

Krzysztof Golec, Łukasz Golec, Jolanta Gruszecka

Ocena flory bakteryjnej izolowanej od chorych hospitalizowanych w Szpitalu Wojewódzkim nr 2 w Rzeszowie w latach 2004–2006

Z Zakładu Mikrobiologii Szpitala Wojewódzkiego nr 2 w Rzeszowie
Z Instytutu Fizjoterapii Uniwersytetu Rzeszowskiego

W pracy przeprowadzono retrospektywną ocenę flory bakteryjnej jednego z największych w regionie południowo-wschodniej Polski szpitali – Szpitala Wojewódzkiego nr 2 w Rzeszowie. Ocenie poddano bakteryjne czynniki etiologiczne zakażeń, należące do tzw. drobnoustrojów „alarmowych” ze względu na wytwarzanie mechanizmów oporności na antybiotyki i z tego powodu objęte obowiązkiem rejestracji. Analizie poddano drobnoustroje izolowane od chorych hospitalizowanych w szpitalu w latach 2004–2006. Stwierdzono, że zmniejszała się ilość bakterii wytwarzających mechanizmy oporności na antybiotyki wśród większości drobnoustrojów objętych obowiązkiem rejestracji.

Słowa kluczowe: zakażenia, drobnoustroje, mechanizmy oporności

Analysis of bacteriological flora isolated from patients hospitalised in District Hospital No 2 in years 2004–2006

In the study a retrospective analysis of bacteriological flora of one of the biggest hospitals in the South-Eastern part of Poland, namely District Hospital no 2 in Rzeszów, was carried out. Etiological factors of bacteriological infections, which belong to “alert pathogens” were analysed. Their name stems from their antibiotic resistance mechanism. Due to that fact their registration is obligatory. The examined microorganisms were isolated from the patients who were hospitalised in the period between 1st January 2004 and 31st December 2006. It was stated that the amount of bacteria producing antibiotic resistance mechanism is decreasing among the majority of microorganisms which registration was obligatory.

Key words: infections, microorganisms, resistance mechanisms

WPROWADZENIE

Szpital Wojewódzki nr 2 w Rzeszowie jest jednym z największych szpitali w regionie południowo-wschodniej Polski z ilością ponad 700 łóżek szpitalnych i II stopniem referencyjności. W szpitalu hospitalizowanych jest rocznie ponad 30 000 chorych z całego regionu, od których przeciętnie pobierano około 22 000 materiałów do badań bakteriologicznych.

Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 11 marca 2005 r. (DzU Nr 54, poz. 484) nakłada na Zakłady Opieki Zdrowotnej obowiązek rejestracji

zakażeń wywołanych tzw. drobnoustrojami „alarmowymi”. Za drobnoustroje alarmowe uznaje się te drobnoustroje, które ze względu na czynniki zjadliwości są niebezpieczne dla chorego, ale również bakterie, które posiadają mechanizmy oporności znacznie ograniczające opcje terapeutyczne wywołanych przez nie zakażeń. W załączniku do rozporządzenia wymieniono te drobnoustroje, obejmujące zarówno bakterie jak i wirusy, które już wcześniej były rejestrowane, np. wirusy zapalenia wątroby czy zakażenia bakteriami z rodzaju *Salmonella* czy *Shigella*. Listę drobnoustrojów objętych obowiązkiem rejestracji poszerzono

zwłaszcza o bakterie posiadające mechanizmy oporności, szerzenie których w środowisku szpitalnym powoduje znaczne ograniczenia terapeutyczne i generuje koszty poniesione na leczenie zakażeń nimi wywołanych.

Do bakterii objętych obowiązkiem rejestracji, posiadających mechanizmy oporności na antybiotyki należą [8]:

Staphylococcus aureus – MRSA, VISA lub VRSA,

Streptococcus pneumoniae – oporne na penicylinę i/lub cefalosporyny III generacji

Enterococcus spp. – oporne na glikopeptydy

Pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* wytwarzające β -laktamazy o rozszerzonym spektrum substratowym oraz oporne na karbapenemy

Pseudomonas aeruginosa i *Acinetobacter sp* – oporne na karbapenemy lub dwie inne grupy leków.

