

ЕТИОЛОГИЧЕН СПЕКТЪР И ЧУВСТВИТЕЛНОСТ КЪМ АНТИБИОТИЦИ НА ВОДЕЩИТЕ БАКТЕРИАЛНИ ПРИЧИНИТЕЛИ НА ОСТЪР ХОЛАНГИТ

Милена Божкова¹, Теменуга Стоева¹, Васил Божков²,
Цветелина Попова-Костадинова³, Росен Маджов²

¹Катедра по микробиология и вирусология, МУ-Варна

²Катедра по хирургически болести, МУ-Варна

³Медицински колеж - Варна

ETIOLOGICAL SPECTRUM AND SUSCEPTIBILITY TO ANTIBIOTICS OF THE LEADING BACTERIAL CAUSATIVE AGENTS OF ACUTE CHOLANGITIS

Milena Bozhkova¹, Temenuga Stoeva¹, Vasil Bozhkov², Tsevetelina Popova-
Kostadinova³, Rossen Madjov²

¹Department of Microbiology and Virusology, Faculty of Medicine,
Medical University of Varna

²Department of Surgery, Faculty of Medicine, Medical University of Varna

³Medical College, Medical University of Varna

РЕЗЮМЕ

Комплексният подход към диагностиката и лечението на заболяването остър холангит изисква познаване на спектъра на бактериалните причинители и тяхната чувствителност към антибактериални лекарствени средства. Настоящото проучване представя данни за бактериалните патогени, изолирани от жлъчка на пациенти с остър холангит (ОХ) и тяхната антибиотична чувствителност. Водещи причинители на заболяването са грам-отрицателни бактерии - основно *E. coli*, изолирани в 26.8% от всички изследвани материали. Сред грам-положителните патогени най-висок е относителният дял на ентерококите (*E. faecalis* и *E. faecium*). Най-висока е резистентността на изпитаните бактерии към аминопеницилини – 63.5%. Най-висока *in vitro* активност демонстрират imipenem, piperacillin / tazobactam, ciprofloxacin и gentamicin с нива на резистентност съответно 2.8%, 14.8%, 14.6% и 15.7%.

Ключови думи: остър холангит, етиология, антибиотична резистентност

ABSTRACT

The complex approach to the diagnosis and treatment of acute cholangitis requires knowledge about the spectrum of involved bacteria and their susceptibility to antibacterial drugs. The study provides information about bacterial pathogens, isolated from bile specimens of patients with acute cholangitis and their *in vitro* antibiotic susceptibility. The major causative agents of the disease are Gram-negative bacteria - mainly *E. coli*, presented in 26.8% of all tested samples. Among Gram-positive bacteria, the proportion of enterococci (*E. faecalis* and *E. faecium*) is the highest. The highest levels of resistance were detected for aminopenicillins - 63.5%. Imipenem, piperacillin/tazobactam, ciprofloxacin and gentamicin demonstrated the highest *in vitro* activity with resistance levels of 2.8%, 14.8%, 14.6% and 15.7%, respectively.

Keywords: acute cholangitis, etiology, antibiotic resistance

УВОД

Острият холангит (ОХ) е остър възпалителен процес, ангажиращ жлъчните пътища, и в почти всички случаи е резултат от асцендираща бактериална инфекция с ендегенен характер. Сред водещите причинители на заболяването са бактерии и в много по-редки случаи то се свързва с паразити и/или fungi. Наред с хирургичните методи основно място в комплексния подход към лечение на заболяването заема ранният старт на етиотропна антибактериална терапия. Познаването на етиологичния спектър на бактериалните причинители на ОХ и тяхната *in vitro* антибиотична чувствителност е от съществено значение за правилния избор на подходящ противомикробен препарат.

ЦЕЛ

Да се проучи етиологичният спектър на бактериалните причинители на ОХ и тяхната *in vitro* антибиотична чувствителност, както и да се дадат препоръки за правилен избор на антибактериална терапия в тази група пациенти.

МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ

През периода 2001-2011 г. в Лабораторията по микробиология на УМБАЛ „Света Марина“ - Варна бяха изследвани общо 297 материала жлъчка от пациенти с клинична диагноза ОХ. Сто и дванадесет от материалите останаха стерилни, а в останалите 185 се доказа бактериобилия. Идентификацията на бактериалните изолати се осъществи чрез конвенционални методи и полуавтоматизирана система Crystal (BD). Чувствителността към антибактериални средства се определи по дисково-дифузионния метод и чрез автоматизираната система Phoenix (BD).

РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

В хода на настоящото проучване установихме общо 231 изолата, принадлежащи към 33 различни бактериални вида. Отчетливият превес на грам-отрицателните бактерии, предимно от семейство *Enterobacteriaceae*, които съставляват над половината от всички изолати (55.41%), е обичайна и очаквана находка при пациенти със заболявания на билио-дигестивния тракт и напълно съпоставима с резултатите от други проучвания върху етиологичния спектър при този тип инфекции.

Като водещ микробен причинител сред проучваната група пациенти установихме *E. coli*.

Този бактериален вид е отговорен за 26.8% от всички инфекции. За подобен висок относителен дял на *E. coli* асоциираните инфекции съобщават и много други проучвания в чужбина и у нас (1,5,11). Фактът, че *E. coli* е основен представител на резидентната микрофлора в гастроинтестиналния тракт (ГИТ) на хората, обяснява високата честота на предизвикваните от него асцендентен тип инфекции в хода на заболявания като ОХ. В този смисъл заболяванията, причинени от този бактериален вид, най-често са с характера на типични ендегенни, причинени в обществото инфекции и много по-рядко се свързват с вътреболнично придобиване.

Общият относителен дял на инфекциите, причинени от останалите представители на семейство *Enterobacteriaceae* (в т.ч. *Klebsiella* spp., *Enterobacter* spp., *Citrobacter* spp. и *Serratia* spp.), също е висок и незначително превишава причинените от *E. coli* (28.5%). Тези видове споделят една и съща екологична ниша (т.е. те са нормални обитатели на ГИТ), но за разлика от *E. coli* се характеризират с по-висока степен на естествена резистентност. Този факт затруднява в известна степен лечението на такива пациенти. Освен това част от тези видове като *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* и *Serratia marcescens* са чести вътреболнични патогени и се свързват най-вече с предходни инвазивни диагностични и/или терапевтични процедури, дълъг хоспитализационен период и др.

Инфектните процеси, причинени от неферментативни грам-отрицателни бактерии като *Pseudomonas aeruginosa*, *Stenotrophomonas maltophilia* и *A. baumannii*, представляват сериозно предизвикателство в медицинската практика навсякъде по света. Те са класически опортюнистични патогени и са едни от най-честите причинители на вътреболнични инфекции от всякакъв характер. Значението на тези видове за възникването на заболявания като ОХ е безспорно, като те са изолирани с варираща честота от жлъчка на пациенти с ОХ. Най-често изолираният микробен вид от тази група е *P. aeruginosa*. Установено е, че този бактериален вид е отговорен за 0.5-7% от острите холангити (11). В хода на нашето проучване установихме *P. aeruginosa* в 4.76% (11 изолата) от изследваните билиарни култури. Сред пациенти, подложени на ендоскопски процедури като ERCP, честотата им е значително по-висока. Кауа и колектив съобщават за честота 17.3% на *P. aeruginosa* след ERCP, което нарежда този бактериален вид на второ място след *E. coli* като при-

чинител на заболявания на билиарната система, включително ОХ (5).

Сред документираните рискови фактори за колонизация с *P. aeruginosa* и асоциирани с него инфекции най-често се коментира антибиотичната употреба, която селектира *P. aeruginosa* заради вродената му устойчивост към голяма част от често прилаганите антибактериални препарати. При всички наши пациенти с холангит, причинен от *P. aeruginosa*, клиничният материал за микробиологично изследване е взет интраоперативно, като във всички случаи е прилаган предоперативно антибактериален препарат.

