ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА МЕДИЦИНА ТА БІОЛОГІЯ

DOI 10.31718/2077-1096.22.1.96
УДК: 616-089.8:616.9:615.281

Ганчо О.В., Лобань Г.А., Федорченко В.І., Чапала А.М., Сивовол В.М.

АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ЗБУДНИКІВ ХІРУРГІЧНИХ ІНФЕКЦІЙ

Полтавський державний медичний університет
Полтавська обласна клінічна лікарня ім. М.В. Скліфосовського

Мікробіологічний моніторинг у різних регіонах світу залишається актуальною проблемою для ефективного контролю лікування хірургічних захворювань та попередження ускладнень. Метою даного дослідження є визначення антибіотикорезистентності збудників хірургічних захворювань, виділених у третинному медичному закладі Полтавської області, Україна. Проведено обсерваційне дослідження, в якому взяли участь 121 пацієнт, які перенесли операцію в хірургічному відділенні КП «Полтавська обласна клінічна лікарня імені М.В. Скліфосовського» (Полтава, Україна) за 2017-2020 роки. На базі бактеріологічної лабораторії лікарні було проведено дослідження біологічного матеріалу цих хворих. Виділення та ідентифікацію збудників проводили автоматизованою технікою з використанням Vitek 2 (Biomérieux, Франція). У 164 виділених та ідентифікованих штамів чутливість до 30 антибіотиків різних груп визначали диско-дифузійним методом із застосуванням стандартних дисків з антибіотиками, які поміщали на поверхню культурального середовища Мюллера-Хінтона (HiMedia Laboratories Pvt Ltd. India). Проведено статистичний аналіз: чутливість мікроорганізмів до антибіотиків визначена у відсотках. Найвищий рівень резистентності до антибактеріальних препаратів виявлено у синьогнійної палички, яка, за винятком 33,3% штамів, чутливих лише до левофлоксацину, виявила стійкість до всіх досліджуваних антибіотиків. Максимальний рівень метицилін-резистентних штамів був визначеним серед коагулазонегативних стафілококів і становив 91,3%. Усі виділені штами клебсієл та 18,7% штамів E.coli були продуцентами беталактамаз розширеного спектру дії. Виявлено значне переважання мультирезистентних штамів мікроорганізмів, стійкість яких виходить за межі більш ніж двох фармакологічних груп антибіотиків.

Ключові слова: збудники, хірургічні інфекції, чутливість, антибіотики, резистентність, мікробіологічний моніторинг

Дослідження є фрагментом науково-дослідної роботи кафедри мікробіології, вірусології та імунології Української медичної стоматологічної академії «Вивчення ролі умовно-патогенних та патогенних інфекційних агентів з різною чутливістю до антимікробних і противірусних препаратів у патології людини» № ДР 0118u004456.

Післяопераційні інфекції є найпоширенішими внутрішньолікарняними інфекціями, які можуть спричинити значну захворюваність та смертність, а також збільшення тривалості госпіталізації і витрат на лікування [1]. Хірургічні інфекції зустрічаються в усіх країнах, а «керування» ними зосереджується на контролі за джерелом інфекції та відповідній антибіотикотерапії, що є особливо гострою проблемою у країнах з низьким та середнім рівнем доходу [2]. Незважаючи на значний прогрес у періопераційній допомозі, хірурги сьогодні спостерігають зростання інфекційних ускладнень не тільки після операцій з приводу гнійних захворювань, а й після планових операцій. Багато з цих інфекцій спричинені стійкими та вірулентними мікроорганізмами, що виникли в результаті людського прогресу, включаючи велику щільність міського населення, подорожі, широке застосування антибіотиків за умов інвазивного та тривалого медичного лікування [3]. Власна мікрофлора хворих найчастіше є відповідальною за інфекції на місці операції, але при госпіталізації протягом 5-7 днів набуває переваги екзогенна та лікарняна флора [4]. Тривала попередня госпіталізація, скупченість хворих, відсутність розмежування догляду за хворими з плановими операціями та з гнійними процесами (гнійний апендицит, гнійний холецистит, перитоніт тощо) суттєво підвищують ризик хірургічної інфекції [5,6]. Передопераційна антибіотикотерапія зменшує частоту інфікування місця хірургічного втручання при багатьох хірургічних процедурах, як і передопераційна обробка шкіри антисептиком, але для раціонального використання антимікробних препаратів необхідні визначення рівня антибіотикорезистентності патогенів гнійно-запальних захворювань [7]. Неухильне зростання стійкості мікроорганізмів до антимікробних препаратів є проблемою загальносвітового масштабу [8]. Відділення хірургії, що особливо надають невідкладну медичну допомогу, є найімовірнішим місцем селекції та поширення резистентних штамів, тому для оптимального використання запобіжних заходів потрібно визначати чутливість збудників гнійно-запальних захворювань у хворих хірургічного профілю до