– Gronkowiec złocisty (*Staphylococcus aureus*) jest jednym z najczęstszych drobnoustrojów wywołujących zakażenia szpitalne. Bakterie te dysponują licznymi czynnikami zjadliwości oraz wieloma mechanizmami oporności na leki, z których tzw. oporność na metycylinę (MRSA) powoduje, że drobnoustroje te nabywają oporność na wszystkie antybiotyki β -laktamowe. Oporność szczepów MRSA determinowana jest obecnością w chromosomie bakterii genu *mecA*, odpowiedzialnego za syntezę nowego białka PBP (białko wiążące penicylinę), tzw. białka PBP-2a, nieposiadającego powinowactwa do antybiotyków β -laktamowych. Efektem tego jest oporność na wszystkie penicyliny, ich pochodne, połączenia z inhibitorami β -laktamaz, wszystkie generacje cefalosporyn i karbapenemy. Laboratoria mikrobiologiczne oznaczające lekowrażliwość gronkowców złocistych zobowiązane są do wykrycia szczepów MRSA, poprzez określenie wrażliwości na Oksacylinę lub Cefoksytynę, co pozwala wnioskować o możliwości stosowania w zakażeniach o etiologii gronkowcowej antybiotyków β -laktamowych. Antybiotyki muszą jednak być stabilne w stosunku do β -laktamaz gronkowcowych, gdyż blisko 100% gronkowców izolowanych w środowisku szpitalnym posiada zdolność ich wytwarzania.

Szczepy MRSA oprócz oporności na antybiotyki β -laktamowe, są również często oporne na inne grupy leków, takich jak: chinolony, linkozamidy, tetracykliny, makrolidy i aminoglikozydy. W takich sytuacjach opcją terapeutyczną pozostają glikopeptydy. Częste stosowanie tej grupy antybiotyków spowodowało pojawienie się szczepów umiarkowanie opornych na wankomycynę – VISA

(Vancomycin intermediate *Staphylococcus aureus*), a ostatnio w Stanach Zjednoczonych już w pełni opornych, tzw. VRSA (Vancomycin resistant *Staphylococcus aureus*).

– Oporność *Streptococcus pneumoniae* na penicylinę i/lub cefalosporyny III generacji związana jest z mutacjami w tzw. genach „mozaikowych” kodujących białka PBP.

S. pneumoniae wytwarza sześć takich białek, a ilość mutacji w genach odpowiedzialnych za ich wytwarzanie warunkuje poziom oporności na penicyliny lub cefalosporyny lub też na obydwie te grupy antybiotyków.

– Z 17 gatunków rodzaju *Enterococcus* dwa, tj. *E. faecalis* i *E. faecium* są istotne w zakażeniach u ludzi. Bakterie te są mało zjadliwe i wywołują zakażenia w sprzyjających dla nich warunkach, np. u chorych z osłabioną odpornością. Należą więc do typowych bakterii oportunistycznych. Wszystkie gatunki *Enterococcus* są naturalnie oporne na popularne w lecznictwie szpitalnym antybiotyki cefalosporynowe, a ponadto w rodzaju tym występują również gatunki (*E. caseliflavus*, *E. gallinarum*) naturalnie oporne na antybiotyki glikopeptydowe. Oporność na glikopeptydy nabywają również istotne klinicznie gatunki *E. faecalis* i *E. faecium*, co ogranicza kolejną opcję terapeutyczną, a ponadto niesie niebezpieczeństwo przekazania tego mechanizmu oporności innym bardziej zjadliwym rodzajom bakterii.

– Pałeczki fermentujące z rodziny *Enterobacteriaceae* mają zdolność produkowania enzymów (β -laktamaz) rozkładających największą grupę antybiotyków, jakimi są antybiotyki β -laktamowe. Skuteczność terapii zakażeń wywołanych bakteriami z rodziny *Enterobacteriaceae*, zależy przede wszystkim od profilu substratowego tych enzymów. Obecnie już wszystkie pałeczki z rodziny *Enterobacteriaceae* mają zdolność wytwarzania β -laktamaz o rozszerzonym profilu substratowym ESBL (Extended-spectrum beta-lactamases), rozkładających wszystkie antybiotyki β -laktamowe z wyjątkiem cefamycyn (cefoksytyna) i karbapenemów (imipenem, meropenem, ertapenem). Niebezpieczeństwo szerzenia się tego mechanizmu w środowisku szpitalnym jest duże, ze względu na to, że enzymy te kodowane są na ruchomych elementach genetycznych – plazmidach i w związku z tym mogą być łatwo przenoszone pomiędzy bakteriami. Obecność tego mechanizmu oporności powoduje zwiększenie zużycia antybiotyków ostatniego rzutu w tej grupie, jakimi są karbapenemy. Z tego powodu konieczność monitorowania również oporności na karbapenemy w rodzinie *Enterobacteriaceae*.

