PRZEG. EPID., 1996, 50, 3

Alicja Rokosz, Krystyna Rafałowska, Dariusz Lipnicki

GRAM-DODATNIE ZIARENKOWCE KATALAZOUJEMNE IZOLOWANE Z MATERIAŁÓW KLINICZNYCH – IDENTYFIKACJA I LEKOWRAŻLIWOŚĆ SZCZEPÓW

Zakład Bakteriologii Klinicznej AM w Warszawie
Kierownik: Prof. dr hab. med. *F. Meisel-Mikołajczyk*

W okresie 14 miesięcy zbadano 4608 próbek pochodzących od pacjentów hospitalizowanych w różnych oddziałach klinicznych. Izolowano Gram-dodatnie ziarenkowce katalazoujemne wykorzystując w ich oznaczaniu półautomatyczny system (ATB-plus). Wśród wyhodowanych szczepów dominował gatunek Enterococcus faecalis.

W ostatnich latach ukształtował się pogląd, że w zwalczaniu zakażeń bakteryjnych ważną rolę powinny odegrać pracownie bakteriologii klinicznej. Zadaniem tej pracowni jest nie tylko określenie zmieniających się bakteryjnych czynników etiologicznych zakażeń oraz określenie lekowrażliwości wyhodowanych drobnoustrojów, ale również okresowa analiza częstości występowania poszczególnych gatunków oraz ich lekooporności. Taka analiza daje pogląd na dominujące w danym okresie drobnoustroje i możliwość ich skutecznego zwalczania poprzez przemyślane przedsięwzięcia epidemiologiczne. Pozwala także na prowadzenie określonej polityki leczenia antybiotykami w danym szpitalu oprócz innych nieodzownych niejednokrotnie zmian organizacyjnych (8, 9).

Niniejsza praca przedstawia próbę takiej analizy dotyczącej ziarenkowców katalazoujemnych z uwzględnieniem poszczególnych oddziałów należących organizacyjnie do jednego szpitala.

MATERIAŁ I METODY

Materiały kliniczne. Badania prowadzono w pracowni bakteriologicznej Zakładu Bakteriologii Klinicznej AM w Warszawie od 30 czerwca 1993 r. do 31 sierpnia 1994 r. (14 miesięcy). Najczęściej badanymi materiałami klinicznymi były: wymazy z rany, wymazy z ropni, ropa, wycinki tkanek, krew, dreny, wymazy z drenów, żółć, końcówki cewników. Próbki pochodziły od pacjentów hospitalizowanych na 14 oddziałach szpitalnych (najwięcej z oddziału chirurgii ogólnej) Państwowego Szpitala

Klinicznego (PSK) Nr 1 w Warszawie. Do badań otrzymano ogółem 4608 próbek klinicznych, w tym 1641 próbek krwi i 2967 innych materiałów.

Podłoża i warunki wzrostu. Posiewy materiałów w kierunku tlenowców wykonywano na podłoża stałe: agar z krwią, agar czekoladowy i MacConkey'a. Podłoża te inkubowano w temp. 37°C przez 18 godzin (posiewy na agarze czekoladowym w atmosferze zawierającej 10% CO_2). Posiewy materiałów w kierunku beztlenowców wykonywano na podłoża stałe: *Brucella* agar z krwią, heminą i witaminą K_3 oraz BBE. Inkubowano je w temp. 37°C przez 48 godzin w systemie „Gas generating box H_2+CO_2" (bioMérieux, Francja). Jednocześnie wszystkie próbki posiewano na zregenerowane płynne podłoże Schaedlera, które inkubowano w temp. 37°C przez 7 dni.

Identyfikacja szczepów. Właściwości biochemiczne szczepów określano przy użyciu półautomatycznego systemu API (ATB-plus), (bioMérieux, Francja). Oznaczeń dokonywano na paskach API STREP i API 20A wg zaleceń producenta (5, 13).

