Науковий вісник Східноєвропейського національного університету імені Лесі Українки

Розділ І. Мікробіологія

Серія: Біологічні науки, 2018, 8 (381)

УДК: 579.222:591.132

Чутливість до антибактеріальних препаратів факультативно-анаеробних мікроорганізмів, виділених від хворих із гострим некротичним панкреатитом

Вікторія Поточилова [1], Валерій Войцеховський [2], Андрій Ісламов [2]

[1]Комунальний заклад Київської обласної ради «Київська обласна клінічна лікарня», Київ, Україна
[2]Національний медичний університет імені О. О. Богомольця, Київ, Україна
Адреса для листування: vika.ptch@gmail.com

Отримано: 08.09.18; прийнято до друку: 10.10.18; опубліковано: 26.12.18

Резюме. Вивчення видового складу та чутливості до антимікробних препаратів факультативно-анаеробних мікроорганізмів у хворих на гострий некротичний панкреатит. Ідентифікацію мікроорганізмів та визначення їх чутливості до антибіотиків методом серійних розведень проводили на мікробіологічному аналізаторі VITEK 2 compact 15 (Франція), а також і диско-дифузійним методом. Виділені із гною штами перевіряли на чутливість до таких антибіотиків, як гентаміцин, лінезолід, ципрофлоксацин, амікацин, нетілміцин, азтреонам, фосфоміцин, тейкопланін, ванкоміцин, тійгециклін, левофлоксацин, тетрациклін, офлоксацин, іміпенем, меропенем, піперацилін/тазобактам, ампіцилін, цефтріаксон, цефподоксім, доксіциклін, колістин, цефепім, цефтазидім, тобраміцин. Під час дослідження зразків гною із підшлункової залози, отриманих із допомогою ендоскопа, у процесі та після оперативних утручань і санації черевної порожнини у хворих із гострим некротичним панкреатитом виділено різноманітну факультативно-анаеробну мікрофлору.

Для виділення факультативно-анаеробних мікроорганізмів використовували селективні й елективні поживні середовища, робили висів за методом Голда. Для накопичення біомаси застосовували цукровий бульйон, із якого кожні 24 години робили пересів на пластинчасті поживні середовища. Інкубація факультативних анаеробів проводилася в термостаті при температурі 37°С 24 години. Під час ендоскопічного дослідження грампозитивну флору виділяли у 27,89 % випадків, у процесі та після оперативних утручань і при санаціях черевної порожнини у 27,36 % випадків. Під час ендоскопічного дослідження грамнегативну флору виділяли у 21,05 % випадків, під час та після оперативних утручань і при санаціях черевної порожнини – у 23,7 % випадків.

У зв'язку з тим, що в протоколах надання медичної допомоги в розділі «Діагностична програма» не передбачено проведення мікробіологічних досліджень і визначення чутливості до антибіотиків у виділених штамів, а щодо деяких рекомендованих антибіотиків право вибору антибіотика належить лікарю, збільшення досвіду стосовно резистентності мікроорганізмів сприятиме покращенню тактики лікування гнійного некротичного панкреатиту.

Проведені дослідження підтверджують розповсюдження множинної антибіотикорезистентності серед виділених штамів. Установлено, що в мікрофлори, виділеної у хворих на ГНП, найбільший відсоток таких чутливих штамів, як тейкопланін, цефамандол, колістин, лінезолід, ванкоміцин, тайгециклін. Отримані результати досліджень можуть бути використані в подальшому для вдосконалення тактики лікування хворих на гострий некротичний панкреатит.

Ключові слова: гострий некротичний панкреатит, чутливість, мікробіологічна діагностика, бактерії.

© Поточилова В., Войцеховський В., Ісламов А., 2018

Sensitivity to Antibacterial Drugs of Facultative Anaerobic Microorganisms Isolated From Patients With Acute Necrotic Pancreatitis

Potochylova Viktoriia[1], Voitsekhovskyi Valeryii[2], Islamov Andrii[2].

