

Е.О. Синетар¹, О.І. Брич¹, М.М. Лоскутова¹, І.П. Ткачик²

¹ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб
ім. Л.В. Громашевського НАМН України», Київ.

²ДУ «Інститут нейрохірургії ім. А.П. Ромоданова НАМН України», Київ

АНТИБІОТИКОСТІЙКІСТЬ ТА АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ ЗБУДНИКІВ КАТЕТЕР-АСОЦІЙОВАНИХ ІНФЕКЦІЙ СЕЧОВИВІДНИХ ШЛЯХІВ

Досліджено етіологічну структуру, антибіотикорезистентність та адгезивні властивості збудників катетер-асоційованих інфекцій сечовивідних шляхів (КАІСВШ), виділених у хворих, що перебували у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії. Встановлено, що у видовому складі збудників КАІСВШ переважали бактерії роду *Enterococcus* і їх асоціації з іншими видами мікроорганізмів. Штами ентерококів мали високий рівень стійкості до досліджуваних антимікробних препаратів, за виключенням ванкоміцину та тейкопланіну, до яких чутливими виявилось 100 % штамів. Переважна більшість досліджених штамів мікроорганізмів характеризувалися середньою і високою адгезивністю.

Ключові слова: катетер-асоційовані інфекції сечовивідних шляхів, умовно патогенні мікроорганізми, адгезія.

Катетер-асоційовані інфекції сечовивідних шляхів (КАІСВШ) посідають друге місце у структурі внутрішньолікарняних інфекцій (ВЛІ) [7]. Рівні захворюваності на КАІСВШ у різних країнах світу коливаються і становлять у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії від 40 до 95 %. Нозокоміальна бактеріурія та кандидурія, за даними зарубіжних дослідників, розвивається більш ніж у 25 % пацієнтів протягом перших 5 діб катетеризації, а у 4 % з них розвивається бактеріємія [6, 11].

Найбільш поширеними збудниками КАІСВШ є *Escherichia coli*, *Enterococcus* spp., *Candida* spp., *Klebsiella* spp. та *Pseudomonas aeruginosa*. В останні роки збільшується частота виділення бактерії роду *Enterococcus*, стійких одночасно до декількох антимікробних препаратів, зокрема ванкоміцину [7]. Збудники КАІСВШ характеризуються, як правило, множинною стійкістю до антибіотиків і наявністю факторів патогенності, зокрема високою адгезивною активністю, що дозволяє їм тривалий час циркулювати в стаціонарі і викликати інфекційний процес. Майже у 20 % випадків катетер-асоційованих інфекцій антибактеріальна терапія виявляється неефективною [9].

Досвід різних країн світу показує, що вибір антимікробних препаратів для ефективного лікування ВЛІ, зокрема КАІСВШ, має базуватися на даних постійного мікробіологічного моніторингу видового складу і біологічних властивостей, перш за все антибіотикорезистентності, збудників цих інфекцій. На жаль, в Україні лише поодинокі дослідження присвячені епідеміологічним і клінічним аспектам КАІСВШ. Дані щодо етіологічної структури КАІСВШ і біологічних властивостей їх збудників залишаються в полі уваги лише окремих дослідників [3, 8].

У зв'язку з вищевикладеним, метою нашої роботи було вивчення етіологічної структури та біологічних властивостей збудників катетер-асоційованих інфекцій сечовивідних шляхів.

Матеріали та методи. Об'єктом досліджень були штами мікроорганізмів, виділені з сечі хворих, що знаходились у відділенні реанімації та інтенсивної терапії ДУ «Інститут нейрохірургії ім. А.П. Ромоданова НАМН України» з катетеризацією сечового міхура протягом 3–5 діб.

По 0,1 мл сечі, відібраної стерильним шприцем з катетера, висівали за Голдом на поживні середовища: Ендо, жовтково-сольовий агар (ЖСА), ентерокок агар, 5 % кров'яний агар, агар Сабуро. Посіви на середовищах Ендо, 5 % кров'яному агарі інкубували протягом 18–24 год. при 37°C; на середовищі ЖСА та ентерокок агарі – 48 год. при 37°C; на середовищі Сабуро – 48 год. при 37°C, та ще 3 доби при кімнатній температурі. Після чого проводили облік кількості колоній (КУО), які виростили на середовищах. Виділені культури ідентифікували загальноприйнятими методами. Ступінь бактеріурії виділених мікроорганізмів визначали за таблицею [5].