антимікробних препаратів [9]. Мікробіологічний моніторинг антибіотикорезистентності збудників хірургічної інфекції, що циркулюють, залишається актуальною проблемою в різних регіонах світу. Це визначається необхідністю забезпечення ефективного лікування та профілактика таких патологій [10].

Мета дослідження

Визначення антибіотикорезистентності патогенів гнійно-запальних захворювань у пацієнтів, що потребували хірургічну допомогу.

Матеріали та методи дослідження

Проведено проспективне обсерваційне дослідження, до якого було залучено 121 пацієнта, що перенесли оперативне втручання в хірургічному відділенні Комунального підприємства «Полтавська обласна клінічна лікарня ім. М.В. Скліфосовського» (м. Полтава, Україна). Критерієм включення були гнійні захворювання та інфекційні ускладнення хірургічних втручань. Дослідження біологічного матеріалу від зазначених хворих проводили на базі бактеріологічної лабораторії лікарні. Виділення мікрофлори здійснювали класичним бактеріологічним методом, ідентифікацію виділених мікроорганізмів – за допомогою мікробіологічного аналізатору BioMerieux (Франція).

Визначали чутливість 164 ізольованих та ідентифікованих штамів до 30 антибіотиків різних груп диско-дифузним методом згідно стандартів EUCAST [11]. Для цього просочені антибіотиками паперові диски фірми Hi Media (Індія) та ТОВ «Фармактив» (Україна) накладали на поверхню живильного середовища Мюллера-Хінтона, на яке попередньо наносили інокулюм досліджуваного штаму методом суцільного газону. Через 20-24 годин інкубації при 37°C вимірювали зони затримки росту навколо дисків. Для приготування стандартного мікробного інокулюма, що еквівалентний 0,5 за стандартом мутності МакФарланда, використовували добові культури досліджуваних мікроорганізмів. У дослідженні використовували мікробну суспензію, що містила 10^6 КУО/мл (колонієутворюючих одиниць).

Метицилін-резистентність як маркер множинної резистентності грампозитивних бактерій до антибіотиків визначали за зоною затримки росту виділених штамів до дисків з оксациліном та цефокситином. Беталактамазну активність грамнегативних бактерій визначали за різницею зон інгібіції росту ізолятів навколо дисків із цефтазидимом та цефтазидимом/клавуланатом.

Для обґрунтованої інтерпретації результатів та встановлення їх значущості проводився статистичний аналіз – визначалися частоту чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів у відсотках.

Результати та обговорення

Стан чутливості до антибактеріальних препаратів грампозитивних коків, які були виділені у пацієнтів з гнійно-запальними захворюваннями, що потребували хірургічну допомогу представлено в табл. 1.

Таблиця 1.

