

УДК: 579.222:591.132

Етіологічна роль та чутливість анаеробних бактерій, виділених від хворих з гнійним некротичним панкреатитом, до антибіотиків В.В.Поточилова¹, В.Г.Войцеховський²

¹Комунальний заклад Київської обласної ради «Київська обласна клінічна лікарня» (Київ, Україна)

²Національний медичний університет імені О.О.Богомольця (Київ, Україна)
Vika.ptch@gmail.com

З метою з'ясування можливостей обов'язкового застосування препаратів з антианаеробною активністю в схемах комбінованої або монотерапії у лікуванні пацієнтів з гострим некротичним панкреатитом вивчали видовий склад облигатно-анаеробних мікроорганізмів у оперативному матеріалі від цих пацієнтів та визначали їх чутливість до антимікробних препаратів. Обстежено 86 пацієнтів з діагнозом гострий некротичний панкреатит, з них 51 пацієнт чоловічої статі (середній вік чоловіків становив $49,6 \pm 11$ років) та 35 жінок (середній вік жінок – 56 ± 12 років.) З гнійного вмісту хворих виділено 63 штами анаеробних мікроорганізмів. Висока чутливість представників анаеробної мікрофлори виявлена в основному до ванкоміцину – 83,8%, іміпенему – 88,7%, колістину – 80,6%, меропенему – 82,2%. Це вказує на доцільність більш широкого застосування цих препаратів та їх аналогів при анаеробній інфекції у пацієнтів з гострим некротичним панкреатитом. Підтверджено дані інших авторів щодо високої стійкості до аміноглікозидів у анаеробних мікроорганізмів, виділених від хворих з гострим некротичним панкреатитом. В нашому дослідженні виявлено знижену чутливість виділених штамів до метронідазолу (66,13%), у порівнянні з представленою іншими авторами у літературі (99,2%).

Ключові слова: некротичний панкреатит, анаеробні мікроорганізми, антибактеріальні препарати, антибіотикорезистентність.

The etiological role and sensitivity of anaerobic bacteria isolated from patients with purulent necrotizing pancreatitis to antibiotics V.V.Potochilova, V.G.Voicehovskii

In order to find out the possibility of obligatory administration of drugs with anti-anaerobic activity in combined or monotherapy in the treatment of patients with acute necrotic pancreatitis, the species composition of obligate anaerobic microorganisms in the surgical material from these patients was studied and their susceptibility to antimicrobial drugs was determined. 86 patients were diagnosed with acute necrotizing pancreatitis, of which 51 male patients (mean age 49.6 ± 11 years old) and 35 female patients (mean age 56 ± 12 years old). 63 strains of anaerobic microorganisms were isolated from the purulent content of the patients. The high sensitivity of the anaerobic microflora was revealed mainly to vancomycin – 89.8%, imipenem – 88.7%, colistin – 80.6% and meropenem – 82.2%. This indicates the expediency of wider application of used drugs and their analogues in anaerobic infections treatment in patients with acute necrotizing pancreatitis. The results of other authors concerning high resistance of anaerobic microorganisms isolated from patients with acute necrotizing pancreatitis to aminoglycosides have been confirmed. The reduced sensitivity of the isolated strains to metronidazole (66.13%) has been revealed, as compared with revealed by other authors (99.2%).

Key words: necrotic pancreatitis, anaerobic microorganisms, antibacterial drugs, antibiotic resistance.

Этиологическая роль и чувствительность анаэробных бактерий, выделенных у больных с гнойным некротическим панкреатитом, к антибиотикам В.В.Поточилова, В.Г.Войцеховский

С целью выяснения возможности обязательного применения препаратов с антианаэробной активностью в схемах комбинированной или монотерапии в лечении пациентов с острым некротическим панкреатитом был изучен видовой состав облигатно-анаэробных микроорганизмов в оперативном материале от этих больных и определена их чувствительность к антимикробным препаратам. Обследовано 86 пациентов с диагнозом острый некротический панкреатит, из них 51 пациент мужского пола (средний возраст мужчин составлял $49,6 \pm 11$ лет) и 35 женского (средний возраст женщин – 56 ± 12 лет. Из гнойного содержимого больных выделено 63 штамма анаэробных

микроорганизмов. Высокая чувствительность представителей анаэробной микрофлоры обнаружена в основном к ванкомицину – 83,8%, имипенему – 88,7%, колистину – 80,6%, меропенему – 82,2%. Это указывает на целесообразность более широкого применения использованных препаратов и их аналогов при анаэробной инфекции у пациентов с острым некротическим панкреатитом. Подтверждены данные других авторов о высокой устойчивости к аминогликозидам анаэробных микроорганизмов, выделенных от больных с острым некротическим панкреатитом. Выявлена сниженная чувствительность выделенных штаммов к метронидазолу (66,13%), по сравнению с представленной другими авторами в литературе (99,2%).

