

# КОНСУМАЦИЯ И IN VITRO РЕЗИСТЕНТНОСТ КЪМ GENTAMICIN ПРИ ПРОБЛЕМНИ ИНФЕКЦИИ В УНИВЕРСИТЕТСКА БОЛНИЦА

Теменуга Стоева, Калинка Божкова, Милена Божкова

*Катедра по микробиология, Медицински университет – Варна*

## CONSUMPTION AND IN VITRO RESISTANCE TO GENTAMICIN IN PROBLEMATIC INFECTIONS IN AN UNIVERSITY HOSPITAL

Temenuga Stoeva, Kalinka Bojkova, Milena Bojkova

*Department of microbiology, Medical University – Varna*

### РЕЗЮМЕ

Цел на проучването е проследяване динамиката на резистентността към gentamicin в най-често изолираните Грам-отрицателни бактерии в корелация с консумация на антибиотика за период от 10 години (2004 - 2013). Анализирани са резистентността на *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* към gentamicin, както и годишната консумация на този антибиотик (DDD на 100 леглодни). Употребата на gentamicin е постоянно нарастваща величина в проследявания период, което корелира с изразена тенденция за увеличаване дела на gentamicin резистентните *K. pneumoniae* и *A. baumannii*. За *K. pneumoniae* се установява повишаване на резистентността от 28% през 2004 г. до 39% през 2013 г., с пик през 2010 г. (48%). В периода 2009 - 2012 г. *A. baumannii* се характеризира с рязък скок в развитието на резистентност към gentamicin: от 58% през 2009 г. до 78% през 2011 г. Резистентността на *E. coli* към gentamicin показва тенденция за непрекъснато увеличение само в първата половина на проучвания период (2004 - 2007), достигайки ниво от 30%; във втората половина на периода (2008 - 2013) въпреки повишената консумация на антибиотика се установява стабилизиране на нивата на резистентност в диапазона 16 - 19%. Ясна зависимост в годините "увеличена консумация – нарастваща резистентност" не се установява и за *P. aeruginosa*, макар общата тенденция в този дълъг период от време да е по посока на увеличаване на резистентността (от 25 до 35%).

### ABSTRACT

The aim of this study was to investigate the dynamic of gentamicin resistance in most frequently isolated Gram negative bacteria (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*) and its correlation to the annual gentamicin consumption (DDD per 100 bed-days) during the period 2004 - 2013. The use of gentamicin was constantly increasing during the studied period, which is in correlation with the trend of increasing the rate of gentamicin resistant *K. pneumoniae* and *A. baumannii*. Increasing rates of resistance from 28% in 2004 to 39% in 2013, with peak of 48% in 2010 were detected in *K. pneumoniae*. During the period 2009 - 2012, a sharp rise in the development of gentamicin resistance was detected in *A. baumannii*: from 58% in 2009 to 78% in 2011. In *E. coli*, a trend of continuous increasing of gentamicin resistance was found only during the first half of the studied period (2004 - 2007), reaching the rate of 30%. In spite of the increased gentamicin consumption, stabilized rates of gentamicin resistance in *E. coli* (16-19%) were detected during the second half of the studied period (2008 - 2013).

A clear correlation during the studied years "increased consumption – increased resistance rate" was not found for *P. aeruginosa*, although the general trend for this long period of time is for increasing the gentamicin resistance in this bacterial species (from 25% to 35%).

**Keywords:** gentamicin, antimicrobial resistance, antibiotic consumption

**Ключови думи:** *gentamicin*, антибиотична резистентност, антибиотична консумация

## ВЪВЕДЕНИЕ

Преди по-малко от век професор Селман Ваксман със своя екип (1943 г.), открива първия аминокликозиден антибиотик – стрептомицин. Това е и първият антитуберкулозен агент. Стрептомицинът е изолиран от почвения микроорганизъм *Streptomyces griseus*. Това откритие дава началото на нов изключително важен клас антибиотични препарати и е отличено с Нобелова награда по физиология през 1952 г (6).

Основните класически представители на групата са streptomycin, neomycin, kanamycin, gentamicin, tobramycin, amikacin.

Аминокликозидите блокират синтеза на бактериалните протеини чрез свързване с рибозомния протеин и рибозомната РНК на 30S субединица и по този начин пречат на образуването на „началните комплекси“, от които започва белтъчният синтез. Успехът на аминокликозидите като антибиотици се дължи на високата им широкоспектърна активност и бърз бактерициден ефект. Прилагат се при лечение на инфекции, причинени от чувствителни аеробни и факултативно анаеробни Грам-отрицателни и Грам-положителни бактерии. Аминокликозидите проявяват синергизъм с антибиотици от други групи (бета-лактами) и имат ниска себестойност (9).

