приобретенной устойчивости госпитальных штаммов (продукция метало-β-лактамаз) [2, 6]. К представителю монобактамов – азтреонаму (несмотря на его редкое применение в республике) нечувствительными оказались 66% штаммов кишечной и 95,9% синегнойной палочек.

Перекрестной устойчивостью к гентамицину, нетилмицину и амикацину обладали 8% E. coli и 23% штаммов P. aeruginosa. Не выявлено штаммов P. aeruginosa, устойчивых к амикацину и чувствительных к гентамицину.

Ципрофлоксацин, доксициклин и левомицетин проявили умеренную или низкую активность в отношении исследованных штаммов грамотрицательных бактерий. К ципрофлоксацину были нечувствительны 53% E. coli и 77% штаммов P. aeruginosa.

Результаты исследования показали, что существенной проблемой в терапии синегнойных инфекций и эшерихиозов является высокий уровень резистентности возбудителей,

в первую очередь P. aeruginosa, к антибактериальным препаратам, которые обычно рассматриваются в нашей стране как препараты выбора для эмпирической терапии ГСИ. Резистентность P. aeruginosa и E. coli к таким широко применяемым антибиотикам, как амоксициллин, амоксициллин/клавулунат, цефотаксим, гентамицин, доксициклин превышает 80%. E. coli в целом была более чувствительной.

Пенициллины. Высокая частота резистентности исследованных бактерий к аминопенициллинам не позволяет рекомендовать эти препараты для лечения ГСИ, вызванных кишечной палочкой. Интересно то, что при добавлении ингибиторов бета-лактамаз, в частности клавуланата к амоксициллину, не повышалась активность данного антибиотика в отношении исследованных штаммов E. coli, что, вероятно, является следствием продукции бета-лактамаз, нечувствительных к действию ингибиторов, и свидетельствует о нецелесообразности применения комбинаций ингибиторозащищенных аминопенициллинов для эмпирической терапии эшерихиозов. P. aeruginosa обладает природной устойчивостью к аминопенициллинам. Антисинегнойными пенициллинами являются карбоксипенициллины (карбенициллин, тикарциллин) и уреидопенициллины (пиперациллин, азлоциллин).

Цефалоспорины. E. coli обладает природной чувствительностью ко всем поколениям цефалоспоринов. Среди штаммов, вызывающих внебольничные и особенно внутрибольничные инфекции широко распространена приобретенная устойчивость, обусловленная β-лактамазами широкого и расширенного спектров действия. Цефтазидим и цефепим обладают антисинегнойной активностью, вместе с тем около 50% штаммов P. aeruginosa характеризовались устойчивостью к ним.

Карбапенемы. Меропенем и имипенем являются препаратами выбора для терапии синегнойной инфекции, однако нечувствительными к имипенему оказались более 70 % штаммов, выделенных в Беларуси.

Достаточно активным в отношении грамотрицательных бактерий, но редко применяемым в республике препаратом является азтреонам (монобактамы).

Аминогликозиды. Наибольшей активностью в отношении исследованных бактерий обладают препараты III поколения (амикацин, нетилмицин). Нечувствительными к ним оказались около 20 % штаммов E. coli и 30-40% - P. aeruginosa.

Хлорамфеникол. Препарат имеет ограниченное применение при эшерихиозах и синегнойной инфекции, что связано как с высокой частотой устойчивости бактерий, так и с серьезными побочными реакциями.

Тетрациклины. Не имеют практического значения для терапии рассматриваемых инфекций, в связи с наличием более активных и менее токсичных бактерицидных антибиотиков.

Фторхинолоны. Ципрофлоксацин – основной антисинегнойный фторхинолон. В последние годы значительно возрос удельный вес штаммов грамотрицательных бактерий, устойчивых к этой группе препаратов. В связи с этим лечение фторхинолонами целесообразно проводить только после определения чувствительности возбудителя.

Значительные уровни устойчивости E. coli, и особенно P. aeruginosa к некоторым антибактериальным препаратам также отмечается многими отечественными и зарубежными авторами [2, 6, 7, 9, 11]. Так, по данным многоцентровых исследований в России штаммы E. coli были наиболее резистентны к ампициллину, пиперациллину, амоксициллину/клавуланату, цефуроксиму. Максимально активным в отношении нозокомиальных штаммов кишечной палочки были имипенем, к которому сохраняли чувствительность все штаммы E. coli, пиперациллин/тазобактам (резистентность 6,3%), цефалоспорины III поколения: цефтазидим (резистентность 7,8%), цефотаксим и цефтриаксон (резистентность около 11%). Резистентность к антибиотикам E. coli и других энтеробактерий широко варьирует между отдельными стационарами, во многом являясь отражением политики применения антимикробных средств [2, 6].