Частота виявлення резистентності грампозитивних коків до антибактеріальних препаратів, (% штамів)

Antibacterial medicines / G + bacteria	*S. aureus*	Coagulase-negative staphylococci	*E. faecalis*	*E. faecium*	*Streptococcus* spp.
Бета-лактами:					
бензилпеніцилін	68,7	65	0	-	0
ампіцилін	-	-	0	66,7	0
оксацилін	71,4	91,3	-	-	-
Макроліди:					
еритроміцин	17,6	45	-	-	0
Лінкозаміди:					
кліндаміцин	37,5	26,3	-	-	0
Карбапенеми:					
іміпенем	-	-	81,5	100	-
меропенем	-	-	-	-	-
Хінолони	0	28,6	-	-	-
Фторхінолони	-	80	-	-	-
Аміноглікозиди	0	10,7	85,7	33,3	-
гентаміцин	0	10,7	85,7	50	-
амікацин	-	-	71,4	0	-
тобраміцин	-	0	-	-	-
Тетрациклін	28,57	42,11	-	-	-
Хлорамфенікол	21,4	27,8	41,7	0	8,3
Рифампіцин	0	16,7	-	-	-
Глікопептиди:					
ванкоміцин	0	0	0	0	-
Оксазолідінони:					
лінезолід	0	0	0	0	-
Сульфаніламіди:					
ко-тримоксазол	14,3	42,1	-	-	-

Примітка: 0 – висока чутливість всіх штамів до препарата,
– дослідження не проводилося

Стафілококи, виділені від пацієнтів, мали високу чутливість до більшості антибактеріальних препаратів – аміноглікозидів, хінолонів, глікопептидів (ванкоміцину) та лінезоліду. При цьому були виявлені резистентні до оксациліну штами як серед *Staphylococcus aureus* (71,4%), так і серед коагулазонегативних стафілококів (табл. 1). Найбільш високий рівень метицилінрезистентних штамів (91,3%) спостерігався серед коагулазанегативних стафілококів.

Деякі автори вважають коагулазонегативні штами основним резервуаром метицилінрезистентності [9]. При цьому частота виявлення резистентності стафілококів до бензилпеніциліну становила 68,7% у золотистого та 65% у коагулазанегативних. Встановлено також досить високий рівень стійкості коагулазанегативних стафілококів до фторхінолонів – 80%, еритроміцину – 45%, тетрацикліну та котримоксазолу – 42,1%, а золотистого стафілококу – до кліндаміцину: 37,5%.

Ентерококи були абсолютно чутливі до ванкоміцину, лінезоліду та ампіциліну, тільки 2 штами *E. faecium* виявили резистентність до останнього, особливо високий рівень резистентності був виявленим до іміпенему – 81,5%. Те саме стосується чутливості ентерококів до аміноглікозидів: *E. faecalis* був резистентним до гентаміцину у 85,7% випадків, до амікацину – у 71,4%. До хлорамфеніколу резистентність *E. faecalis* становила 41,7%. Стрептококи були чутливі до всіх досліджуваних антибіотиків за винятком хлорамфеніколу, до якого виявився резистентним лише один штам.

При дослідженні резистентності грамнегативної флори до антибактеріальних препаратів встановлено високий рівень стійкості виділених збудників до багатьох антибіотиків (табл. 2).

Таблиця 2.

Частота виявлення резистентності грамнегативних бактерій до антибактеріальних препаратів, (% штамів)