Известен факт е високата активност на аминокликозидите срещу представители от родовете *Staphylococcus* (включително метицилин резистентни), *Escherichia*, *Klebsiella*, *Proteus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter* и *Listeria*. Аминокликозидите нямат никаква активност спрямо облигатни анаеробни бактерии и само някои от тях (стрептомицин, амикацин, канамицин) са ефективни срещу *Mycobacterium tuberculosis*.

Както към всички антибактериални средства, така и към аминокликозидите бактериите развиват резистентност. Резистентността към аминокликозиди може да се дължи на модификация на таргетния протеин в 30S рибозомалната субединица, на променен пермеабилитет на клетъчните мембрани или на аминокликозид-модифициращи ензими (5).

От друга страна, развитието на антибиотична резистентност е в пряка зависимост от интензивността на използване на антимикробни лекарства средства. Мониторирането на полирезистентни микроорганизми и предотвратя-

ване на тяхното разпространение в болничната среда са фактори за намаляване разходите и продължителността на лечение на пациентите (4). В Европейските държави антибиотичната резистентност се мониторира от 1998 г. чрез EARSS (European Antimicrobial Resistance Surveillance System), понастоящем EARS-Net (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network). В България национален надзор над антибиотичната резистентност се провежда от 1997 г. от Националния център по заразни и паразитни болести (НЦЗПБ) (BulSTAR), а от 2002 г. се мониторира и антибиотичната консумация (8).

Цел на настоящото проучване е оценка на *in vitro* активността на най-често прилагания аминокликозиден антибиотик – gentamicin, в Университетската болница „Света Марина“ – Варна при проблемни болнични инфекции, причинени от *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii* в корелация с годишната консумация на gentamicin за период от 10 години.

## МАТЕРИАЛ И МЕТОДИ

В проучването са включени общо 11590 изолата: *Escherichia coli* - n = 6560, *Klebsiella pneumoniae* - n = 2597, *Pseudomonas aeruginosa* n = 1899 и *Acinetobacter baumannii* - n = 534, получени от урини, храчки, раневи секрети, хемокултури и ликвори на пациенти в УМБАЛ ”Света Марина” – Варна в периода 2004 - 2013 г.

Чувствителността на бактериалните изолати към gentamicin е определяна по дисково-дифузионния метод на Bayer-Kirby според критериите на съответния CLSI.

Резултатите за резистентността са обобщени на базата на годишните отчети на Лабораторията, изпращани за BulSTAR.

Данните за антибиотичната консумация са събирани ежегодно от Направление „Маркетинг“ на УМБАЛ “Св. Марина” - Варна.

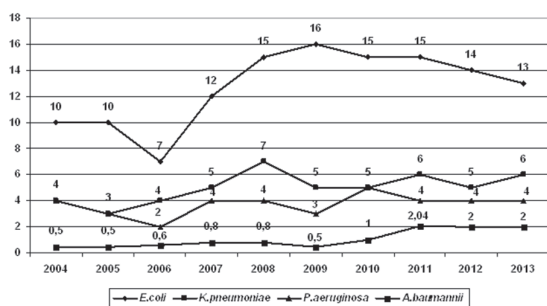
За обработка и анализ на изразходваните количества gentamicin е използван методът на СЗО за Анатомично-терапевтична класификация – Дефинирани дневни дози на 100 леглодни (АТС/DDD).

## РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ

От 1997 г. *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* са сред мониторираните на национално ниво

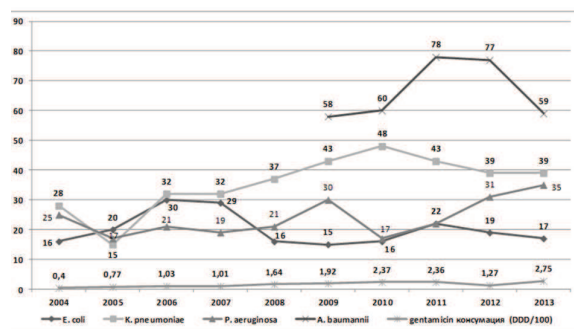
бактериални патогени, от 2004 г. е включен и *A. baumannii*. В УМБАЛ “Света Марина” за периода 2004 - 2013 г. *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* са сред 5-те най-често изолирани от клинични материали бактериални видове, а от 2008/2009 г. в тази група се включва и *A. baumannii*.