– Pałeczki niefermentujące z gatunku *Pseudomonas aeruginosa* i rodzaju *Acinetobacter* są bakteriami o minimalnych wymaganiach odżywczych, dlatego z łatwością kolonizują środowisko szpitalne. Są to bakterie wywołujące zakażenia oportunistyczne najczęściej u chorych w oddziałach Intensywnej Terapii. Charakteryzują się wysoką naturalną, jak i nabytą opornością na wiele antybiotyków. Z tego powodu istnieje konieczność monitorowania ich wrażliwości na karbapenemy jak również inne grupy antybiotyków.

CEL PRACY

Celem niniejszej pracy była ocena występowania u chorych hospitalizowanych w Szpitalu Wojewódzkim Nr 2 w Rzeszowie, drobnoustrojów ujętych w Rozporządzeniu Ministra Zdrowia, jako „alarmowe” ze względu na wytwarzanie mechanizmów oporności na antybiotyki.

MATERIAŁ I METODY

Analizę przeprowadzono przy użyciu modułu statystycznego programu komputerowego Mikro-BioNet (bioMerieux). Przy ocenie uwzględniano izolaty bakteryjne materiałów biologicznych nadesłanych do Zakładu Mikrobiologii wyłącznie od chorych hospitalizowanych w Szpitalu Wojewódzkim nr 2 w Rzeszowie w latach 2004–2006. Z analizy wyłączono badania środowiska szpitalnego.

WYNIKI I OMÓWIENIE

W kolejnych latach ilość izolacji *S. aureus* od chorych hospitalizowanych w Szpitalu Wojewódzkim nr 2 w Rzeszowie systematycznie wzrastała, jednak ilość szczepów MRSA najwyższa była w 2005 r. – 25,5% i obniżyła się do 20% w 2006 r. Taki odsetek MRSA to górna ilość, jaka przeciętnie izolowana jest w polskich szpitalach [2]. Podobne jak w Polsce ilości zakażeń MRSA występują w Niemczech, Hiszpanii i Australii, natomiast, znacznie przekraczała średnią dla Polski, podaną w raporcie OPTY-ESAC, gdzie wyniosła w 2005 roku 14% [4] Tab.1.

W ocenianym okresie nie izolowano szczepów *S. aureus* VRSA, jak również VISA. Świadczy to o racjonalnym stosowaniu tego antybiotyku, co być może spowodowane jest również zabiegowym profilem szpitala i krótkim stosunkowo pobytem chorych w oddziałach.

Ze względu na specyficzny mechanizm oporności *Streptococcus pneumoniae*, laboratoria mikrobiologiczne zobowiązane są do oznaczania MIC (Minimal Inhibitory Concentration) dla penicyliny i jednej z cefalosporyn III generacji (cefotaksym lub ceftriakson). W przypadku, gdy szczep w badaniu przeglądowym z oksacyliną o stężeniu 1 µg jest oporny, oznaczenie MIC daje dopiero odpowiedź, na jakim poziomie i na który z antybiotyków występuje oporność. Różna jest również interpretacja MIC dla izolatów z płynu mózgowo-rdzeniowego, gdzie szczepy muszą mieć niższy MIC, a wyższy, dla izolatów pochodzących z innych materiałów [5].

Jak wynika z tabeli 2 ilość *S. pneumoniae* izolowanych z wszystkich materiałów wzrastała w kolejnych latach, ale rosła również ilość szczepów wrażliwych na oksacylinę, co oznacza wrażliwość na penicylinę, aminopenicyliny, cefalosporyny i karbapenemy. Być może spowodowane było to profilem nadsyłanych materiałów, a w szczególności obniżeniem ilości wymazów z górnych dróg oddechowych w kolejnych latach, a tym samym izolacji szczepów od nosicieli. Przypuszczenie to wydaje się potwierdzać fakt, że po uwzględnieniu tylko izolatów z krwi i płynu mózgowo-rdzeniowego, podwyższoną oporność na penicylinę stwierdzono tylko w 2004 r., u 4 szczepów na 21 izolatów, przy zachowanej wrażliwości na cefalosporyny. MIC dla cefotaksymu poniżej 0,5 mg/l umożliwiał interpretację jako wrażliwy nawet dla szczepów izolowanych z płynu mózgowo-rdzeniowego. W pozostałych latach z tych istotnych klinicznie materiałów izolowano wyłącznie szczepy wrażliwe zarówno na penicylinę, jak i cefalosporyny III generacji.