Антибактеріальні препарати / Г- бактерії	*K.pneumoniae*	*E. coli*	*P.aeruginosa*	*Acinetobacter* spp.	*Enterobacter* spp.	НФГНБ
Бета-лактами:						
ампіцилін	93,3	81,2	-	-	100	-
ампіцилін / сульбактам	100	100	-	-	-	-
амоксиклав / клавуланат	100	100	-	-	100	-
тикарцин/ клавуланат	-	-	100	100	-	-
Цефалоспорини:						
цефтриаксон	50	13,3	-	-	100	-
цефотаксим	100	-	-	100	-	-
цефтазидим	42,9	18,7	100	100	100	50
цефуроксим	100	100	-	-	100	-
цефепім	68,7	0	100	100	50	50
Карбапенеми:	61,5	0	100	94,4	0	50
іміпенем	-	-	-	71,43	-	50
меропенем	100	0	-	71,43	0	50
Хінолони:	62,5	28,6	-	-	100	-
левофлоксацин	-	-	66,7	100	-	-
Фторхінолони	44,4	66,7	-	-	100	-
Аміноглікозиди	31,0	-	100	67,9	100	50
гентаміцин	45	19,2	100	55,6	100	50
амікацин	22,2	0	100	85,7	100	50
тобраміцин	16,7	0	-	88,2	100	0
Тетрациклін	100	100	-	-	-	-
Сульфаніламід: ко-тримоксазол	100	100	-	-	100	-
Нітрофурани	-	0	-	-	-	-

Примітка: 0 – висока чутливість всіх штамів до препарату,
– дослідження не проводилося

Багато штамів грамнегативних бактерій виявилися резистентними до цефалоспоринів. Стійкість *E. coli* до цефтазидиму склала 18,7%, до цефтріаксону всього 13,3%, але до цефепіму були чутливі всі збудники. Тобто було виявлено близько 20% штамів кишкової палички, які продукують бета-лактамази розширеного спектра (БЛРС). Всі штами клебсієлл були резистентні до цефотаксиму і 42,9% – до цефтазидиму, тобто вони мають здатність виробляти БЛРС. Близько половини штамів *K. pneumoniae* (44,4%) та 66,7% *E. coli* були резистентні до фторхінолонів та хінолонів (62,6% та 28,6% відповідно). Частка резистентних штамів *E. coli* до аміноглікозидів була невелика і не перевищувала 19,2% штамів, стійких до гентаміцину, але спостерігалася висока чутливість усіх штамів до інших антибіотиків цієї групи. Серед клебсієлл 45% штамів були резистентні до гентаміцину, 22,2% до амікацину і лише 16,6% до тобраміцину.

Звертає увагу, що майже всі штами синьогнійної палички були резистентні до всіх використаних антибактеріальних препаратів, за винятком лише третини штамів, які виявили чутливість до левофлоксацину. Також дуже високий рівень резистентності характеризував бактерії

родів *Acinetobacter* та *Enterobacter*, серед яких менше половини штамів ацинетобактера були не чутливі до гентаміцину (55,5%), а половина штамів ентеробактерій виявили резистентність до цефепіму. До інших препаратів представники цих родів виявилися 100% резистентними, за винятком бактерій роду *Enterobacter*, які всі були чутливі до меропенему.

Половина штамів неферментуючих грамнегативних бактерій (НГНБ) була чутлива до цефалоспоринів (цефтазидиму та цефепіму), обох карбапенемів (іміпенему та меропенему) та аміноглікозидів (гентаміцину та амікацину). Найкращі результати показав тобраміцин, якого були чутливі всі штами неферментуючих бактерій.

Незважаючи на високий рівень чутливості стафілококів, виділених від хворих хірургічного відділення, до антибіотиків, що використовуються в клінічній практиці, дослідження рівня резистентності етіологічних факторів хірургічних інфекцій у порівнянні з даними інших авторів попередніх років, вказує на тенденцію до значного зростання рівня метицилінрезистентних штамів та їх стійкості до фторхінолонів [9].

Вивчення рівня резистентності виділеної Гр- мікрофлори показало тенденцію до зростання стійкості *Pseudomonas aeruginosa* порівняно з результатами інших дослідників [12]. *Acinetobacter* виявив значно вищий рівень резистентності до антибактеріальних препаратів, ніж було зазначено іншими авторами [8].