На Фигура 1 е представена изолируемостта на мониторираните бактериални видове през 10-годишния период. Броят на изолатите *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii* (респективно относителен дял) в периода 2004 - 2013 г. е вариращ и се определя от броя преминали пациенти в болницата, както и от броя и вида на изследваните материали в микробиологичната лаборатория. С най-висок процент на изолируемост в годините (между 10 - 16%) се характеризира *E. coli*, следван от *K. pneumoniae* (3 - 7%) и *P. aeruginosa* (2 - 5%).



Фиг. 1.

На Фигура 2 е представена резистентността на *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii* към gentamicin и консумацията на антибиотика за периода 2004 - 2013 г.



Фиг. 2.

В Европа мониторирането на антибиотичната резистентност и консумация се осъществява от международните мрежи EARS-Net (Европейска мрежа за надзор на антибиотичната резистентност) и ESAC (Европейски надзор на антибиотичната употреба), като България участва в тези програми от 2000 г. и 2001 г. съответно. На-

ционалният надзор над антибиотичната резистентност и мониторирането на антибиотичната употреба в нашата страна (BulSTAR) се провежда от Микробиологичния отдел към НЦЗ-ПБ (8). Резултатите на BulSTAR дават добра общена представа за резистентността в страната, но не дават информация за локалната резистентност, касаеща отделни болници или клиници (1). В този смисъл местните данни, получавани от рутинните микробиологични изследвания, могат да се използват за изучаване временния (актуален) профил на резистентност в дадена болнична структура. При мониторирането на по-дълги периоди от време е възможно установяването на различни тенденции, които да се използват като индикатори за по-нататъшен анализ или като предупредителна система за новопоявяваща се резистентност.

Проследена в десетгодишния период, резистентността на *E. coli* към gentamicin показва тенденция за непрекъснато увеличение в първата половина на проучвания период – 2004 - 2007 г., достигайки ниво от 30%. Във втората половина на периода (2008 - 2013 г.) се установява стабилизиране на нивата на резистентност в диапазона 16 - 19%. Разликите в нивата на резистентност към gentamicin са статистически незначими между всички представени години. По данни на EARS-Net средната аминокликозидна резистентност на *E. coli* в Европа за 2012 г. е 10.3%, най-ниска – 3.6% в Исландия, най-висока – 26.5% в България (2). За същата година в нашата болница резистентността на *E. coli* към gentamicin е 19%.

За *K. pneumoniae* установяваме ясно изразена тенденция за постепенно повишаване на резистентността към gentamicin, от 28% през 2004 г. до 39% през 2013 г., с пик през 2010 г., когато достига 48%. Средната аминокликозидна резистентност в Европа за 2012 г. е 22.2%, най-ниска – 0% в Исландия, най-висока – 63.7% в Латвия, за България – 54.3% (2). За 2012 г. резистентността на *K. pneumoniae* към gentamicin е 39%, т.е. по-ниска, отколкото средната за България.

За *P. aeruginosa* също е характерна тенденция за увеличение на резистентността към gentamicin, макар и с флукутации през годините: от 25% през 2004 г. до 35% през 2013 г. Европейските данни по отношение на *P. aeruginosa* за средната аминокликозидна резистентност през 2012 г. са 18.4%. Най-ниска е резистентността в Швеция – 1.7%, а най-висока в Румъния – 48.8% (2).

Резистентността на *A. baumannii* към аминокликозиди, по данни на EARS-Net (2), се движи

в изключително широки граници – от 0% в Islandия, Малта и Люксембург до 83.1% в Италия. Средната резистентност за България е 58.5%. Резистентността на *A. baumannii* към антибиотици, в т.ч. и gentamicin, в нашата болница се проследява системно от 2009 г. За проследявания 5-годишен период *A. baumannii* се характеризира с рязък скок в развитието на резистентност към този антибиотик, с пик през 2011 г. – 78%. Изходното ниво на резистентност през 2009 г. е 58%. Рязкото увеличаване на резистентността към gentamicin през 2011 - 2012 г. свързваме с вътреболнични инфекции с последваща болнична дисеминация. Данните относно клоналната обвързаност на изолатите *A. baumannii* (в голямата си част карбапенем-резистентни) показват вътреболнично разпространение на II Интернационален клон *A. baumannii*, разпространен в много български и европейски болници. Този клон се асоциира с множествена антибиотична резистентност: резистентност едновременно към бета-лактами (вкл. карбапенеми), аминогликозиди, хинолони и др. (7).