Oznaczenie lekowrażliwości szczepów. Wrażliwość badanych szczepów na leki przeciwbakteryjne określano w półautomatycznym systemie API (ATB-plus), (bioMérieux, Francja) przy użyciu pasków ATB STREP i ATB ANA wg instrukcji producenta (6).

W skład antybiogramu ATB STREP wchodzą: penicylina (PEN), ampicylina (AMP), cefalotyna (CFT), tetracyklina (TET), erytromycyna (ERY), linkomycyna (LIN), pristinamycyna (PRI), kotrimoksazol (TSU), wankomycyna (VAN), rifampicyna (RFA), fosfomycyna (FOS), oksacylina (OXA) oraz aminoglikozydy: streptomycyna (STR), kanamycyna (KAN) i gentamycyna (GEN) w wysokich stężeniach (H). Antybiogram ATB ANA zawiera: penicylinę (PEN), amoksycylinę (AMO), amoksycylinę z kwasem klawulanowym (AMC), piperacylinę (PIC), tikarcylinę (TIC), cefoksytynę (CXT), imipenem (IMI), moksalaktam (MOX), tetracyklinę (TET), chloramfenikol (CMP), erytromcynę (ERY), rifampicynę (RFA), klindamcynę (CLI), metronidazol (MTR) i wankomycynę (VAN).

WYNIKI

Szczepy bakteryjne. Ogółem z badanych materiałów wyhodowano 538 szczepów ziarenkowców katalazoujemnych (przeciętnie 1 szczep na 8–9 badań). Wśród wyhodowanych bakterii dominowały szczepy należące do rodzajów: *Streptococcus* – 238 (44,2%) i *Enterococcus* – 201 (37,4%). Znacznie mniej było szczepów należących do rodzajów: *Gemella* – 48 (8,9%), *Aerococcus* – 34 (6,3%) i *Lactococcus* – 17 (3,2%). W sumie wyhodowano szczepy 30 gatunków bakterii z omawianej grupy. Materiałami, z których wyizolowano najwięcej ziarenkowców katalazoujemnych były wymazy z rany. Otrzymano z nich 420 szczepów co stanowi 78,2% wszystkich szczepów. Rzadziej hodowano ziarenkowce katalazoujemne z krwi (26 szczepów), żółci (16 szczepów), drenów (14 szczepów) i ropy (13 szczepów). Liczba szczepów wyhodowanych z materiałów klinicznych innego rodzaju nie przekraczała 5. Najczęściej hodowane gatunki bakterii z grupy ziarenkowców katalazoujemnych przedstawiono w tabeli I. Z badanych próbek najwięcej wyhodowano szczepów *E. faecalis* (19,3%), a następnie *E. faecium* (13,0% ogólnej liczby szczepów). Liczbę otrzymanych prób z poszczególnych oddziałów z zaznaczeniem liczby izolowanych szczepów ziarenkowców katalazoujemnych zestawiono w tabeli II.

Tabela I. Liczba szczepów poszczególnych gatunków izolowanych z materiałów klinicznych od hospitalizowanych pacjentów.

Lp.	Gatunek	Liczba szczepów	Odsetek ogółu wyhodowanych szczepów
1.	*Enterococcus faecalis*	104	19,3
2.	*Enterococcus faecium*	70	13,0
3.	*Aerococcus viridans*	34	6,3
4.	*Streptococcus mitis*	33	6,1
5.	*Streptococcus intermedius*	33	6,1
6.	*Gemella morbillorum*	32	6,0
7.	*Streptococcus pyogenes*	27	5,0
8.	*Streptococcus agalactiae*	25	4,6
9.	*Streptococcus sanguis*	25	4,6
10.	*Streptococcus acidominimus*	18	3,3
11.	*Lactococcus lactis*	17	3,2
12.	*Gemella haemolysans*	16	3,0
13.	*Streptococcus uberis*	15	2,8
14.	*Enterococcus durans*	9	1,7
15.	*Enterococcus avium*	9	1,7
16.	*Enterococcus casseliflavus*	8	1,5
17.	*Streptococcus adjacens*	8	1,5
18.	*Streptococcus oralis*	7	1,3
19.	*Streptococcus salivarius*	6	1,1