Таким чином, мікробіологічний моніторинг за циркулюючими збудниками хірургічної інфекції та їх чутливістю до антибактеріальних препаратів виявив тенденцію до збільшення поширення антибіотикорезистентних штамів коагулазанегативних стафілококів та псевдомонад серед пацієнтів хірургічного профілю Полтавського регіону, Україна. Виявлено значну перевагу полірезистентних штамів мікроорганізмів, стійкість яких виходить за межі більш ніж двох фармакологічних груп антибіотиків серед грамнегативних бактерій.

Висновки

Максимальний рівень метицилінрезистентних штамів визначався серед коагулазанегативних стафілококів та становив 91,3%.

Усі штами клебсієлл та 18,7% штамів кишкової палички виявилися продуцентами БЛРС.

За винятком 33,3% штамів синьогнійної палички, які виявили чутливість до левофлоксацину, всі інші штами цих бактерій були резистентними до всіх досліджених антибактеріальних препаратів.

Високий рівень резистентності до антибактеріальних препаратів виявився характерним для бактерій родів *Acinetobacter* та *Enterobacter*.

Література

1. Laloto TL, Gemeda DH, Abdella SH. Incidence and predictors of surgical site infection in Ethiopia: prospective cohort. BMC Infect Dis. 2017; 17(1):119.
2. Rickard J. Treating surgical infections in low- and middle-income countries: source control, then what? Surg Infect (Larchmt). 2019; 20(3):192-196.
3. Alverdy JC, Hyoju SK, M Weigerinck M, Gilbert JA. The gut microbiome and the mechanism of surgical infection. Br J Surg. 2017; 104(2): 14-23.
4. Kolasiński W. Surgical site infections - review of current knowledge, methods of prevention. Pol Przegl Chir. 2018; 91(4):41-47.
5. Pokrovsky VI, Akimkin VG, Briko NI et al. Puti sovershenstvovaniya laboratornoj diagnostiki infekcij, svayzannyh s okazaniem medicinskoy pomoshi. [Ways to improve laboratory diagnosis of infections associated with the provision of medical care].Medicinskiy almanah. 2012; (2):12-16. (Russian).
6. Nazarchuk OA, Faustova MO, Kolodii SA. Mikrobiologicheskaya kharakteristika infektsionnykh oslozhnenii, aktualnye aspekty ikh profilaktiki i lecheniya u khirurgicheskikh patsientov. [Microbiological characteristics of infectious complications, current aspects of their prevention and treatment in surgical patients]. Novosti khirurgii. 2019; 19(3): 318-327. (Russian).
7. Shamaeva SKh, Mironov AYu, Petrova KM, Sveshnikova NN. Mikrobiologicheskii monitoring patogenov ran u khirurgicheskikh bolnykh i ikh chuvstvitelnosti k antimikrobnym preparatam. Chelovek i ego zdorove. 2012; (1):138-41. (Russian).
8. Nahaichuk V, Nazarchuk OA, Faustova MO, et al. Correlation of Susceptibility to Antiseptics With Biofilm-forming Properties in *Acinetobacter baumannii* as a Pathogen of Surgical Infection. Malaysian Journal of Medicine and Health Sciences. 2020; 16 (1): 230-234.
9. Leclercq R. Epidemiological and resistance issues in multidruggresistant staphylococci and enterococci. Clinical Microbiology and Infection. 2009; 15 (3): 224-231.
10. Spakhi OV, Pakholchuk OP. Osoblyvosti bakteriolohichnoho spektra infikovanykh i hniinykh ran u ditei. [Features of the bacteriological spectrum of infected and purulent wounds in children]. Sovremennaya pediatriya. 2016; 4(76): 120-123. (Ukrainian).
11. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. [Internet] European antimicrobial breakpoints. Basel: EUCAST, 2021. Available from: https://eucast.org/clinical_breakpoints/
12. Adane B, Mesele A. Spectrum and Drug Susceptibility Profile of Bacteria Recovered from Patients with Wound Infection. Clinical Medicine Research. 2018; 7(1): 8-17.

Реферат

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ХИРУРГИЧЕСКИХ ИНФЕКЦИЙ

Ганчо О.В., Лобань Г.А., Федорченко В.И., Чапала А.Н., Сивовол В.Н.