© Е.О. Синетар, О.І. Брич, М.М. Лоскутова, І.П. Ткачик, 2014

Чутливість виділених мікроорганізмів до антибіотиків вивчали диско-дифузійним методом за Bauer-Kirby [12] з використанням комерційних дисків (HI MEDIA, Індія) на середовищах Mueller Hinton, виробництва BIOMERIEUX, Франція. Залежно від діаметрів зон затримки росту досліджуваних мікроорганізмів навколо дисків з антибіотиками штамми відносили до чутливих, помірно стійких або стійких (резистентних). При оцінці активності антибіотиків враховували критерії виробника дисків. Вибір дисків з антибіотиками проводили відповідно до методичних вказівок [2]. Загалом чутливість штамів *Enterococcus* spp. визначали до ампіциліну, ампіцилін/сульбактаму, ванкоміцину, тейкопланіну, хлорамфеніколу, тетрацикліну, нітрофурантоїну, ципрофлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, моксифлоксацину, лінезоліду, фурадоніну. Чутливість *P. aeruginosa* – до гентаміцину, амікацину, нетилміцину, тобраміцину, ципрофлоксацину, цефтазідіму, цефепіму, іміпенему, меропенему, піперацилін/тазобактаму. У деяких випадках для ідентифікації штамів та визначення чутливості до антибіотиків, зокрема *Achromobacter xylosoxidans*, *Pantoea* spp., застосовували мікробіологічний аналізатор VITEK 2 System (виробництва BIOMERIEUX, Франція), використовуючи для ідентифікації карти GP та GN, а для визначення чутливості до антибіотиків грампозитивних бактерій – карти AST-P580, грамнегативних бактерій AST-NO41. Контроль якості досліджень здійснювали із використанням *Enterococcus faecalis* ATCC 29213, *P. aeruginosa* ATCC 27853. Чутливість *Candida albicans* до протигрибкових препаратів визначали диско-дифузійним методом з використанням дисків з флуконазолом, флуцитозином, амфотерицином В та вариконазолом (HI MEDIA, Індія), а також за допомогою мікробіологічного аналізатора VITEK 2 System. Контроль якості середовищ і дисків із протигрибковими препаратами проводили з використанням тест-культур *C. albicans* ATCC 10231.

Адгезивні властивості виділених штамів мікроорганізмів вивчали на еритроцитах людини резус-позитивної 0 (I) групи крові згідно з методикою В.І. Бриліса із співавт. [1]. Інтерпретацію результатів проводили за середнім показником адгезії (СПА) і індексом адгезивності мікроорганізмів (ІАМ). Мікроорганізми вважали неадгезивними при $ІАМ \leq 1,75$; низькоадгезивними – ІАМ від 1,76 до 2,5; середньоадгезивними – ІАМ від 2,51 до 4,0; та високоадгезивними при ІАМ більш ніж 4,0.

Результати та їх обговорення. В результаті бактеріологічного дослідження сечі хворих виділено 24 штамми мікроорганізмів. За фенотиповими властивостями 16 з них віднесено до *Enterococcus* spp., 1 штам до *A. xylosoxidans*, 1 – *Pantoea* spp., 1 – *P. aeruginosa* та 5 штамів до *C. albicans* (рис. 1).

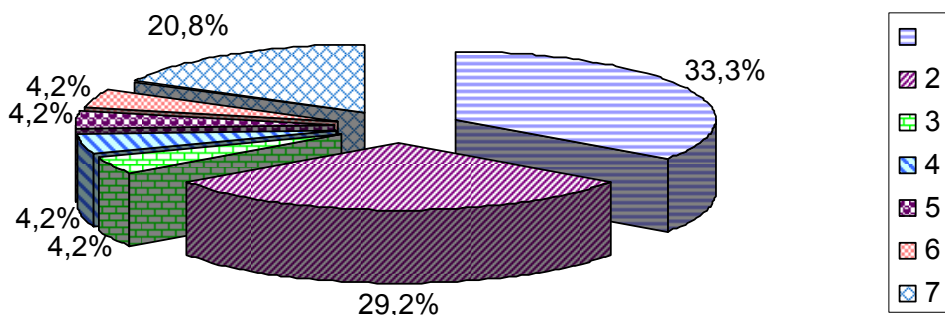


Рисунок. Видовий склад мікроорганізмів – збудників катетер-асоційованих інфекцій сечовивідних шляхів

Примітка: 1. *E. faecalis*; 2. *E. faecium*; 3. *E. avium*; 4. *Pantoea* spp.; 5. *P. aeruginosa*; 6. *A. xylosoxidans*; 7. *C. albicans*.