TABELA 1. Występowanie MRSA w kolejnych latach

Lata	2004	2005	2006
Liczba wszystkich szczepów <i>S. aureus</i>	762	784	793
Liczba szczepów MRSA	170	201	159
Odsetek szczepów MRSA	22%	25,60%	20,00%

TABELA 2. Oporność *S. pneumoniae* na oksacylinę

Lata	2004	2005	2006
Ilość izolatów <i>S. pneumoniae</i>	71	94	105
Ilość izolatów <i>S. pneumoniae</i> wrażliwych na oksacylinę	41	63	91

TABELA 3. Częstość izolacji *Enterococcus* spp.

Lata	2004	2005	2006
<i>Enterococcus faecalis</i>	156	128	180
<i>Enterococcus faecium</i>	25	17	45

TABELA 4. Izolaty *E. coli* w kolejnych latach

Lata	2004	2005	2006
Izolaty <i>E. coli</i>	1089	1119	1069
<i>E. coli</i> ESBL (+)	33	29	35
Odsetek <i>E. coli</i> ESBL (+)	3,00%	2,60%	3,30%

TABELA 5. Izolaty *K. pneumoniae* w kolejnych latach

Lata	2004	2005	2006
Izolaty <i>K. pneumoniae</i>	108	167	189
<i>K. pneumoniae</i> ESBL (+)	21	23	50
Odsetek <i>K. pneumoniae</i> ESBL (+)	19%	14%	26%

TABELA 6. Częstość izolacji pałeczek niefermentujących

Lata	2004	2005	2006
Izolaty <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	380	393	595
Izolaty <i>Acinetobacter</i> spp.	278	454	386

Częstość izolacji istotnych klinicznie gatunków z rodzaju *Enterococcus* przedstawia Tab. 3.

Najwięcej izolacji z rodzaju *Enterococcus* było w 2006 r. W tym roku również najwyższy był odsetek izolacji gatunku *E. faecium*, który ponad dwukrotnie przekraczał częstość izolacji uzyskiwaną w Polsce [2] (90% – *E. faecalis* i 10% – *E. faecium*). Wyższy odsetek izolacji *E. faecium* tłumaczyć można uwzględnieniem w analizie jedynie izolatów z materiałów uzyskanych od chorych hospitalizowanych, co potwierdza częstsze, w zakażeniach szpitalnych, izolowanie tego gatunku w warunkach polskich [2]. Poza jednym przypadkiem w 2004 r., izolowanego w OIOM z krwi

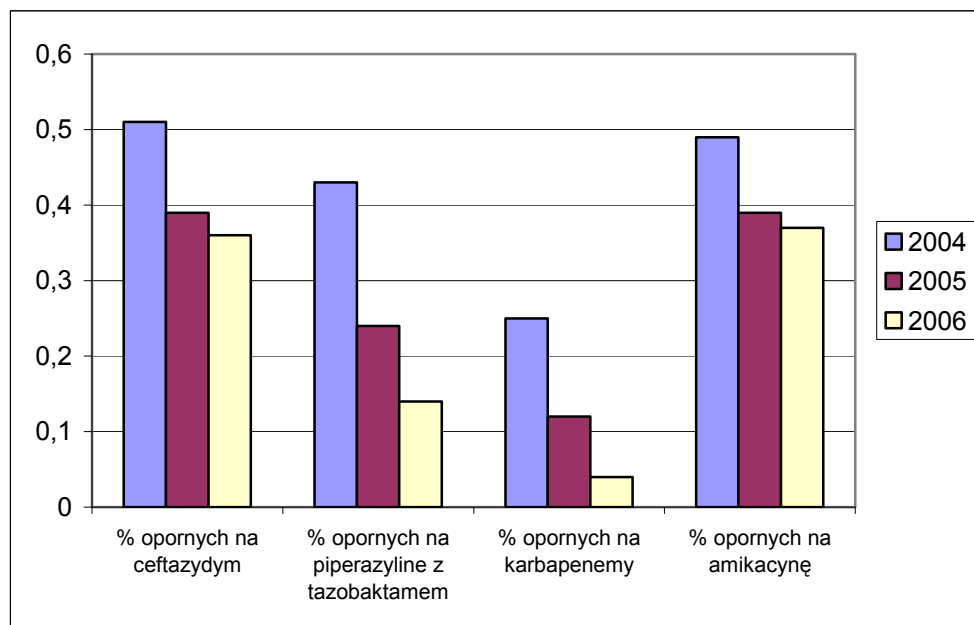
E. faecium nie było w analizowanym okresie *Enterococcus* spp. opornych na wankomycynę.