Spośród innych ziarenkowców katalazoujemnych wyizolowano po kilka szczepów (1–4) następujących gatunków: *E. gallinarum*, *S. anginosus*, *S. bovis*, *S. constellatus*, *S. dysgalactiae*, *S. equi*, *S. equinus*, *S. equisimilis*, *S. milleri*, *S. mutans*, *S. pneumoniae*.
Jedenaście szczepów zostało określonych jako *Streptococcus spp.*

W próbkach otrzymanych z oddziału chirurgii ogólnej dominowały: wymazy z rany, końcówki drenów i cewników, żółć, wymazy z owrzodzeń, ropa, wydzieliny z krwiaków i wodniaków. Najwięcej szczepów wyhodowano z wymazów z rany – 113 (67,3%), następnie z żółci – 16 (9,5%) i z drenów – 12 (7,1%).

Z oddziałów ortopedycznych (pięć oddziałów) większość prób stanowiły wymazy z rany. Z materiałów tych wyizolowano 93 szczepy z omawianej grupy bakterii. W tym 74 szczepy uzyskano z wymazów z rany.

Z oddziału transplantologii otrzymano przede wszystkim wymazy z pola operacyjnego, wymazy z ran pooperacyjnych i płyny z worków dializacyjnych.

Z oddziału intensywnej opieki medycznej (OIOM) najwięcej było wymazów z rurki intubacyjnej i wymazów z rurki tracheostomijnej.

Z oddziału okulistycznego dominowały wymazy z worka spojówkowego.

Z oddziału dermatologicznego większość materiałów stanowiły wymazy z ran i wymazy z owrzodzeń.

Z oddziałów chirurgii szczękowej (dwa oddziały) otrzymano głównie wymazy z rany, próbki ropy i wycinki tkanek.

Z oddziału ginekologiczno-położniczego badano przede wszystkim wymazy z pochwy.

Tabela II. Występowanie szczepów ziarenkowców katalazoujemnych w materiałach klinicznych pochodzących od pacjentów z poszczególnych oddziałów szpitalnych.

Lp.	Oddział*	Ogólna liczba badań**	Liczba szczepów ziarenkowców katalazoujemnych	Szczepy dominujące w wyhodowaniach	Liczba szczepów danego gatunku
1.	Chirurgia Ogólna	1101	168	1. *E. efaecalis* 2. *E. faecium* 3. *S. pyogenes*	41 34 8
2.	Ortopedia	716	93	1. *E. faecalis* 2. *E. faecium* 3. *S. mitis*	20 8 6
3.	Transplantologia	318	40	1. *E. faecalis* 2. *E. faecium* 3. *S. intermedius*	13 11 4
4.	OIOM	190	46	1. *E. faecalis* 2. *E. faecium* 3. *S. mitis*	10 6 4
5.	Okulistyka	168	9	1. *A. viridans* 2. *G. morbillorum* 3. 5 różnych gatunków	2 2 po 1
6.	Dermatologia	129	46	1. *S. pyogenes* 2. *E. faecalis* 3. *S. agalactiae*	9 5 5
7.	Chirurgia Szczękowa	107	56	1. *S. mitis* 2. *G. haemolysans* 3. *S. sanguis* 4. *S. intermedius*	12 6 5 5
8.	Ginekologia i Położnictwo	76	36	1. *S. intermedius* 2. *S. agalactiae* 3. *E. faecium*	9 4 4
9.	Chorób Wewnętrznych	73	19	1. *E. faecalis* 2. *E. faecium* 3. *S. uberis*	5 4 3
10.	Noworodkowy	66	17	1. *E. faecalis* 2. *S. salivarius* 3. *S. mitis* 4. *E. avium*	4 3 2 2

* Z pozostałych oddziałów szpitalnych otrzymano po kilka badań.