Виділені штамми ентерококів належали до трьох видів: *E. faecalis* (50%), *E. faecium* (44%) та *E. avium* (6%). Переважна кількість штамів ентерококів (75%) виділялась у монокультури, інші – в асоціації з *P. aeruginosa*, *Pantoea* spp. або *C. albicans*. В одному випадку була виділена трьохкомпонентна асоціація, що складалась з *E. faecalis*, *E. avium* та *C. albicans*. Мікроорганізми-асоціанти виділялись у меншій кількості, ніж ентерококи. Так, ступінь бактеріурії становив

у різних пацієнтів від 10^4 до 10^8 КУО в 1 мл сечі. Більшість осіб (75%) мали бактеріурію високого рівня 10^5 – 10^8 КУО/мл. Кількісний вміст ентерококів у досліджуваних зразках сечі складав від 10^4 до 10^8 КУО/мл; *P. aeruginosa* 10^6 КУО/мл; *Pantoea* spp. 10^5 КУО/мл; *C. albicans* як у монокультурі, так і в асоціаціях з ентерококами не перевищував 10^5 КУО/мл. Отримані дані доводять етіологічну роль виділених мікроорганізмів у розвитку КАІСВШ, а також те, що найпоширенішими збудниками КАІСВШ є ентерококи і їх асоціації з іншими мікроорганізмами.

Аналіз антибіотикограм досліджуваних штамів ентерококів показав, що найбільш активними щодо *E. faecalis* та *E. avium* виявились глікопептиди – ванкоміцин і тейкопланін, до яких чутливими були всі виділені штами цих мікроорганізмів.

Слід зазначити, що у 2009 р. в Україні вперше було виявлено ванкоміцинрезистентні штами ентерококів з типом резистентності Van A, що стало підставою для ствердження про негативні тенденції у розвитку стійкості ентерококів до глікопептидних антибіотиків, що є препаратами резерву при лікуванні важких форм гнійно-запальних захворювань ентерококової і стафілококової етіології [8]. Однак дані, отримані нами, свідчать про те, що протягом останніх років ці антибіотики не втратили своєї активності і можуть бути використані у клінічній практиці.

Фторхінолони є препаратами першого вибору для лікування інфекцій сечовивідних шляхів. Тому дані щодо чутливості ентерококів, які переважали в етіологічній структурі КАІСВШ, до цих препаратів були необхідними для вирішення питання щодо можливості їх подальшого використання для лікування пацієнтів з КАІСВШ. Нами встановлено, що рівень чутливості *Enterococcus* spp. до фторхінолонів, зокрема офлоксацину, складав лише 18,7%, тоді як до левофлоксацину, моксифлоксацину та ципрофлоксацину всі досліджені штами були стійкими.

До фурадоніну виявились чутливими лише 50 % штамів ентерококів. Штами *E. faecalis* у $60,0 \pm 13,9$ % випадків були чутливими до лінезоліду, нітрофурантоїну та ампіциліну, а $84,0 \pm 15,1$ % штамів *E. faecium* чутливими до лінезоліду, хлорамфеніколу, нітрофурантоїну і у $67,0 \pm 13,4$ % випадків до тетрацикліну. Слід відзначити, що штами *E. faecium* характеризувалися 100 % стійкістю до ампіциліну.

Виходячи з отриманих результатів і даних представлених у публікаціях [8], можна стверджувати, що за останні 5 років рівень резистентності ентерококів до ампіциліну, левофлоксацину, ципрофлоксацину, нітрофурантоїну суттєво змінився у сторону збільшення стійкості. Цей факт переконливо свідчить про необхідність постійного моніторингу антибіотикорезистентності збудників КАІСВШ.