Сред грам-положителните бактерии най-често изолираните в хода на ОХ са ентерококите, които подобно на *E. coli* и останалите ентеробактерии влизат в състава на нормалната чревна флора. Анализът на получените от нас данни от микробиологичното изследване показва, че ентерококите са отговорни за 14.7% от острите холангити, което ги нарежда на второ място след *E. coli* като причинител на този тип инфекции. Основните патогени от този род са *E. faecalis* и *E. faecium*. Природната (естествена) резистентност на ентерококите към антибактериални средства (вкл. към цефалоспорини, аминогликозиди) е една от основните причини такива инфекции да бъдат проблемни за лечение, особено при емпиричен избор на антибиотична терапия.

Облигатно-анаеробните бактерии са изолирани с вариабилна честота от билиарни култури при пациенти със заболявания на хепато-билиарната система. Насоченото изследване в подходящи условия (наличие на безкислородна атмосфера, специализирани хранителни среди) е важно условие за успешното им *in vitro* култивиране. Някои автори съобщават за много висока честота на облигатно-анаеробни бактерии. Така например Вгооке съобщава за много висок относителен дял – 51%, на тези микроорганизми при изследване на жлъчни култури от пациенти с различни заболявания на билиарната система (но не и с холангит). Отбелязва се фактът, че значително по-често те се изолират като копатоген в асоциация с аероби и/или факултативно-анаеробни видове (48%) и много по-рядко, в едва 3% от случаите, са единствен причинител на инфекцията. Най-честите патогени от групата на грам-положителните спорообразуващи анаеробни бактерии са представителите на род *Clostridium* (най-вече *C. perfringens*), а сред грам-отрицателните, неспорообразуващи анаеробни бактерии – *Bacteroides* spp. (предимно *B. fragilis* group) (2).

В хода на настоящото проучване установихме наличие на облигатно-анаеробни бактерии в едва 4 от всички изследвани билиарни култури, като съответно анаеробните видове съставляват много малка част (1.7%) от всички бактериални изолати. Следва обаче да се отбележи фактът, че култивиране в анаеробни условия бе осъществено при едва 48 материала (12.7% от всички изследвани жлъчни култури), което отнежда на анаеробната флора относителен дял от 8.3%. Тези данни са съпоставими с получените в хода на други подобни проучвания, в които се съобщава за честота 0-12.5% (8,11).

Като цяло спектърът от патогени, изолирани от пациенти с ОХ, включени в настоящото проучване, не се различава в значителна степен от получените до момента данни в хода на други проучвания с аналогична тематика.

Изборът на подходящ антибактериален агент е една от съществените стъпки в хода на цялостния терапевтичен процес при пациентите с холангит. Понастоящем общоприето е схващането, че стартът на терапията трябва да бъде максимално рано, дори да предхожда дефинитивното диагностициране на заболяването. След емпиричния избор на медикамент в началото се преминава към лечение, съобразено с профила на резистентност на специфичния причинител на инфекцията. В този смисъл от съществено значение за ефективността на антибактериалната терапия е своевременното изследване на билиарни култури. Познаването на локалните нива на резистентност сред бактериалните патогени, причинители на холангит, е от есенциално значение за оптимизиране на антибиотичните режими при пациенти с холангит. Резултатите от изпитването на чувствителността към антимикробни лекарствени средства на изолатите от билиарни култури на пациенти с холангит, обхванати от настоящото проучване, са представени на Табл. 1.

Едни от често използваните за лечение на хепато-билиарни инфекции антимикробни препарати са пеницилините с широк спектър на действие: амино-, карбокси- и уреидопеницилини. Комбинирани с бета-лактамазни инхибитори препарати (amoxicillin/clavulanic acid, ampicillin/sulbactam и piperacillin/tazobactam) в допълнение са подходящи за лечение на инфекции, предизвикани от бактерии, произвеждащи бета-лактамази. Има значителни различия по отношение степента на активност на различните групи препарати спрямо бактериалните патогени, асоциирани с развитието на холан-

Таблица 1. Антибиотична резистентност на основните бактериални патогени при пациенти с холангит.