Устойчивость штаммов P. aeruginosa к ципрофлоксацину в Беларуси достигает 75,4%, что значительно выше по сравнению с таковой в странах Европы (36,7%) и в США (37,2%) [7, 9].

В многоцентровом исследовании NPRS-3 синегнойная палочка отличалась очень высо-

ким уровнем резистентности к гентамицину (61,3%), а также к пиперациллину (44,7%), пиперациллину/тазобактаму (29,7%), ципрофлоксацину (28,9%). Наиболее активными в отношении P. aeruginosa являлись амикацин (резистентность 6,7%) и цефтазидим (резистентность 11,2%) [2].

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Синегнойная инфекция представляет проблему для этиотропной терапии в связи с высокими уровнями резистентности возбудителя к современным антимикробным препаратам. В отношении E. coli в арсенале врача, как правило, имеется спектр активных препаратов.

Для эмпирической терапии ГСИ, особенно госпитального происхождения, вызванных E. coli, следует рекомендовать цефалоспорины III-IV поколений (цефтазидим, цефепим), карбапенемы (имипенем), аминогликозиды (нетилмицин, амикацин). В схему эмпирической терапии синегнойной инфекции целесообразно включать амикацин, нетилмицин, цефепим. В то же время в связи с высокой частотой резистентности следует ограничить применение таких препаратов, как аминопенициллины (в том числе и в комбинации с ингибиторами бета-лактамаз), тетрациклины и гентамицин.

Активность препаратов в отношении кишечной палочки в порядке ее убывания распределяется следующим образом: имипенем > нетилмицин = амикацин ≥ цефепим ≥ цефтазидим ≥ гентамицин ≥ ципрофлоксацин ≥ цефотаксим = ампициллин/сульбактам ≥ азтреонам = левомицетин ≥ доксициклин > амоксициллин/клавуланат = амоксициллин.

Активность препаратов в отношении синегнойной палочки в порядке ее убывания распределяется следующим образом: амикацин > нетилмицин ≥ цефепим > цефтазидим > имипенем = ципрофлоксацин ≥ доксициклин ≥ цефотаксим ≥ левомицетин = азтреонам = гентамицин.

ЛИТЕРАТУРА

1. Козлов Р. С. Нозокомиальные инфекции: эпидемиология, патогенез, профилактика, контроль // Клинич. микробиол. антимикроб. химиотер. – Т.2, №3, 2000. – С. 16-30.

2. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии. / Под ред. Страчунского Л. С., Белоусова Ю. Б., Козлова С. Н. // М.: Боргес, 2002 – 384 с.

3. Титов Л. П., Адарченко А. А., Гудкова Е. И. Микробиологический мониторинг устойчивости возбудителей внутрибольничных инфекций к антимикробным препаратам // Мед. новости. – №8, 1999. – С. 8-10.

4. Титов Л. П., Вотяков В. И, Кожемякин А. К., Мосина Л. И. Эволюция микробов и вызываемых ими заболеваний // Здравоохранение. - 2002. -№8. С. 30-35.

5. Титов Л. П., Ключенович В. И. Стратегии контроля резистентности микроорганизмов к антибиотикам: международный и национальный опыт // Материалы международной научно-практической конференции. «Резистентность микроорганизмов к антимикробным препаратам». – Мн., 2003. - С. 4-13.

6. Flam R. K., Weaver M. K., Thornsberry C. et al. Factors associated with relative rates of antibiotic resistance in Pseudomonas aeruginosa isolates tested in clinical laboratories in the United States from 1999 to 2002 // Antimicrob. Agents Chemother. - 2004. – V. 48. –P. 2431-2436.

7. Marilee D., Obritsch D., Fish N. et al. National Surveillance of Antimicrobial Resistance in Pseudomonas aeruginosa Isolates Obtained from Intensive Care Unit Patients from 1993 to 2002 // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2004. - V. 48. - № 12. - P. 4606-4610,

8. Micek S. T., Lloyd A. E., Ritchie D. J. et al. Pseudomonas aeruginosa Bloodstream Infection: Importance of Appropriate Initial Antimicrobial Treatment // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. – 2005. - V. 49. - № 4. - P. 1306-1311.

9. Mutnick A. H., Rhomberg P. R., Sader H. S. et al. Antimicrobial usage and resistance trend relationships from the MYSTIC Programme in North America (1999–2001) // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2004. – V. 53. – P. 290-296.

10. National Committee for Clinical Laboratory Standards. (2003). Methods for Dilution Antimicrobial Susceptibility Tests for Bacteria that Grow Aerobically—Sixth Edition: Approved Standard M7-A6 // NCCLS, Villanova, PA, USA. – 2003. – 76 p.

11. Van Eldere J. Multicentre surveillance of Pseudomonas aeruginosa susceptibility patterns in nosocomial infections // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2003. – V. 51. – P. 347-352.