Штам *A. xylosoxidans* виявився чутливим до іміпенему, амоксицилін/клавуланової кислоти, піперациліну, піперацилін/тазобактаму та резистентним до інших досліджених антимікробних препаратів. Штам *P. aeruginosa* виявився чутливим до аміноглікозидів, зокрема гентаміцину, амікацину, нетилміцину, тобраміцину. Водночас, до карбапенемів штам синьогнійної палички був стійким. Найбільш активними щодо *Pantoea* spp. були іміпенем та триметоприм/сульфаметоксазол.

Всі виділені штами *C. albicans* проявляли 100 % чутливість до амфотерицину В та вариконазолу. Рівень стійкості *C. albicans* до флуцитозину складав 40 %, флуконазолу – 20 %, що свідчить про обмежену кількість протигрибкових препаратів, які можуть використовуватися при емпіричній і етіотропній терапії кандидозних інфекцій сечовивідних шляхів.

Відомо, що адгезивна активність бактерій є одним із факторів, що визначає початковий етап інфекційного процесу [4]. Тому в подальшому було досліджено адгезивні властивості збудників КАІСВШ.

Як видно з даних, представлених у табл. 1, ІАМ штамів *Enterococcus* spp. коливався в межах від $2,2 \pm 1,1$ до $9,0 \pm 4,6$, що свідчить про широкий діапазон адгезивної активності ентерококів – збудників КАІСВШ. Переважна більшість (81%) штамів ентерококів були високоадгезивними (ІАМ $5,9 \pm 2,6$ – $9,0 \pm 4,6$) і лише 3 штами характеризувались низькою адгезивністю, оскільки їх ІАМ становив $2,2 \pm 1,1$.

Адгезивні властивості мікроорганізмів, виділених при катетер-асоційованих інфекціях сечовивідних шляхів

№ n/n	Штами мікроорганізмів	Показники адгезії (M±m)	
		СПА	ІАМ
1	<i>Enterococcus avium</i> 30	2,0±1,0	2,2±1,1
2	<i>Enterococcus faecalis</i> 8	2,6±1,0	4,9±2,1
3	<i>Enterococcus faecalis</i> 6	3,7±1,7	4,7±2,3
4	<i>Enterococcus faecalis</i> 14	4,7±2,1	5,9±2,6
5	<i>Enterococcus faecalis</i> 17	2,0±1,0	2,3±1,1
6	<i>Enterococcus faecalis</i> 19	3,0±1,3	5,0±2,0
7	<i>Enterococcus faecalis</i> 26	4,5±2,4	5,3±2,8
8	<i>Enterococcus faecalis</i> 28	2,5±0,9	3,0±1,0
9	<i>Enterococcus faecalis</i> 30	3,2±1,3	3,8±1,3
10	<i>Enterococcus faecium</i> 9	3,0±1,2	3,4±1,2
11	<i>Enterococcus faecium</i> 10	6,5±2,0	8,0±2,4
12	<i>Enterococcus faecium</i> 16	4,9±2,1	9,0±4,6
13	<i>Enterococcus faecium</i> 25	4,0±2,7	5,0±3,0
14	<i>Enterococcus faecium</i> 27	2,1±1,0	2,3±1,1
15	<i>Enterococcus faecium</i> 31	6,0±2,9	8,3±3,7
16	<i>Enterococcus faecium</i> 32	3,6±1,2	5,0±1,9
17	<i>Pseudomonas aeruginosa</i> 19	6,0±2,0	8,8±3,1
18	<i>Pantoea spp.</i> 28	6,0±1,4	7,3±2,0
19	<i>Achromobacter xylosoxidans</i> 29	5,5±3,2	7,4±3,8

Достатньо високі показники СПА та ІАМ мали грамнегативні бактерії, зокрема *P. aeruginosa* 19, *Pantoea spp.* 28, *A. xylosoxidans* 29. Слід відзначити, що штами *P. aeruginosa* 19 і *Pantoea spp.* 28, які виділені в асоціації зі штамми *E. faecalis* 19 і *E. faecalis* 28 відповідно, характеризувались високим рівнем адгезивності, їх ІАМ становив 8,8±3,1 – 7,3±2,0.