Бактериален вид	ampicillin	amoxicillin/ clavulanic acid	piperacillin	piperacillin/ tazobactam	cephalothin	cefuroxime	ceftazidime	gentamicin	tetracycline	ciprofloxacin	trimethoprim/ sulfamethoxazole	imipenem	vancomycin
<i>E. coli</i> (n=62)	59.2	13.3	7.4	0	20.3	12.9	0	1.8	27.2	14.0	12.5	0	-
<i>Klebsiella</i> spp. (n=28)	100	11.1	46.6	5.5	25.9	25.9	11.3	11.3	22.2	4.0	12.0	0	-
<i>Enterobacter</i> spp. (n=21)	100	100	25.0	16.6	100	26.3	5.5	0	13.3	5.2	12.0	0	-
<i>Serratia</i> spp. (n=7)	100	100	57.1	0	100	100	42.8	28.5	42.8	57.1	57.1	0	-
<i>Citrobacter</i> spp. (n=5)	100	60.0	60.0	40.0	60.0	60.0	40.0	0	0	40.0	40.0	0	-
<i>Proteus</i> spp. (n=5)	40.0	20.0	0	0	20.0	0	0	0	100	0	20.0	0	-
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=11)	100	100	36.3	27.2	100	100	18.1	36.3	100	18.1	100	18.1	-
Резистентност Грам отрицателни	81.5	45.0	27.9	11.8	32.5	31.3	9.9	7.6	39.5	13.9	24.5	2.8	-
<i>Enterococcus</i> spp. (n=34)	23.5	14.7	23.5	14.7	100	100	100	50.0*	29.4	20.5	-	0	0
<i>Streptococcus</i> spp. (n=21)	28.5	19.0	28.5	19.0	47.6	47.6	-	-	23.8	9.5	19.0	0	0
<i>Staphylococcus</i> spp. (n=7)	85.7	28.5	85.7	28.5	28.5	28.5	100	42.8	42.8	14.2	14.2	0	0
Резистентност Грам положителни	32.2	17.7	32.2	17.7	74.2	74.2		41.5	29.0	16.1	17.8	0	0
Общо ниво на резистентност	63.5	30.8	29.7	14.8	46.1	45.2		15.7	34.9	14.6	23.2		
*Висока степен на аминогликозидна резистентност - HLAR – high level aminoglycoside resistance													

гит. Така например нивото на устойчивост към аминопеницилините в самостоятелно приложение е много високо. Едва около 1/3 от всички изолати (грам-положителни и грам-отрицателни) са чувствителни към ampicillin. Относителният дял на резистентните към аминопеницилини изолати сред грам-отрицателните бактерии, които са и най-честите сред изолираните бактериални видове, е 81.5%. Значително по-добра активност демонстрира уреидопеницилиновият препарат piperacillin. Сред основните предимства на piperacillin в сравнение с аминопеницилините е по-широкият му спектър на действие, включващ и проблемни видове като *Pseudomonas aeruginosa*. Анализът на получените резултати от изпитването на чувствителността към piperacillin показва, че самостоятелното му приложение осигурява ефективност на провежданата антибактериална терапия в над 70% от случаите, а комбинацията му с бета-лактамазния инхибитор tazobactam - в 85.2%. За подобен висок относителен дял (85.1%) на чувствителни към piperacillin / tazobactam бактериални патогени, изолирани от билиарни култури на пациенти с ОХ вследствие холедохолитиаза, се съобщава в проучване от 2011 г. (4). Поради високата си активност този препарат е препоръчван от WSES (World Society of Emergency Surgery) за лечение на инфекции на билиарния тракт при пациенти в критично тежко общо състояние.

Цефалоспориновите препарати са широко използвани за лечение на интраабдоминални инфекции. Представителите на различните генерации се различават значително по спектъра си на действие. Някои от представителите на трета и четвърта генерация (ceftazidime, ceferime, cefpirome) се характеризират с антипсевдомонадна активност. От друга страна ентерококите са първично резистентни към всички цефалоспоринови антибиотици и употребата им в тези случаи крие сериозен риск от терапевтичен неуспех. Получените от нас резултати показват високи нива на резистентност спрямо цефалоспоринови от първа и втора генерация (cephalotin и cefuroxime). Около половината от всички изолати демонстрират резистентност към тези антибиотици, което силно ограничава възможностите за използването им практиката. С най-висока ефективност от групата на цефалоспорините са ceftazidime и ceferime. Сред всички грам-отрицателни бактерии нивото на резистентност към тях е много ниско (9.9%) и се дължи най-вече на производството на широкоспектърни бета-лактама-

зи (т.нар. ESBL-продуценти, Extended Spectrum Beta Lactamases).