Ключевые слова: возбудители, хирургические инфекции, чувствительность, антибиотики, резистентность, микробиологический мониторинг

Микробиологический мониторинг в разных регионах мира остается актуальной проблемой эффективного контроля лечения хирургических заболеваний и предупреждения осложнений. Целью данного исследования является определение антибиотикорезистентности возбудителей хирургических заболеваний, выделенных в медицинском учреждении Полтавской области, Украина. Проведено обсервационное исследование, в котором приняли участие 121 пациентов, перенесших операцию в хирургическом отделении КП «Полтавская областная клиническая больница имени М.В. Склифосовского» (Полтава, Украина) за 2017-2020 годы. На базе бактериологической лаборатории больницы были проведены исследования биологического материала этих больных. Выделение и идентификацию возбудителей проводили автоматизированной техникой с использованием Vitek 2 (Biomérieux, Франция). У 164 выделенных и идентифицированных штаммов чувствительность к 30 антибиотикам разных групп определяли диско-диффузионным методом с применением стандартных дисков с антибио-

тиками, которые помещали на поверхность культуральной среды Мюллера-Хинтона (HiMedia Laboratories Pvt Ltd. India). Проведен статистический анализ: чувствительность микроорганизмов к антибиотикам определена в процентах. Наиболее высокий уровень резистентности к антибактериальным препаратам оказался характерен для синегнойных палочек, которые за исключением 33,3% штаммов, чувствительных только к левофлоксацину, проявили устойчивость ко всем исследуемым антибиотикам. Максимальный уровень метицилинрезистентних штаммов определялся среди коагулазанегативных стафилококков и составлял 91,3%. Все выделенные штаммы клебсиелл и 18,7% штаммов кишечной палочки оказались продуцентами бета-лактамаз расширенного спектра. Выявлено значительное преобладание полирезистентных штаммов микроорганизмов, устойчивость которых выходит за границы более, чем двух фармакологических групп антибиотиков.

Summary

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF CAUSATIVE PATHOGENES OF SURGICAL SITE INFECTION

Gancho O., Loban` G., Fedorchenko V., Chapala A., Syvovol V.

Key words: pathogens, surgical infections, susceptibility, antibiotics, resistance, microbiological monitoring.

Microbiological monitoring is remaining a pressing issue in effective control of surgical diseases and prevention of complications. The aim of this study is to determine antibiotic resistance of causative pathogens of surgical site infections isolated in a tertiary medical setting in the Poltava region, Ukraine. This prospective observational study involved 121 middle-aged patients who underwent surgical operations in the surgical department of the Municipal Enterprise “M.V. Sklifosovsky Poltava Regional Clinical Hospital” (Poltava, Ukraine) for 2017-2020. Laboratory investigations of the biological material taken from the patients were conducted at the bacteriological department of the hospital. Pathogens were isolated and identified by an automatised technique, using Vitek2 (Biomérieux, France). 164 isolated and identified strains were determined to have the susceptibility to 30 antibiotics of various groups determined by the disk-diffusion method using standard disks with antibiotics placed on the surface of the Mueller-Hinton culture medium (HiMedia Laboratories Pvt Ltd. India). Statistical analysis was carried out: microorganisms’ susceptibility to antibiotics was calculated in percent. The highest level of resistance to antibacterial drugs was found in *Pseudomonas aeruginosa*, which, with the exception of 33.3% of strains were susceptible to levofloxacin only, showed resistance to all tested antibiotics. The maximum level of methicillin-resistant strains was found among coagulase-negative staphylococci and amounted to 91.3%. All isolated *Klebsiella* strains and 18.7% of *E. coli* strains were producers of extended spectrum beta-lactamases. A significant predominance of multiresistant strains of microorganisms, the resistance of which goes beyond the boundaries of more than two pharmacological groups of antibiotics, has been revealed.