[1]Communal institution of the Kyiv Regional Council «Kyiv Regional Clinical Hospital», Kyiv, Ukraine
[2]O. O. Bohomolets National Medical University, Kyiv, Ukraine
Correspondence: vika.ptch@gmail.com

Resume. Study of the species composition of facultative-anaerobic microorganisms in patients with acute necrotic pancreatitis and their sensitivity to antimicrobial drugs. Identification and sensitivity to antibiotics, by serial dilutions, in microorganisms were carried out on a microbiological analyzer VITEK 2 compact 15 (France). Determination of the sensitivity of isolated microorganisms' cultures to antibacterial preparations was also carried out using the disc diffusion method. Highlighted from manure strains tested for sensitivity to the following antibiotics: gentamicin, linezolid, ciprofloxacin, amikacin, netilmitsyn, aztreonam, fosfomycin, teicoplanin, vancomycin, tiyhetsyklin, levofloxacin, tetracycline, ofloxacin, imipenem, meropenem, piperacillin / tazobactam, ampicillin, ceftriaxone, cefpodoxime, doxycycline, colistin, cefepime, ceftazidime, tobramycin.

In the study of pancreatic manure obtained during an endoscopic examination and during and after surgical interventions and during the rehabilitation of the abdominal cavity in patients with acute necrotic pancreatitis, a variety of facultative anaerobic microflora has been isolated. In the endoscopic study, gram-positive flora was excreted in 27,89 % of cases, during and after surgical interventions and abdominal sanation in 27,36 % of cases. In the endoscopic study, gram-negative flora was excreted in 21,05 % of cases, during and after surgical interventions and in abdominal sanation in 23,7 % of cases.

Due to the fact that in the protocols for the provision of medical care in the section «Diagnostic program» there is no microbiological research, and determination of sensitivity to antibiotics in isolated strains, and to some recommended antibiotics the right to choose an antibiotic belongs to a physician, to increase the experience regarding the data of resistance of microorganisms will help to improve the treatment of purulent necrotic pancreatitis. The conducted studies confirm the proliferation of multiple antibiotic resistance among isolated strains. It was established that in the microflora isolated from patients with NNP, the highest percentage of susceptible strains was, teykoplanina, cefamandol, colistin, linzolid, vancomycin, taigecycline. The obtained results of the research can be used in the future to improve the treatment tactics of patients with acute necrotic pancreatitis

Key words: acute necrotic pancreatitis, sensitivity, microbiological diagnosis, bacteria.

Вступ

Досить часто за неможливості встановлення етіології інфекційного процесу лікарі призначають не раціональну антибіотикотерапію, а використовують антибіотики емпірично [2]. У зв'язку з цим відбувається формування та поширення стійких до антибіотиків штамів мікроорганізмів, які, як відомо, становлять значну небезпеку для здоров'я людини [1].

Дослідники стверджують, що в патогенезі гострого некротичного панкреатиту важливу роль відіграють грампозитивні та грамнегативні факультативно- й облігатно-анаеробні мікроорганізми [3–7]. Відтак головною умовою для успішної терапії антибактеріальними препаратами є ретельна мікробіологічна діагностика з виділенням збудника та визначенням його чутливості до антибіотиків. У попередній роботі нами схарактеризовано облігатно-анаеробну мікрофлору за гострого некротичного панкреатиту і її чутливість до антибактеріальних препаратів [10].

Мета дослідження – вивчення видового складу факультативно-анаеробних мікроорганізмів у хворих на гострий некротичний панкреатит та визначення їх чутливості до антимікробних препаратів.

Матеріали та методи

До Комунального закладу Київської обласної ради «Київська обласна клінічна лікарня» у період із 2011 до 2016 рр. поступило 86 пацієнтів із «діагнозом гострий некротичний панкреатит». Із них 51 (59,31 %) – чоловічої статі, 35 (40,69 %) – жіночої.