В групата на бета-лактамните препарати с най-добър ефект върху тестваните изолати е карбапенемният антибиотик imipenem. Сред всички изпитвани грам-отрицателни бактерии само два множествено резистентни изолата *P. aeruginosa* са imipenem резистентни - 2.8% от общия брой. Карбапенемите са считани за средство на избор в терапията на инфекции, причинени от ESBL-продуциращи ентеробактерии. Сред изолатите от жлъчка на пациенти с холангит, включени в настоящото проучване, ESBL-продуцентите съставляват почти 10% от грам-отрицателната флора (предимно *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter cloacae* и *Serratia marcescens*). Някои автори съобщават за висока честота на такива бактериални изолати (3). Високата активност на карбапенемите е установявана и в други проучвания, които съобщават за много нисък относителен дял (2.3%) на резистентни към този антибиотичен клас грам-отрицателни бактерии (4).

Резистентността към карбапенеми сред ентеробактериите се обуславя от продукция на специфични ензими, наречени карбапенемази. Някои автори съобщават за такива изолати, макар и в нисък относителен дял сред общия брой на бактериите, асоциирани с остър холангит (3). Сред изследваните изолати, включени в нашето проучване, не бяха установени резистентни на карбапенеми. Изключително високата активност по отношение на аеробната и факултативно анаеробна бактериална флора, съчетана с отличния антианаеробен ефект на тези препарати, ги прави подходящи за лечение на пациенти с тежки форми на заболяването и допълнителни рискови фактори като предходни интервенции върху билиарното дърво, дълъг болничен престой и др.

Нашите данни показват сравнително ниско ниво на устойчивост (под 10%) към аминогликозидните антибиотици сред грам-отрицателните изолати. По отношение на грам-положителните обаче активността им е значително пониска – едва половината от изпитваните изолати са чувствителни на gentamicin. В голяма степен това се дължи на вродената ниска степен на устойчивост към аминогликозиди при ентерококите, което ги прави неефективни при самостоятелно приложение. В хода на лечение на ентерококови инфекции те следва да бъдат прилагани единствено в синергистична комбинация с бета-лактамен препарат, най-често широкоспектърен пеницилинов дериват – напр. ampicillin. Придобитата висока степен на резис-

тентност към аминогликозиди (HLAR – high level aminoglycoside resistance) компрометираща възможността за прилагане на подобни синергистични комбинации. Такива изолати съставляват половината от изолираните в хода на настоящото проучване. Друг недостатък на аминогликозидите е липсата на активност по отношение на облигатно-анаеробните бактерии, които нерядко участват в генезата на смесения тип бактериални инфекции в хода на холангитите. Поради тези причини аминогликозидите следва да влизат в съображение единствено като част от комбинирана терапия при пациенти с данни за остър холангит.

Широкият спектър и отличната билиарна пенетрация на флуорохинолоните ги прави подходящи за приложение в хода на заболявания като ОХ. Нашите данни показват, че активността на ciprofloxacin превишава значително тази на амино- и уреидопеницилините (включително и на комбинирания amoxicillin / clavulanic acid), както и тази на цефалоспорините от първа и втора генерация. Документираното от нас ниво на резистентност към ciprofloxacin е съизмеримо с това към piperacillin / tazobactam (съответно 14.6% и 14.8%). Относително ниският дял на устойчивост, съчетан с добрите фармакокинетични показатели на препаратите от тази група, ги правят подходящ избор за емпирично начало на антибиотичното лечение при липса на контраиндикации от страна на пациентите. В проспективно сравнително клинично проучване сред пациенти с остър супуративен холангит ефектът от монотерапията с ciprofloxacin е сравнен с този от тройна антибиотична комбинация – ceftazidime, ampicillin и metronidazole. Резултатите показват, че самостоятелната терапия с ciprofloxacin е адекватен избор за емпирична терапия на пациенти с холангит (10). Този факт напълно се потвърждава и от данните от нашето проучване.

