

Dorota Wojciechowska¹, Grażyna Janicka^{1,2}, Katarzyna Hareńska¹

STAN OPORNOŚCI NA GENTAMYCYNĘ SZCZEPÓW Z RODZAJU ENTEROCOCCUS WYOSOBNIONYCH Z MATERIAŁU KLINICZNEGO

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej

1. Samodzielnego Publicznego Zakładu Opieki Zdrowotnej w Żninie
2. Katedra i Zakład Mikrobiologii Akademii Medycznej w Bydgoszczy

*Wobec gwałtownie narastającej liczby zakażeń bakteriami z rodzaju *Enterococcus* i problemów terapeutycznych z tym związanych, postanowiono określić częstość występowania wysokiej oporności na gentamycynę u drobnoustrojów tego rodzaju, spotykanych w różnym materiale klinicznym.*

WSTĘP

Bakterie z rodzaju *Enterococcus* stanowią w chwili obecnej poważny problem terapeutyczny spowodowany gwałtownie rosnącą liczbą zakażeń tymi drobnoustrojami i ich wieloopornością (17). Cechą charakterystyczną enterokoków jest ich naturalna oporność na syntetyczne penicyliny izoksazolilowe, makrolidy, linkosamidy, cefalosporyny czy niskie stężenia aminoglikozydów (6, 8, 17).

Obecnie znane są dwa typy oporności enterokoków na aminoglikozydy: średni poziom oporności, obecny u większości naturalnie występujących szczepów, spowodowany zmianą w przepuszczalności ściany komórkowej, oraz wysoki poziom nabytej oporności, spowodowany produkcją enzymów inaktywujących aminoglikozyd (3). Typ wysokiej oporności kodowany plazmidowo polega na produkcji przez komórkę bakteryjną dwufunkcyjnego enzymu o aktywności acetylotransferazy i fosforylotransferazy AAC(6')/APH(2''). Enzym ten modyfikuje aminoglikozyd tak, że traci on powinowactwo do miejsc receptorowych na rybosomach, oraz działa jako inhibitor procesu transportu niezmienionych cząsteczek antybiotyku do komórki (1, 3, 6, 11, 12, 17). Wobec powyższego wykazanie *in vitro* oporności na niskie lub wysokie stężenia aminoglikozydów ma kluczowe znaczenie w terapii zakażeń enterokokami.

Celem niniejszej pracy było zbadanie wrażliwości szczepów z rodzaju *Enterococcus* spotykanych w materiale klinicznym na niskie i wysokie stężenia gentamycyny oraz określenie częstości występowania wysokiej oporności na gentamycynę.

MATERIAŁ I METODY

Zbadano 184 szczepy z rodzaju *Enterococcus* pochodzące z takiego materiału jak: moczu (95 szczepów), wymazu z cewki moczowej, napletka, pochwy i kanału szyjki (33 szczepy), wydzieliny ropnej, wymazu z rany i drenu (50 szczepów) oraz płwocina (2) i rurka intubacyjna (4 szczepy). 121 szczepów pochodziło z materiału od pacjentów hospitalizowanych a 63 szczepy z materiału dostarczonego przez pacjentów ambulatoryjnych.

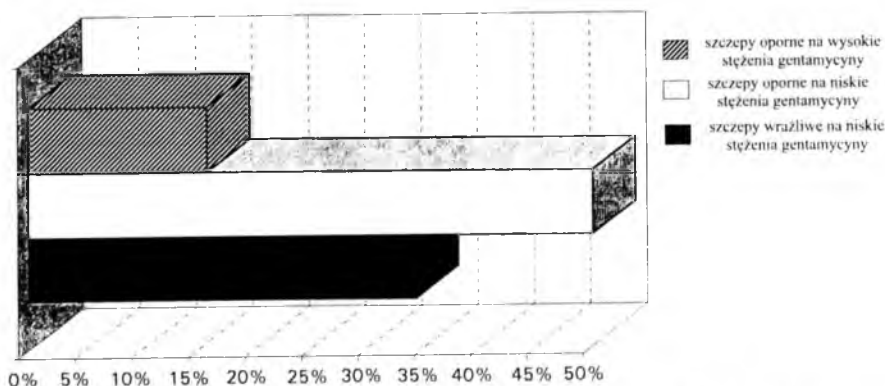
Materiał ten posiewano zgodnie z rekomendowanymi zasadami i inkubowano 24 h w temp. 37° w warunkach tlenowych (9).