Ключевые слова: некротический панкреатит, анаэробные микроорганизмы, антибактериальные препараты, антибиотикорезистентность.

Вступ

В наукових публікаціях з'являється все більше даних, які свідчать, що в етіології запальних процесів при гострому некротичному панкреатиті важливе місце, поряд з аеробними та факультативно-анаеробними мікроорганізмами і клостридіями, займають неспороутворюючі анаеробні бактерії. За даними різних авторів, що мають досвід у вивченні анаеробних інфекцій, неклостридіальні анаеробні та клостридіальні бактерії з різних джерел виділяються у 20–70 % випадків (Хирургические инфекции, 2003).

Ця проблема важлива не тільки у зв'язку з високою питомою вагою неспороутворюючих анаеробних бактерій в патології і мало вивченим спектром клінічних проявів, але і з великими труднощами їх лабораторного вивчення, що потребує нових підходів при діагностиці, лікуванні та попередженні захворювань.

Бактеріальна транслокація збудників з просвіту кишківника внаслідок порушення бар'єрної функції його стінки вважається основним механізмом виникнення гнійно-септичних ускладнень гострого некротичного панкреатиту. Надлишкове надходження бактерій в систему ворітної вени може сприяти розвитку поліорганної недостатності (Савельев, 2004).

Метою роботи було вивчити видовий склад облигатно-анаеробних мікроорганізмів в оперативному матеріалі від хворих на гострий некротичний панкреатит та визначити їх чутливість до антимікробних препаратів.

Матеріали та методи

У період 2011–2016 рр. до Комунального закладу Київської обласної ради «Київська обласна клінічна лікарня» поступило 86 пацієнтів з діагнозом гострий некротичний панкреатит. З них 51 пацієнт чоловічої статі (59,31%) та 35 жіночої (40,69%). Середній вік чоловіків складав 49,6±11 років, середній вік жінок складав 56±12 років.

Одним з першочергових завдань дослідження було виділення з гнійного вмісту тканини підшлункової залози та оточуючої парапанкреатичної клітковини анаеробних мікроорганізмів. Кількісний склад мікроорганізмів визначали з гнійного вмісту, отриманого при ендоскопічному обстеженні, а також під час оперативних втручань та при санаціях черевної порожнини.

Матеріал транспортували до бактеріологічної лабораторії відповідно до правил забору та транспортування матеріалу (Зубков, 2004). Культивування здійснювали у тіогліколевому середовищі з додаванням резазурину та на збагаченому 5% кров'яному м'ясопептонному агарі.

Всі застосовані поживні середовища дозволені до використання в Україні і мають сертифікат якості (паспорт) та інструкцію з використання.

Для приготування розчинів, реактивів і поживних середовищ використовували дистильовану воду за «ГОСТ 6709-72».

Для зменшення дифузії кисню з повітря після посіву матеріалу пробірки заливали зверху стерильною вазеліновою олією (товщина шару 1–1,5 см). Інкубували при температурі 37°C протягом 48–72–96 годин до появи видимого росту мікроорганізмів в пробірці.

Для проведення наступного етапу мікроорганізми, які виростили в пробірках, відбирали піпеткою для подальшого посіву на збагачений 5% кров'яний м'ясопептонний агар і розсівали за Голдом.

Умов анаеробіозу досягали в анаеростатах GENbox 7,0 L та GENbox 2,5 L виробництва Biomerieux, Франція. Умов анаеробіозу досягали за допомогою анаеропакетів GENbox анаер виробництва Biomerieux, Франція. Контроль анаеробіозу проводили за допомогою Anaer Indikator виробництва Biomerieux, Франція.

Тест на чутливість до антибактеріальних та хіміотерапевтичних препаратів показаний при кожному інфекційному процесі. Тест на чутливість проводили з чистою культурою мікроорганізмів, що попередньо була виділена на щільному поживному середовищі. В результаті визначались мінімальні інгібуючі концентрації (МІК), на основі яких розраховували дозування препарату. Традиційні методи визначення МІК засновані на використанні антибіотиків. МІК була найменша концентрація, що викликала інгібіцію мікроорганізмів.