Таким чином, високі показники адгезивної активності досліджуваних штамів мікроорганізмів можуть сприяти не тільки колонізації мікроорганізмів до епітеліальних клітин слизових оболонок уrogenітального тракту, але й до поверхні сечових катетерів з подальшим формуванням біоплівки, що призводить до хронізації інфекційного процесу та незадовільних результатів антибіотикотерапії.

Згідно з даними літератури, *C. albicans* займає третє місце серед збудників катетер-асоційованих інфекцій і друге місце серед етіологічних чинників генералізованих інфекцій, що є причиною смертності [10]. У патогенезі місцевих та системних запальних захворювань дріжджоподібні гриби використовують механізми коадгезії з бактеріями нормофлори для колонізації слизових оболонок.

За результатами проведених нами досліджень питома вага *C. albicans* в етіологічній структурі КАІСВШ становила 21 %. З них 1 штамп, ізольований в асоціації з *E. faecalis* та *Enterococcus avium*, характеризувався низькою адгезивністю, решта – середньою та високою адгезивністю (табл.2).

Таблиця 2

Адгезивні властивості штамів *Candida albicans*

№ n/n	Штами	Показники адгезії (M±m)	
		СПА	ІАМ
1	<i>C. albicans</i> 11	6,7±2,0	8,3±3,0
2	<i>C. albicans</i> 13	2,6±1,1	4,0±1,3
3	<i>C. albicans</i> 15	2,7±1,2	3,0±1,5
4	<i>C. albicans</i> 24	3,0±1,3	5,0±2,0
5	<i>C. albicans</i> 30	2,0±1,0	2,3±1,1

Отримані дані підтверджують думку деяких авторів про те, що високий ступінь адгезивності штамів *Enterococcus spp.*, *P. aeruginosa*, *C. albicans* корелює із їх резистентністю до антимікробних препаратів і сприяє розповсюдженню адгезивних штамів в умовах лікувальних закладів і виникненню спалахів внутрішньолікарняних інфекцій [4].

Таким чином, нами підтверджено дані літератури [3, 7, 9] щодо відмінності в етіологічній структурі, а також в рівнях антибіотикорезистентності провідних збудників ВЛІ, зокрема КАІСВШ, що переважають в різних країнах і навіть відділеннях одного стаціонару. Крім того, ґрунтуючись на даних про високу адгезивну активність збудників КАІСВШ, що виділялись як в монокультурі, так і в асоціації, можна зробити висновок про необхідність досліджувати і цю властивість мікроорганізмів, особливо при катетеризації, за якої колонізуючі агенти можуть швидко утворювати біоплівки на поверхні катетерів і викликати розвиток гнійно-запального процесу.

Э.А. Синетар¹, О.И. Брич¹, М.Н. Лоскутова¹, И.П. Ткачик²

*¹ГУ «Институт эпидемиологии и инфекционных болезней
им. Л.В. Громашевского НАМН Украины», г. Киев*

²ГУ «Институт нейрохирургии им. А.П. Ромоданова НАМН Украины», г. Киев

АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТЬ И АДГЕЗИВНЫЕ СВОЙСТВА ВОЗБУДИТЕЛЕЙ КАТЕТЕР-АССОЦИИРОВАННЫХ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Резюме

Исследована этиологическая структура, антибиотикорезистентность и адгезивные свойства возбудителей катетер-ассоциированных инфекций мочевыводящих путей (КАИМВП), выделенных у больных, находящихся в отделениях реанимации и интенсивной терапии. Установлено, что в видовом составе возбудителей КАИМВП преобладали бактерии рода *Enterococcus* и их ассоциации с другими видами микроорганизмов. Штаммы энтерококков имели высокий уровень устойчивости к изученным антимикробным препаратам, за исключением ванкомицина и тейкопланина, к которым чувствительными оказались 100 % штаммов. Подавляющее большинство исследованных штаммов микроорганизмов характеризовались средней и высокой адгезивностью.

К л ю ч е в ы е с л о в а: катетер-ассоциированные инфекции мочевыводящих путей, условно патогенные микроорганизмы, адгезия.