Z bardzo licznej rodziny *Enterobacteriaceae* w analizowanym okresie, najczęściej izolowane były dwa gatunki: *Escherichia coli* i *Klebsiella pneumoniae*. Z tego powodu, jak również dlatego, że dla tych gatunków opracowane są przez CLSI (Clinical and Laboratory Standard Institute) standardy kontroli i wykrywania ESBL, w niniejszym opracowaniu poddano analizie tylko te dwa gatunki [7]. W analizowanym okresie ilość izolacji *E. coli* oraz szczepów tego gatunku produkujących enzymy o rozszerzonym spektrum substratowym (ESBL) w kolejnych latach była na zbliżonym poziomie, tj. przy ponad 1000 izolatach, oko-

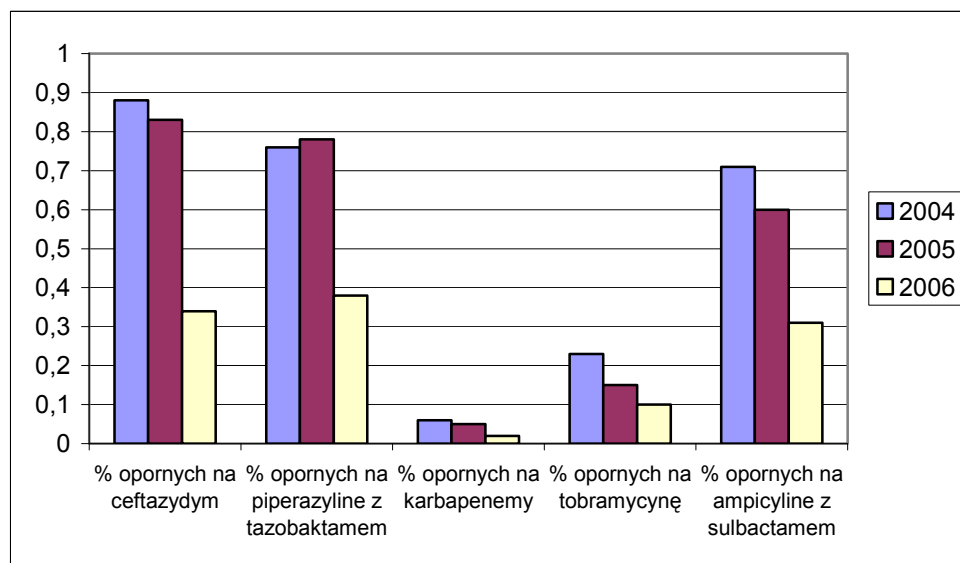
ło 3% *E. coli* posiadało zdolność do produkcji ESBL. Tab. 4. Znacznie mniej stabilna była ilość izolacji *K. pneumoniae*, w tym ESBL dodatnich.

Jak wynika z tabeli 5 ilość izolacji gatunku *K. pneumoniae* systematycznie wzrastała w kolejnych latach, natomiast niepokojący, blisko dwukrotny wzrost izolacji *K. pneumoniae* ESBL dodatnich nastąpił w 2006 r., w porównaniu z rokiem wcześniejszym. Znacznie wyższy odsetek ESBL dodatnich szczepów *Klebsiella pneumoniae* w stosunku do *E. coli* jest podobny jak w innych krajach [1, 3] i szpitalach polskich [4]. Ilość szczepów *E. coli* ESBL dodatnich na poziomie 3%, w stosunku do danych literaturowych była na stosunkowo niskim poziomie. Najwyższa ilość *K. pneumoniae* ESBL dodatnich, izolowana w 2006 r., również nie przekracza ilości, jakie są odnotowywane w innych krajach, jak również w Polsce [1, 4, 6]. Osiągnięcie krytycznej ilości, 60% szczepów ESBL dodatnich [2], przy której należy wycofać stosowanie cefalosporyn II i III generacji wydaje się jeszcze odległe, jednak uwzględniając łatwość, z jaką zwłaszcza szczepy z rodzaju *Klebsiella* spp. nabywają ten mechanizm oporności, należy obserwować ilość tych szczepów w kolejnych latach.