У госпіталізованих хворих для мікробіологічного дослідження брали гній із підшлункової залози та навколишньої парапанкреатичної клітковини [8]. Мікроорганізми виділяли з гною, отриманого як при первинному ендоскопічному дослідженні, так і

під час та після оперативних утручань і при санаціях черевної порожнини.

Для виділення чистих культур факультативно-анаеробних бактерій застосовували стандартизовані поживні середовища промислового виробництва, що дозволені до використання в Україні й мають сертифікат якості та інструкцію з використання, а саме 5 % кров'яний агар, жовтково-сольовий агар, агар Ендо, ентерокок-агар, шоколадний агар.

Ідентифікацію ізолятів та визначення їх чутливості до антибактеріальних препаратів проводили на мікробіологічному аналізаторі VITEK 2 compact 15 (Франція).

Після встановлення мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) індивідуально розраховували дози препаратів для лікування.

Визначення чутливості виділених культур мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів проводили також і дисково-дифузійним методом із використанням стандартних комерційних дисків з антибактеріальними препаратами виробництва HiMedia (Індія), а результати інтерпретували відповідно до рекомендацій CLSI (CLSI: Clinical and Laboratory Standard Institute.) та EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing) [9].

Як тест-антибіотики застосовано гентаміцин, лінезолід, ципрофлоксацин, амікацин, нетілміцин, азтреонам, фосфоміцин, тейкопланін, ванкоміцин, тійгециклін, левофлоксацин, тетрациклін, офлоксацин, іміпенем, меропенем, піперацилін/тазобактам, ампіцилін, цефтріаксон, цефподоксім, доксіциклін, колістин, цефепім, цефтазидім, тобраміцин.

Результати та обговорення

Протягом 2011–2016 рр. бактеріологічним дослідженням зразків гною від хворих на гострий некротичний панкреатит виділено, ідентифіковано й визначено чутливість до антибіотиків 189 штамів мікроорганізмів, частину з яких віднесено до грампозитивних видів, зокрема *Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus pseudintermedius, Staphylococcus aureus, Kocuria kristinae, Streptococcus sanguinis,* а решта – до грам негативних: – *Enterobacter aerogenes, Enterobacter cloacae, Klebsiella pneumoniae, Escherichia coli, Burkholderia cepacia, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii* (табл. 1, 2, 3). У роботах А. Л. Костюченко та Е. П. Коновалова виділено такі мікроорганізми, як *Escherichia coli, Klebsiella spp, Enterobacter spp, Proteus spp, Pseudomonas aeruginosa, Bacteroides spp Clostridium spp* й ентерококи, що збігається з нашим дослідженням [6; 7].

За результатами аналізу простежено суттєві відмінності в резистентності виділених штамів до антибактеріальних препаратів різних класів.

Із даних табл. 1 видно, що під час ендоскопічного дослідження й після оперативних утручань та за санації черевної порожнини виділяли практично ідентичну грампозитивну й грамнегативну факультативно-анаеробну мікрофлору. У процесі ендоскопічного дослідження грампозитивну флору виділяли у 27,89 % випадків, під час та після оперативних утручань і за санації черевної порожнини – у 27,36 %. Під час ендоскопічного дослідження грамнегативну флору виділяли у 21,05 % випадків, під час, після оперативних утручань та за санації черевної порожнини – 23,7 %. У процесі ендоскопічного дослідження спостерігали, 92 штами факультативно-анаеробних мікроорганізмів, а під час та після оперативних утручань і за санації черевної порожнини – 97 штамів мікроорганізмів.