Paciorkowce z rodzaju *Enterococcus* identyfikowano na podstawie morfologii kolonii, ujemnego testu katalazowego i hydrolizy eskuliny na podłożu D-Coccosel Agar (bioMérieux). Identyfikację gatunkową przeprowadzono przy użyciu testu api 20 Strip (bioMérieux).

Lekowrażliwość badano metodą dyfuzyjno-krążkową na podłożu Mueller-Hinton-2 Agar (bioMérieux) inkubując 24 h w temp. 37° w warunkach przy użyciu krążków bibułowych f-my Becton Dickinson zawierających 10 μ gentamycyny. Interpretację wrażliwości przeprowadzono wg kryteriów NCCLS (13). Wysoką oporność na gentamycynę oznaczano przy użyciu krążka z gentamycyną o nasączeniu 120 μ g (Becton-Dickinson). Brak zahamowania wzrostu wokół krążka interpretowano jako wysoką oporność na gentamycynę. Szczepy dające wyniki niejednoznaczne (strefa zahamowania wzrostu ≤ 9 mm) badano metodą przeglądową na podłożu MHA-2 zawierającym gentamycynę (Polfa Tarchomin) w stężeniu 500 mg/l wg zaleceń Krajowego Ośrodka Referencyjnego ds. Lekowrażliwości Drobnoustrojów (9).

WYNIKI

Wyniki przedstawiono w tabelach I i II oraz na rycinie 1. Spośród 184 badanych szczepów enterokoków, 178 należało do gatunku *Enterococcus faecalis* (96,7%) a 6 do gatunku *Enterococcus faecium* (3,3%).



Ryc. 1. Wrażliwość szczepów *Enterococcus spp.* na niskie i wysokie stężenia gentamycyny

Tabela I. Wrażliwość na gentamycynę szczepów z rodzaju *Enterococcus* wyizolowanych z materiału od pacjentów hospitalizowanych

Badany materiał	Liczba i odsetek szczepów ogółem	Liczba i odsetek szczepów wrażliwych na niskie stężenie gentamycyny	Liczba i odsetek szczepów opornych na niskie stężenie gentamycyny	Liczba i odsetek szczepów opornych na wysokie stężenie gentamycyny
Mocz	49 (100%)	15 (30,6%)	24 (49%)	10 (20,4%)
Wymaz z: cewki moczowej napletka pochwy kanału szyjki macicy	22 (100%)	7 (31,8%)	13 (59%)	2 (9,2%)
Wydzieliny ropne, wymazy z ran, drenów	44 (100%)	8 (18,2%)	24 (54,5%)	12 (27,3%)
Plwocina	2 (100%)	–	2 (100%)	–
Rurka intubacyjna	4 (100%)	3 (75%)	1 (25%)	–

Tabela II. Wrażliwość na gentamycynę szczepów z rodzaju *Enterococcus* wyizolowanych z materiału od pacjentów ambulatoryjnych

Badany materiał	Liczba i odsetek szczepów ogółem	Liczba i odsetek szczepów wrażliwych na niskie stężenie gentamycyny	Liczba i odsetek szczepów opornych na niskie stężenie gentamycyny	Liczba i odsetek szczepów opornych na wysokie stężenie gentamycyny
Mocz	46 (100%)	20 (43,5%)	22 (47,8%)	4 (8,7%)
Wymaz z: cewki moczowej napletka pochwy kanału szyjki macicy	11 (100%)	2 (18,2%)	9 (81,8%)	–
Wydzieliny ropne, wymazy z ran, drenów	6 (100%)	3 (50%)	2 (33,3%)	1 (16,7%)