– Pałeczki niefermentujące *Acinetobacter* spp. i *Pseudomonas aeruginosa* izolowane były przede wszystkim z materiałów nadesłanych z oddziałów Intensywnej Terapii.



RYC. 1. Odsetek opornych szczepów *P. aeruginosa*



RYC. 2. Odsetek opornych szczepów *Acinetobacter* spp.

natomiast ilość szczepów opornych na wszystkie analizowane leki wyraźnie się obniżała. Ryc. 1.

Podobne trendy można zaobserwować również w rodzaju *Acinetobacter*. Wyjątek stanowił rok 2005, w którym izolowano najwięcej szczepów tego rodzaju jak również najwyższy odsetek szczepów opornych na piperacylinę z tazobaktamem Tab. 6, Ryc. 2. Pomimo nawet bardzo pozytywnego trendu obniżania się oporności pałeczek niefermentujących, nadal odsetek szczepów opornych był wysoki dla większości analizowanych antybiotyków. Z wyjątkiem karbapenemów, w 2005 r. był około dwukrotnie wyższy jak w analo-

gicznym okresie podanym w raporcie OPTY jako średnia dla 60 szpitali w Polsce [4]. Wyższy odsetek szczepów opornych w stosunku do średniej z raportu OPTY mógł wynikać zarówno z częstego empirycznego stosowania w szpitalu ceftazydymu i amikacyny, jak również z tego, że w raporcie OPTY uwzględnione były szpitale I stopnia referencyjności, w których ze względu na profil pacjentów zazwyczaj wrażliwość na te antybiotyki jest wyższa.

WNIOSKI

1. W latach 2004–2006 systematycznie wzrastała ilość bakterii izolowanych od chorych hospitalizowanych w Szpitalu Wojewódzkim nr 2 w Rzeszowie.
2. W analizowanym okresie spadała częstość izolacji drobnoustrojów uznanych za „alarmowe” ze względu na wytwarzanie mechanizmów oporności na antybiotyki.

PIŚMIENNICTWO

1. Deshpande LM., Jones RN., Sader HS., Fritsche TR.: *“Prevalence of confirmed ESBL-production among European Enterobacteriaceae: a ten-year report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program”*, (ECCMID 2007 P564).
2. Dzierżanowska D.: *Patogeny bakteryjne zakażeń szpitalnych* [w:] *Patogeny zakażeń szpitalnych*, α-medica Press 2007, s. 9.
3. Gallardo M.M., Garcia M.V., Rodriguez R., Roperio F., Granados E., Gutierrez A., Pinedo A.: *Epidemiology of infections caused by extended-spectrum β-lactamases producing Escherichia coli for a three-year period*, (ECCMID 2007 P559).
4. Hryniewicz W., Grzesiowski P., i wsp.: *Szczegółowe omówienie wybranych wyników monitorowania w szpitalach cz. 4. „Występowanie drobnoustrojów alarmowych”*, Moduł OPTY-ESAC s. 11. [w:] *Sprawozdanie z realizacji programu w 2005 r.: „Ogólnopolska sieć monitorowania lekooporności i konsumpcji antybiotyków oraz*

optymalizacji diagnostyki, profilaktyki i terapii zakażeń szpitalnych i bakteryjnych zakażeń ośrodkowego układu nerwowego, OPTY – NEURON – ESAC” 2006.

5. Hryniewicz W., Sulikowska A., Szczypa K., Skoczyńska A., Łuczak-Kadłubowska A., Gniadkowski M.: *Rekomendacje doboru testów do oznaczania wrażliwości bakterii na antybiotyki chemioterapeutyki*, 2006.
6. Mouton J., Voss A., Arends J., Bernards S., on behalf of the ONE Study group. *Prevalence of ESBL in the Netherlands: the ONE study” Session: Epidemiology of extended-spectrum β-lactamase/metallo-β-lactamase*, (ECCMID 2007 O435).
7. *Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Seventeenth Informational Supplement*, 2007 CLSI M 100-S17, Vol. 27, No.1.
8. Załącznik Nr 1 do Rozporządzenia Ministra Zdrowia z dnia 11 marca 2005 r. (DzU Nr 54, poz. 484)

Krzysztof Golec
Zakład Mikrobiologii Szpitala Wojewódzkiego Nr 2 w Rzeszowie
ul. Lwowska 60
35-301 Rzeszów
golec@poczta.onet.pl

Praca wpłynęła do Redakcji: 10 września 2007
Zaakceptowano do druku: 14 września 2007