В проучената от нас литература не открихме данни за клиничния ефект от приложението на гликопептидни антибиотици (vancomycin, teicoplanin) при пациенти с холангит. Получените резултати от изпитването на чувствителността на грам-положителните патогени към vancomycin демонстрират напълно съхранена активност (100%) по отношение на грам-положителната микробна флора. Това дава основание гликопептидите да бъдат прилагани в случаите на тежки инфекции на билиарния тракт, причинени от полирезистентни грам-положителни микроорганизми като например *Enterococcus faecium* и MRSA, но в никакъв случай като ем-

пирично начало на терапията, тъй като практически нямат ефект върху грам-отрицателните патогени, които превалят при инфекциите на билиарното дърво.

Анализът на данните от проучването на *in vitro* чувствителността към антибактериални средства ни дава основание да препоръчаме за емпирична терапия при средно тежките форми на заболяването комбинирана терапия с уреидопеницилинов препарат (piperacillin) и аминогликозид (gentamicin). Като алтернатива на тази комбинация предлагаме монотерапия с ciprofloxacin. При тежки форми на холангит, включително такива при пациенти с риск от инфекциране с полирезистентни вътреболнични патогени като ESBL-продуциращи ентеробактерии и/или MDR *P. aeruginosa*, е уместно прилагането на piperacillin / tazobactam като препарат на първи избор. Лечение с карбапенеми е показано в случаите на тежка инфекция, причинена от мултирезистентни бактериални патогени след установяване профила им на резистентност с цел съхраняване на отличната им активност и избягване развитието на резистентност в бъдеще.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хаджиева Н., Д. Иванова. Микробиологични аспекти на инфекциите на жлъчните пътища. В: Инфекции на жлъчната система. Хирургическо лечение. Под редакцията на проф. Д. Дамянов. „Медарт“-СУБ, 2004, с. 9-20.
2. Brooke I. Aerobic and Anaerobic Microbiology of Biliary Tract Disease. *Journal of clinical microbiology*, 1989, 27, 2373-2375
3. Goo J. C. et al. Extended Spectrum- β -Lactamase or Carbapenemase Producing Bacteria Isolated from Patients with Acute Cholangitis. *Clin Endosc* 2012;45:155-160
4. Karpel E, Madej A, Bułdak Ł, Duława-Bułdak A, Nowakowska-Duława E, Łabuzek K, Haberka M, Stojko R, Okopień B. Bile bacterial flora and its *in vitro* resistance pattern in patients with acute cholangitis resulting from choledocholithiasis. *Scand J Gastroenterol*. 2011;46:925-930
5. Kaya M., R. Beştaş, F. Bacalan, F. Bacaksız et al. Microbial profile and antibiotic sensitivity pattern in bile cultures from endoscopic retrograde cholangiography patients. *World J Gastroenterol* 2012 ; 18: 3585-3589

6. Lipsett P. A & H. A. Pitt: Acute cholangitis. Surg Clin N Am ,1990, 70, 1297-1312
7. Pitt H. A & W P Longmire Jr: Suppurative cholangitis. In: Hardy J M. Ed: "Critical Surgical Illness." Ed 2: Sanders W B, Philadelphia 1980, 380
8. Sahu MK, Chacko A, Dutta AK, Prakash JA. Microbial profile and antibiotic sensitivity pattern in acute bacterial cholangitis. Indian J Gastroenterol. 2011;30:204-208.,
9. Sakaguchi Y., K. Murata & M. Kimura: Clostridium perfringens and other anaerobes isolated from bile. J Clin Pathol ,1983, 36, 345-349
10. Sung JJ, Lyon DJ, Suen R, Chung SC, Co AL, Cheng AF, Leung JW, Li AK. Intravenous ciprofloxacin as treatment for patients with acute suppurative cholangitis: a randomized, controlled clinical trial. J Antimicrob Chemother 1995; 35: 855-864
11. Tanaka A. et all. Antimicrobial therapy for acute cholangitis: Tokyo Guidelines. J Hepatobiliary Pancreat Surg ,2007, 14:59–67

Адрес за кореспонденция:

Милена Божкова
Катедра по микробиология и вирусология,
МУ-Варна
e-mail: milena.bozhkova@mu-varna.bg