Таблиця 1

Кількість факультативно-анаеробної мікрофлори, виділеної за ендоскопічного дослідження й під час оперативних утручань та за санації черевної порожнини

Показники частоти виділення ізолятів мікрофлори із зразків гною за гострого некротичного панкреатиту, відібраних	**Виділена мікрофлора**		**усього**
	грампозитивна	**грамнегативна**	
За ендоскопічного дослідження	53	39	92
Відсоток усіх виділених штамів	27,89	21,05	–
Під час та після оперативних утручань і санації черевної порожнини	52	45	97
Відсоток усіх виділених штамів	27,36	23,7	–
Усього, ізолятів	105	84	189
Відсоток	55,26	44,74	–

Таблиця 2

Питома вага стійких до антибіотиків штамів грампозитивної факультативно-анаеробної мікрофлори, %

№ з/п	Назва антибіотика	*Enterococcus faecium, n=55*	*Enterococcus faecalis, n=2*	*Staph. Epidermidis, n=35*	*Staph. Pseudintermedius, n=1*	*Staph. Aureus, n=8*	*Kocuria kristinae, n=2*	*Streptococcus sanguinis, n=2*
1	Гентаміцин	61,8	50	8,6	0	12,5	50	0
2	Ципрофлоксацин	36,4	50	14	100	12,5	50	100
3	Лінезолід	0	5,4	5,7	0	0	0	0
4	Тейкопланін	0	0	5,7	0	0	0	0
5	Нетілміцин	нд	нд	0	0	50	0	нд
6	Ванкоміцин	3,6	0	8,6	100	0	0	0
7	Фосфоміцин	нд	нд	45,7	0	37,5	0	нд
8	Тетрациклін	нд	нд	85,7	100	87,5	100	100
9	Тігециклін	0	0	0	0	0	0	0
10	Офлоксцин	98,2	100	14,3	100	12,5	нд	100
11	Іміпенем	36,4	0	8,6	0	0	0	0
12	Меропенем	69,1	0	5,7	0	0	0	0
13	Цефтріаксон	нд	нд	28,6	0	12,5	0	0
14	Цефокситин	нд	нд	5,7	100	12,5	50	50
16	Доксіциклін	нд	нд	40	0	37,5	0	100

Примітка. *нд – немає даних із приводу інтерпретації результатів (до цього антибіотика чутливість не визначено, існує природна резистентність) %; n – кількість виділених штамів.*

Із даних табл. 2, очевидно, що всі штами *Enterococcus faecium, Enterococcus faecalis, Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus aureus, Kocuria kristinae, Streptococcus sanguinis* чутливі до тейкопланіну й тігецикліну. Штами *Enterococcus faecium* виявилися чутливими до лінезоліду (100 %), а 5,4 % *Enterococcus faecalis* стійкі до цього антибіотика. Усі виділені штами *Enterococcus faecalis* чутливі до іміпенему, меропенему. Штами *Enterococcus faecium* стійкі в 36,4 % до іміпене-му, а до меропенму – у 69,1 %. Стійкими були 61,8 % *Enterococcus faecium* до гентаміцину, а до ципрофлоксацину – 36,4 % виділених штамів. До гентаміцину та ципрофлоксацину стійкі 50 % штамів *Enterococcus faecalis*, до офлоксацину – 98,2 % штамів *Enterococcus fae-cium,* а *Enterococcus faecalis* стійкими були 100 % штамів.Чутливими (100 %) до нетілміцину виявилися штами *Staphylococcus epidermidis, Staphylococcus pseudintermedius* і *Kocuria kristinae* - *Staphylococcus aureus* чутливими виявилося 50 % штамів. До ванкоміцину чутливі всі виділені штами в *Staphylococcus aureus, Kocuria kristinae, Streptococcus sanguinis* – у 8,6 % виділених штамів виявлено у *Staphylococcus epidermidis*. До фосфоміцину чутливі (100 %) *Kocuria kristinae* та *Staphylococcus pseudintermedius, Staphylococcus epidermidis* – у 45,7 %, а *Staphylococcus aureus* – у 37,5 % випадків. Стійкими до іміпенему виявилися 8,6 % виділених штамів, а до меропенему – 5,7 % *Staphylococcus epidermidis. Staphylococcus pseudintermedius, Staphylococcus aureus, Kocuria kristinae, Streptococcus sanguinis* усі виділені штами були чутливими. *Kocuria kristinae, Streptococcus sanguinis, Staphylococcus pseudintermedius* виявилися чутливими в 100 % випадків до цефтріаксону. Штами *Staphylococcus aureus* були стійкі у 12,5 %, а *Staphylococcus epidermidis* – у 28,6 %. Усі виділені штами *Kocuria kristinae* та *Staphylococcus pseudintermedius* виявилися чутливими до доксицикліну. Усі штами *Streptococcus sanguinis* виявилися стійкі до доксицикліну. Стійкими були 40 % виділених штамів *Staphylococcus epidermidis,* а *Staphylococcus aureus* – 35,5 %.