E.A. Sinetar¹, O.I. Brych¹, M.N. Loskutova¹, I.P. Tkachyk²

¹State Institution the L.V. Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases of NAMS of Ukraine, Kyiv

²State Institution the A.P. Romodanov Neurosurgery Institute of NAMS of Ukraine, Kyiv

ANTIBIOTIC RESISTANCE AND ADHESIVE PROPERTIES OF AGENTS OF CATHETER-ASSOCIATED INFECTIONS OF URINARY TRACT

S u m m a r y

The authors have investigated etiological structure, antibiotic resistance and adhesive properties of the agents of catheter-associated urinary tract infections (CAUTI) isolated from patients kept in the Department of Resuscitation and Intensive Care. It has been found that bacteria pathogens of CAUTI genus *Enterococcus* and their associations with other microorganisms dominated in species composition. Strains of enterococci had a high level of resistance to antimicrobial drugs studied except vancomycin and teicoplanin, which proved to be 100 % sensitive strains. The vast majority of the investigated strains were characterized by medium to high adhesiveness.

The paper is presented in Ukrainian.

К e y w o r d s: catheter-associated urinary tract infections, conditionally pathogenic microorganism, adhesion.

T h e a u t h o r ' s a d d r e s s: Sinetar E.A., the L.V. Gromashevsky Institute of Epidemiology and Infectious Diseases, National Academy of Medical Sciences of Ukraine; 5 N. Amosov St., Kyiv, MSP, D03038, Ukraine.

1. Брилис В.И., Брилеве Т.А., Ленцнер Х.П., Ленцнер А.А. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов // Лабораторное дело. – 1986. – № 4. – С. 112–114.
2. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів : методичні вказівки МВ 9.9.5–143–2007. Офіційне вид. — Київ: МОЗ України, 2007. – 79 с.
3. Кондратюк В.М. Мікробіологічне обґрунтування деяких способів профілактики гнійно-запальних ускладнень, пов'язаних з використанням катетерів: автореф. дис.... канд. мед. наук: 03.00.07 // В.М. Кондратюк; Вінниц. нац. мед. ун-т ім. М.І. Пирогова МОЗ України, ДУ «Ін-т мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України». – Х., 2009. – 17 с.
4. Осолодченко Т.П. Адгезивні властивості мікроорганізмів та методи їх визначення: метод.рек. МОЗ України, АМН України, Укр.центр наук.мед.інформації та патентно-ліценз.роботи; уклад.: Т.П. Осолодченко та ін. – Київ: Знання України, 2009. – 19 с.
5. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: Приказ МЗ СССР № 535 от 22 апреля 1985г.
6. Серняк Ю.П., Фуксон А.С., Роцин Ю.В., Криштопа М.В. Проблема катетер-ассоциированных инфекций мочевого тракта и бактериальных биологических пленок в современной урологии // Здоровье мужчины. – 2005. – № 2. – С. 40–44.
7. Шулушко Е.М., Буланов А.Ю., Клясова Г.А. Катетер-ассоциированная инфекция мочевыводящих путей: факторы риска и методы профилактики // Вестн. интенсивной терапии. – 2005. – № 4. – С. 73–77.
8. Яновська В.В. Біологічні властивості ентерококів як збудників запальних процесів сечовивідних шляхів: автореф. дис. ... канд. мед. наук: 03.00.07 / В.В. Яновська; ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л.В. Громашевського НАМН України, ДУ «Ін-т мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України». – Х., 2009. – 24 с.
9. Bouza E., San Juan R., Munoz P., Voss A. A European perspective on nosocomial urinary tract infections II. Report on the microbiology workload, etiology and antimicrobial susceptibility (ESGNI 004 study) // Clin. Microbiol. Infect. – 2001 – N 7 (10). – P. 532–542.
10. Coogan M.M., Fidel P.L., Komesu M.C. et al. Candida and mycotic infections // Adv. Dent. Res. – 2006. – 19, N 1. – P. 130–138.
11. Thomas M. Hooton, Suzanne F. Bradley, Diana D. Cardenas et al. Diagnosis, prevention, and treatment of catheter-associated urinary tract infection in adults: 2009 International Clinical Practice Guidelines from the Infectious Diseases Society of America // Clinical Infectious Diseases. – 2010. – 50. – P. 625–663.
12. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; tenth informational supplement. NCCLS Document M 100-S10(M7) 2000.

Отримано 05.06.2013