Визначення чутливості виділених культур мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів проводили також і диско-дифузійним методом, за Баер та Кірбі, з використанням стандартних комерційних дисків з антибактеріальними препаратами виробництва HiMedia (Індія), інтерпретували у відповідності до рекомендацій CLSI – 2014 року (CLSI: Clinical and Laboratory Standard Institute, 2014).

Ідентифікацію мікроорганізмів проводили на мікробіологічному аналізаторі VITEK 2 compact 15 (Франція). Культури анаеробних мікроорганізмів, що вирости впродовж 48–72 годин у напіврідкому середовищі, пересівали на збагачений 5% кров'яний агар Мюллера-Хінтона, накладали диски з антимікробними препаратами та інкубували в термостаті при температурі 37°C до 72 години.

Результати та обговорення

Досліджували культури анаеробних мікроорганізмів у пацієнтів з гнійним некротичним панкреатитом. З гнійного вмісту хворих на гострий некротичний панкреатит було виділено 63 культури анаеробних мікроорганізмів; їх перелік та кількість представлені в табл. 1.

Таблиця 1.

Види анаеробних мікроорганізмів та кількість штамів, виділених з гнійного вмісту при гострому некротичному панкреатиті

№ з/п	Вид мікроорганізмів	Кількість штамів	
		При ендоскопічному обстеженні, кількість	Під час оперативних втручань і при санаціях порожнин, кількість
1	<i>Bacteroides ureolyticus</i>	12	3
2	<i>Bacteroides spp.</i>	4	0
3	<i>Clostridium sordellii</i>	5	2
4	<i>Clostridium group</i>	7	0
5	<i>Clostridium innocuum</i>	7	0
6	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i>	8	0
7	<i>Veillonella spp.</i>	6	0
8	<i>Anaerococcus prevotii</i>	7	1
9	<i>Fusobacterium spp.</i>	0	1
	Всього	56	7

Встановлено, що бактероїди виділялись частіше за інших анаеробних мікроорганізмів. Було виділено 19 штамів *Bacteroides spp.* Всі виділені штами мікроорганізмів виявились чутливими до колістину та меропенему. Висока чутливість була і до ванкомицину, кліндаміцину та ампіциліну/сульбактаму. Всі виділені мікроорганізми виявились стійкими до канаміцину.

Всі виділені клостридії, *Peptoniphilus asaccharolyticus*, *Anaerococcus prevotii* та *Veillonella spp.* були найбільш чутливими до тобраміцину, ванкомицину та іміпенему.

З клінічного матеріалу лише в одному випадку виділився *Fusobacterium spp.* Даний мікроорганізм виявив чутливість до тобраміцину, ванкомицину, колістину, меропенему, кліндаміцину, іміпенему.

Як видно з представлених в табл. 2 даних, в показниках чутливості досліджуваних культур відмічались певні закономірності. Результати наших досліджень, щодо стійкості анаеробних мікроорганізмів до канаміцину, підтвердили результати, отримані іншими дослідниками (Фурсова, 2012).

Таблиця 2.

Кількість штамів анаеробних мікроорганізмів, виділених при гнійному некротичному панкреатиті, та їх чутливість до антибактеріальних препаратів

№ з/п	Види анаеробних мікроорганізмів	Антибактеріальні препарати								
		Тобраміцин	Канаміцин	Ванкоміцин	Метронідазол	Ампіцил/сульбактам	Кліндаміцин	Іміпенем	Колістин	Меропенем
1	<i>Bacteroides ureolyticus</i> , n=15	3	0	13	10	12	13	14	15	15
2	<i>Bacteroides spp.</i> , n=4	3	0	3	2	4	4	3	4	4
3	<i>Clostridium sordellii</i> , n=7	7	0	7	7	2	2	7	7	7
4	<i>Clostridium group</i> , n=7	6	0	6	4	5	3	6	5	4
5	<i>Clostridium innocuum</i> , n=7	5	0	1	5	1	1	5	5	1
6	<i>Peptoniphilus asaccharolyticus</i> , n=8	8	1	8	3	8	8	8	2	8
7	<i>Veillonella spp.</i> , n=6	6	2	6	4	4	5	5	6	6
8	<i>Anaerococcus prevotii</i> , n=8	7	2	7	5	6	6	7	5	5
9	<i>Fusobacterium spp.</i> , n=1	1	0	1	1	0	1	0	1	1
Всього штамів n=63		46	5	52	41	41	43	55	50	51
% чутливих штамів		74,1	8,06	83,87	66,13	66,1	69,35	88,7	80,65	82,26

Примітки: числа у таблиці означають кількість чутливих штамів; n – загальна кількість штамів.