Результати дослідження резистентності грамнегативних штамів до антибіотиків, наведено в табл. 3.

Серед грамнегативної мікрофлори стійкими були всі виділені штами *Burkholderia cepacia, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter*

baumannii – до гентаміцину. Виділені штами *Klebsiella pneumoniae* стійкі до гентаміцину в 45,8 %, а *Enterobacter cloacae* разом з *Enterobacter aerogenes* та *Escherichia coli* проявлена чутливість у всіх виділених штамів. Штами *Enterobacter ssp.* стійкі в 55 % до амікацину, у 37,5 % – до азтреонаму, 45 % – до фосфоміцину, 10 % – до іміпенему, 35 % – до меропенему й цефтріаксону, 45 % – до цефепіму та 80 % – тобраміцину. До цефтазидіму, ампіциіну й левофлоксацину *Enterobacter cloacae* разом з *Enterobacter aerogenes* виявили стійкість у 100 % виділених штамів. Чутливими були всі виділені штами *Enterobacter cloacae* разом *Enterobacter aerogenes* до ципрофлоксацину, нетілміцину, тігецикліну, цефподоксіму, офлоксацину та колістину.

Усереднені результати стійкості до дослідних антибіотиків усіх штамів грампозитивних і грамнегативних факультативно-анаеробних мікроорганізмів наведено в табл. 4.

Виділені мікроорганізми були чутливі до тігецикліну й колістину у всіх виділених штамів. До лінезоліду резистентними виявилися лише 1,54 % штамів. Ванкоміцин резистентними були 16,02 % штамів, а до тейкопланіну стійкими – 0,81 %. У зв'язку з тим, що в протоколах надання медичної допомоги в розділі «Діагностична програма» не передбачено проведення мікробіологічних досліджень і визначення чутливості до антибіотиків у виділених штамів, а щодо деяких рекомендованих антибіотиків право їх вибору належить лікарю, то збільшення досвіду стосовно даних про резистентність мікро-

Таблиця 3

Питома вага стійких до антибіотиків штамів грамнегативної факультативно-анаеробної мікрофлори, %

№ з/п	Назва антибіотика	*Enterobacter cloacae, Enterobacter aerogenes*, n=8	*Klebsiella pneumoniae*, n=27	*Escherichia coli*, n=23	*Burkholderia cepacia*, n=1	*Pseudomonas aeruginosa*, n=8	*Acinetobacter baumannii*, n=17
1	Гентаміцин	0	45,8	0	100	100	100
2	Ципрофлоксацин	0	41,65	60,95	нд	50	100
3	Амікацин	55	45,8	16,5	0	50	100
4	Нетілміцин	0	0	26	нд	0	0
5	Азтреонам	37,5	32	17,39	нд	75	нд
6	Фосфоміцин	45	29,15	52	0	16,65	0
7	Тігециклін	0	0	0	нд	нд	нд
8	Левофлоксацин	100	41,65	65,1	нд	75	82,6
9	Іміпенем	10	45,8	38,8	0	41,65	40,95
10	Меропенем	35	45,8	34,3	0	41,65	5,8
11	Ампіцилін	100	100	60,95	нд	нд	нд
12	Піперацилін/тазобактам	10	29,15	34,65	100	33,3	63,85
13	Цефтріаксон	35	29,15	60,95	нд	нд	нд
14	Цефподоксім	0	0	0	нд	нд	нд
15	Офлоксацин	0	7,28	0	нд	нд	нд
16	Колістин	0	0	0	0	0	0
17	Цефепім	45	41,65	30,15	100	100	100
18	Цефтазидім	100	45,8	65,65	100	75	100
19	Тобраміцин	80	66,65	21,5	0	100	63,85

Примітка. *нд – немає даних із приводу інтерпретації результатів (до цього антибіотика чутливість не визначено, існує природна резистентність) %; n – кількість виділених штамів.*

Таблиця 4

Відсоток стійких до антибіотиків штамів грампозитивних та грамнегативних факультативно-анаеробних мікроорганізмів.