Oporność na wysokie stężenie gentamycyny wykryto u 29 szczepów (15,76%). Wrażliwość na niskie stężenie gentamycyny wykazały 63 szczepy (34,24%). Ze 121 szczepów pochodzących z materiału szpitalnego, 24 wykazały oporność na wysokie stężenie gentamycyny (19,83%), natomiast spośród 63 szczepów wyhodowanych z materiału pobranego od pacjentów ambulatoryjnych tylko 5 charakteryzowało się wysoką opornością na gentamycynę (7,94%).

Spośród 178 szczepów *E. faecalis* 23 wykazały wysoką oporność na gentamycynę (12,92%) a wśród 6 szczepów *E. Faecium* jeden wykazał oporność na wysokie stężenie gentamycyny (16,66%).

Największy odsetek wysokiej oporności na gentamycynę wykazały szczepy enterokoków wyhodowane z materiału ropnego (ropa, wymaz z rany i drenu) pochodzącego od pacjentów hospitalizowanych (27,3%).

DYSKUSJA

W krajowych publikacjach częstość występowania w klinicznym materiale enterokoków wysoce opornych na wszystkie aminoglikozydy określana jest na 20-40% (2, 4, 7).

W badaniach przeprowadzonych w szpitalach rumuńskich w latach 90-tych około 22% badanych szczepów wykazało oporność na wysokie stężenie gentamycyny (15). W USA w zależności od rodzaju badanego materiału i specyfiki oddziały odsetek ten wynosił od 15,4% i sięgał nawet 65% (10, 12, 16).

Uzyskane w naszej pracy wyniki wykazują jeden z niższych odsetków oporności enterokoków na wysokie stężenia gentamycyny w porównaniu z przytaczanymi danymi, co może wynikać ze specyfiki mikroregionu. Uzyskany przez nas wynik może być też spowodowany niewielkim udziałem gatunku *E. faecium* (tylko 6 szczepów), a jak wynika z piśmiennictwa gatunek ten jest znacznie bardziej oporny od gatunku *E. faecalis* (16, 17). Autorzy wskazują również na zróżnicowane występowanie wysokiej oporności na aminoglikozydy pomiędzy szczepami izolowanymi z materiału szpitalnego a pochodzącymi z materiału pobranego od pacjentów ambulatoryjnych (4, 12), co znajduje potwierdzenie w naszych badaniach.

Najwyższy odsetek oporności na wysokie stężenie gentamycyny jaki wykazano w naszej pracy w materiale ropnym (wydzielina, wymaz z rany i drenu) jest zbliżony do wyników uzyskanych w Państwowym Szpitalu Klinicznym w Bydgoszczy, gdzie wyniósł około 30% (7).

WNIOSKI

1. Spośród zakażeń enterokokowych najczęstszą przyczyną infekcji jest *Enterococcus faecalis*.

2. Największe prawdopodobieństwo wystąpienia wysokiej oporności na gentamycynę występuje wśród szczepów pochodzących od pacjentów hospitalizowanych.

D. Wojciechowska, G. Janicka, K. Hareńska

GENTAMICIN RESISTANCE OF ENTEROCOCCUS GENUS STRAINS ISOLATED FROM CLINICAL MATERIAL

SUMMARY

The occurrence of High Level Gentamicin Resistance (HLGR) was tested among the strains of *Enterococcus* genus isolated from material sent to microbiological laboratory. The investigation included 184 strains of enterococci, and among them 178 strains of *Enterococcus faecalis* (96,7%) and 6 strains of *Enterococcus faecium* (3,3%). HLGR was detected with disks-diffusion method with disks containing 120 µg of gentamicin. The screen method with MHA-2 containing 500 mg/l of gentamicin in doubtful results was used.