Употребата на антибиотици (правилна или неправилна) е един от документираният рискови фактори за развитие на резистентност. Положителна тенденция за нашата болница е намаляване на относителния дял на лекуваните с антибиотици пациенти: от 43 - 44% през 2004/2005 г. до 28 и 33% през 2008/2012 и 2013 г. съответно, факт в подкрепа на прецизиране на пациентите, при които наистина има индикации за провеждане на антибиотично лечение. За съжаление обаче данните за общоболничната антибиотична консумация в периода 2006 – 2013 г. разкриват тенденция към нарастване: от 26.4 DDD/100 леглодни през 2006 до 43.45 DDD/100 леглодни за 2013 г. (ежегодни болнични информационни бюлетени). По данни на ESAC-Net аминогликозидната консумация в болничния сектор в България за 2011 г. е 0.124 DDD/1000 население за ден (3).

#### **Резистентност и консумация на гентамицин**

Употребата на gentamicin в проследявания десетгодишен период е постепенно нарастваща и достига максимален фактор от 2.75 през 2013 г., т.е. седемкратно увеличение в сравнение с 2004 г. (0.4). Повишената употреба корелира с изразената тенденция за увеличаване дела на gentamicin резистентните *K. pneumoniae* и *A. baumannii*.

При *E. coli* такава зависимост се установява само в периода 2004 - 2007 г. Въпреки повишаващата се консумация на gentamicin в болницата в периода 2008 - 2013 г. нивата на резистентност

в *E. coli* към този антибиотик се запазват относително постоянни, със слаби, статистически незначими колебания в границите между 16 и 19%.

Ясна зависимост в годините „увеличена консумация – нарастваща резистентност“ не се установява и за *P. aeruginosa*, макар общата тенденция в този дълъг период от време да е по посока на увеличаване на резистентността.

## **ЗАКЛЮЧЕНИЕ**

Явна тенденция за увеличаване на резистентността към gentamicin в проследявания десетгодишен период бе установена за *K. pneumoniae* и *A. baumannii*. Наблюдаваните вариации в резистентността през годините показват, че е важно изследването да обхваща по-големи периоди от време, за да се уловят тенденциите. Това се отнася с особена сила за структури, характеризирани се с по-голяма честота на вътреболничните инфекции (интензивни отделения), в които резултатите могат да се обяснят с акумулиране на епидемични щамове в даден период от време. В настоящото проучване установихме два модела на зависимост: увеличена консумация/нарастваща резистентност и увеличена консумация/стабилизирани нива на резистентност.

Антибиотичната свръхконсумация в болниците е фактор от първостепенно значение за възникването и разпространението на антибиотичната резистентност. Други не по-малко важни фактори, които биха могли да бъдат контролирани, са вътреболничното и междуболнично разпространение на епидемични щамове, както и антибиотичната консумация в обществото.

## **ЛИТЕРАТУРА**

1. Стоева, Т., Божкова, К., Снегарова, В. и др. Динамика в резистентността на най-честите бактериални изолати в УМБАЛ “Св. Марина” – Варна и употребата на някои антибиотици в периода 2004-2008. // Медицински преглед, XLVI, 2010, №3, с. 67-73.
2. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2013.
3. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial consumption in Europe 2011. Stockholm: ECDC; 2014.



4. Hsueh P, Chen W, Luh K. Relationships between antimicrobial use and antimicrobial resistance in Gram-negative bacteria causing nosocomial infections from 1991-2003 at a university hospital in Taiwan. *Int J Antimicrob Agents*. 2005;26(6):463-72.
5. Poole K. Aminoglycoside Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2005;49(2):479-87.
6. Selman A. Waksman. Streptomycin: Background, Isolation, Properties, and Utilization - Nobel Lecture December 12, 1952; <http://nobelprize.org/medicine/laureates/1952/waksman-lecture.pdf>.
7. Stoeva T, Higgins PG, Bojkova K, et al. Molecular epidemiology of multidrug resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates from Bulgarian Hospital. 9th International Symposium on the Biology of *Acinetobacter*. June 19-21, 2013, Cologne, Germany. p.94.
8. [www.bam-bg.net](http://www.bam-bg.net)
9. [www.uphs.upenn.edu/bugdrug/antibiotic\\_manual/aminoglycosideresistance.htm](http://www.uphs.upenn.edu/bugdrug/antibiotic_manual/aminoglycosideresistance.htm)

**Адрес за кореспонденция:**  
Доц. д-р Теменуга Стоева, дм  
Катедра по микробиология  
Медицински университет - Варна  
e-mail: [temenuga.stoeva@abv.bg](mailto:temenuga.stoeva@abv.bg)