№ з/п	Назва антибіотику	% стійких штамів, n=189
1	Гентаміцин	44,05
2	Ципрофлоксацин	52,77
3	Лінезолід	1,54
4	Тейкопланін	0,81
5	Нетілміцин	8,4
6	Ванкоміцин	16,0
7	Фосфоміцин	18,83
8	Тетрациклін	96,17
9	Тайгециклін	0
10	Офлоксцин	48,03
11	Іміпенем	17,09
12	Меропенем	19,78
13	Піперацилін/тазобактам	38,45
14	Цефтріаксон	20,78
15	Цефподоксім	35,67
17	Цефтазідім	81,75
18	Колістин	0

Примітка. *n - кількість штамів*

організмів сприятиме покращенню тактики лікування гнійного некротичного панкреатиту.

Висновки

Проведені дослідження підтверджують розповсюдження множинної антибіотико-резистентності серед виділених штамів. Мікроорганізми виявились стійкими до тетрацикліну, цефтазідіму, ампіциліну, левофлоксацину.

Установлено, що мікрофлора, виділена від хворих на гострий некротичний гепатит, найбільш чутлива до тейкопланіну, цефамандолу, колістину, лінезоліду, ванкоміцину, тайгецикліну.

Отримані результати досліджень можуть бути використані в подальшому для вдосконалення тактики лікування хворих на гострий некротичний панкреатит.

Література

1. Куля, А. Ф.; Сабо, Ю.; Коваль, Г. М. Порівняльний аналіз методів визначення антибіотикочутливості умовно-патогенних бактерій-збудників опортуністичних інфекцій людини. *Мікробіологічний журнал*; 2011, 73, 5, с 47–53.

2. Фурсова, Н. К.; Щелково М. О. *Лекарственная устойчивость микроорганизмов*. Учебное пособие; Мархотин П. Ю; 2012, 248 с.

3. Бойко, В. В.; Криворучко, І. А. Патофізіологія та лікування гострого некротичного панкреатиту. *Мистецтво лікування;* 2003, 6, с 36–40.

4. Джалашев, Я. Х. Клиника, диагностика и лечение неклостридиальной анаэробной инфекции желчевыводящих путей в военных лечебных учреждениях. *Автореферат дис. канд. мед наук*. Санкт-Петербург, 1992, с 26.

5. Коновалов, Е. П.; Жнегин, Г. Р.; Доманский, Б. В.; Терлецкий, В. Н. *Панкреанекроз*. Поиск: Чита; 2000, 240 с.

6. Коновалов, Е. П. Комплексная оценка состояния защитных систем организма как способ прогнозирования и диагностики осложненного течения некротического панкреатита; 2003, 12, с 14–17.

7. Костюченко, А. Л.; Филин, В. И. *Неотложная панкреатология*, Деан": Санкт-Петербург, 2000, 480 с.

8. Зубков, Н. М. Сбор, транспортировка биологического материала и трактовка результатов микробиологических исследований. *Клиничуская микробиология и антимикробная химиотерапия;* 2004, 2 с 143–150.

9. CLSI: Clinical and Laboratory Standard Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 24 Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Clinical and Laboratory Standard Institute; Wayne, PA: 2014.

10. Поточилова, В. В.; Войцеховський В. Г. Етіологічна роль та чутливість анаеробних бактерій, виділених від хворих з гнійним некротичним панкреатитом до антибіотиків. *Вісник національного харківського університету;* Харків, 2017, с 77–81.