В цілому, висока чутливість представників анаеробної мікрофлори виявлена в основному до ванкоміцину – 83,8%, іміпенему – 88,7%, колістину – 80,6%, меропенему – 82,2%. Результати наших досліджень вказують на доцільність більш широкого застосування цих препаратів та їх аналогів при анаеробній інфекції у пацієнтів з гострим некротичним панкреатитом.

Зазначимо, що метронідазол має бактерицидний ефект відносно анаеробних мікроорганізмів, ферментні системи яких здатні відновлювати нітрогрупу. Активна відновлена форма препарату порушує реплікацію ДНК і синтез білка в мікробній клітині, а також пригнічує тканинне дихання. Резистентність збудників до метронідазолу розвивається рідко (Джалашев, 1992). Дані літератури та наші дослідження дещо відрізняються стосовно ефективності метронідазолу. За результатами наших досліджень, чутливість виділених штамів до метронідазолу суттєво відрізнялася від даних інших авторів (Фурсова, 2012; Кубышкин, Блатун, 2007). Виявлено знижену чутливість виділених штамів до метронідазолу (66,13%), у порівнянні з представленою іншими авторами у літературі (99,2%) (Кубышкин, Блатун, 2007).

Висновки

1. При аналізі результатів досліджень анаеробних мікроорганізмів, виділених при гострому некротичному панкреатиті, виявлено високий рівень їх чутливості до ванкоміцину – 83,87%, іміпенему – 88,7%, колістину – 80,6% та меропенему – 82,26%.

2. Підтверджено дані інших авторів щодо високої стійкості до аміноглікозидів у анаеробних мікроорганізмів, виділених від хворих з гострим некротичним панкреатитом.

3. Виявлено знижену чутливість виділених штамів до метронідазолу (66,13%), у порівнянні з представленою іншими авторами у літературі (99,2%).

Список літератури

Джалашев Я.Х. Клиника, диагностика и лечение неклостридиальной анаэробной инфекции желчевыводящих путей в военных лечебных учреждениях. Автореф. дис. ... канд. мед. наук /

14.00.27; 03.00.07 – хирургия, микробиология. – Спб, 1992. – 26с. /Dzhalashev Ya.Kh. Klinika, diagnostika i lecheniye neklostridial'noy anaerobnoy infektsii zhelchevyvodyashhikh putey v voyennykh lechebnykh uchrezhdeniyakh. Avtoref. dis. ... kand. med. nauk / 14.00.27; 03.00.07 - khirurgiya, mikrobiologiya. – Spb, 1992 – 26s./

Зубков Н.М. Сбор, транспортировка биологического материала и трактовка результатов микробиологических исследований // Клинич. микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2004. – №2. – С.143–154. /Zubkov N.M. Sbor, transportirovka biologicheskogo materiala i traktovka rezul'tatov mikrobiologicheskikh issledovaniy // Klinich. mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya. – 2004. – No. 2. – S. 143–154./

Кубышкин В.А., Блатун Л.А. Метронидазол при анаэробной неклостридиальной инфекции // РМЖ. – 2007. – №29. – С.2222. /Kubyshkin V.A., Blatun L.A. Metronidazol pri anaerobnoy neklostridial'noy infektsii // RMZh. – 2007. – No. 29. – S. 2222./

Руководство по неотложной хирургии органов брюшной полости / Под ред. В.С.Савельева. – М.: «Трида9Х», 2004. – 640с. /Rukovodstvo po neotlozhnoy khirurgii organov bryushnoy polosti / Pod red. V.S.Savel'yeva. – M.: "Triada9Kh", 2004. – 640s./

Фурсова Н.К. Лекарственная устойчивость микроорганизмов. Учебное пособие. – МО, Щелково: Издатель Мархотин П.Ю., 2012. – 248с. /Fursova N.K. Lekarstvennaya ustoychivost' mikroorganizmov. Uchebnoye posobiye. – MO, Shhelkovo: Izdatel' Markhotin P.Yu., 2012. - 248s./

Хирургические инфекции / Под ред. Н.А.Ерьюхина, Б.Р.Гельфанда, С.А.Шляпникова. – СПб.: Питер, 2003. – 864с. /Khirurgicheskiye infektsii / Pod red. N.A.Yeryukhina, B.R.Gel'fanda, S.A.Shlyapnikova. – SPb.: Piter, 2003. – 864s./

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

Представлено: Л.В.Авдеева / Presented by: L.V.Avdeeva

Рецензент: Є.Е.Перський / Reviewer: Ye.E.Persky

Подано до редакції / Received: 13.09.2017