The resistance to high concentration of gentamicin was detected in 29 strains of enterococci (15,76%).

The highest percentage of HLGR was proved among strains of enterococci isolated from pyogenic material of hospitalised patients (27,3%).

PIŚMIENICTWO

1. Chow J W, Zerwas M J, Lerner SA i in. A novel Gentamicin Resistance Gene in *Enterococcus*. *Antimicrob Agents Chemother* 1997, 41 (3): 511–514.
2. Dzierżanowska D. *Antybiotykoterapia praktyczna*. α -medicapress, Wyd I, Bielsko-Biała 1994.
3. Ferrera A, Dos Santos C, Cimbro M. High-Level Gentamicin-Resistant *Enterococci*: *In vitro* Activity of Triple Combinations of Antimicrobial Drugs. *Chemoth* 1996, 42: 37–46.
4. Gospodarek E, Kania I, Białek M. Antibiotic sensivity of *Enterococcus* species strains cultured from hospital and medical centre patients. *Med Sci Monit* 1997, 3 (6): 801–806.
5. Health C H, Blackmore T K, Gordon D L. Emerging resistance in *Enterococcus* ssp. *MJA* 1996, 164: 116–120.
6. Jacoby G A. Antimicrobial-Resistant Pathogens in 1990s. *Annu Rev Med* 1996, 47: 169–179.
7. Kania I, Białek M, Gospodarek E. Role of streptococci of *Enterococcus* genus in pyogenic infections. *Mon Sci Monit* 1997, 3 (4): 479–484.
8. Kawalec M, Zaręba T. Potogeneza zakażeń enterokokowych. *Nowa Med* 1997, 4: 26–30.
9. Krajowy Ośrodek Referencyjny d/s Lekowrażliwości: Oznaczanie wrażliwości bakterii na chemioterapeutyki – zasady doboru antybiotyków w rutynowej diagnostyce zakażeń bakteryjnych. *Mikrob Med* 1997, 2(11): 26–29.
10. Landman D, Quale J M. Management of infections due to resistant enterococci: a review of therapeutic options. *J Antimicrob Chemother* 1997, 40: 161–170.
11. McKay G A, Roestamadji J, Mobashery S i in. Recognition of Aminoglycoside Antibiotics by *Enterococcal-Staphylococcal* Aminoglycoside 3'-Phosphotransferase Type IIIa: Role of Substrate Amino Groups. *Antimicrob Agents Chemother* 1996, 40 (11): 48–50.
12. Mouthon L, Mainardi J L, Gutmann L. Treatment of infections caused by highly resistant enterococci. *Int J Antimicrob Agents* 1997, 8: 233–238.
13. National Committee for Clinical Laboratory Standlarts. Performance standards for antimicrobial disk susceptibility tests. Approved standard M2-A5: 1993, 13 no 24.
14. Sahn D F, Boonlayangoor S, Iwen P C i in. Factor Influencing Determination of High-Level Aminoglycoside Resistance in *Enterococcus faecalis*. *J. Clin Microbiol* 1991, 9: 1934–1939.
15. Straut M, Cespedes G, Delbos F i in. Molecular typing of *Enterococcus faecalis* strains resistant to high levels of gentamicin and isolated in Romania. *J Antimicrob Chemother* 1997, 39: 483–491.
16. Ruoff K L, De La Maza L, Murtagh M i in. Species Identities of *Enterococci* Isolated from Clinical Specimens. *J Clin Microbiol* 1990, 28(3): 435–437.
17. Zaręba T, Hryniewicz W. Kliniczne znaczenie zakażeń *Enterococcus* sp. *Nowa med* 1997, 4: 30–33.

Adres autora:

Dorota Wojciechowska

Zakład Diagnostyki Mikrobiologicznej

ul. Szpitalna 30, 88-400 Żnin

tel. (0-52) 3031 341 wew. 148, fax (0-52) 3031 344