** Liczba badań nie obejmuje badań krwi. Ogółem ze wszystkich oddziałów szpitalnych otrzymano 1641 próbek krwi.

Poniżej 20 szczepów izolowano z materiałów nadesłanych z oddziałów: chorób wewnętrznych i noworodkowego. Pojedyncze szczepy ziarenkowców katalazoujemnych wyizolowano z próbek klinicznych pochodzących od pacjentów z oddziałów: urologii, radioterapii, endokrynologii i laryngologii.

W tabeli II zamieszczono ponadto zestawienie gatunków bakterii najczęściej izolowanych z materiałów klinicznych z uwzględnieniem oddziału, z którego pochodziły próbki.

Łącznie ze wszystkich oddziałów szpitalnych otrzymano 1641 próbek krwi. Wyhodowano z nich 26 szczepów ziarenkowców katalazoujemnych (częstość izolacji 1,5%), w tym sześć szczepów *E. faecalis*. Izolowano także: po 3 szczepy *S. agalactiae* i *S. acidominimus*, po 2 szczepy *S. salivarius*, *S. uberis*, *S. mitis* i *E. faecium* oraz po jednym szczepie *E. casseliflavus*, *A. viridans*, *L. lactis*, *S. sanguis*, *S. equinus* i *S. intermedius*. Wszystkie szczepy wyhodowano z czterech oddziałów szpitalnych: transplantologii, chirurgii ogólnej, noworodkowego i chorób wewnętrznych.

Lekowrażliwość szczepów dominujących w wyhodowaniach z materiałów klnicznych. Antybiogramy wykonywano i odczytywano w półautomatycznym systemie ATB-plus używając firmowych pasków ATB STREP. Lekowrażliwość szczepów rosnących w warunkach beztlenowych (*S. intermedius*, *G. morbillorum*) oznaczono przy użyciu pasków ATB ANA.

W tabeli III zestawiono wyniki oznaczenia lekowrażliwości szczepów ziarenkowców katalazoujemnych dominujących w wyhodowaniach z materiałów klinicznych (liczba szczepów >20).

Szczepy ziarenkowców katalazoujemnych najczęściej hodowanych od pacjentów były najbardziej wrażliwe na wankomycynę, rifampicynę i ampicylinę. Największą skuteczność wobec enterokoków wykazała wankomycyna. Szczepy należące do rodzaju *Streptococcus* były najbardziej wrażliwe na rifampicynę, wankomycynę, ampicylinę i cefalotynę.

OMÓWIENIE WYNIKÓW

Badania wielu autorów zwracają uwagę na wzrastającą w ciągu ostatnich lat rolę niektórych gatunków paciorkowców i innych bakterii Gram-dodatnich w powodowaniu zakażeń u ludzi, zwłaszcza w środowisku szpitalnym. Autorzy ci podkreślają, że te drobnoustroje są poważnymi czynnikami chorobotwórczymi zwłaszcza, że obserwuje się coraz częściej szczepy oporne na antybiotyki (1, 3, 10, 11, 14).

W tej grupie drobnoustrojów wzrasta znaczenie ciężkich zakażeń powodowanych przez szczepy rodzaju *Enterococcus* wywołujące zapalenie wsierdzia, bakteriemie, zakażenia dróg moczowych oraz zakażenia w obrębie jamy brzusznej. Niebezpieczeństwo wynika przede wszystkim z wieloporności niektórych szczepów wyżej wymienionych drobnoustrojów na leki przeciwbakteryjne (3, 12).

W badaniach prowadzonych przez nas dominującymi drobnoustrojami wśród ziarenkowców katalazoujemnych były streptokoki (*Streptococcus spp.*) i enterokoki (*Enterococcus spp.*) odpowiednio 44,2% i 37,4% ogółu izolowanych szczepów tej grupy. Bakterie należące do tych dwóch rodzajów były czynnikami etiologicznymi ponad 80% zakażeń wywoływanych przez ziarenkowce katalazoujemne. Należy podkreślić, że omawiane drobnoustroje izolowano najczęściej z zakażonych ran (78,2%), ale także z innych materiałów pobieranych od chorych (żółć, ropa, dreny, krew).

Podobne obserwacje poczynili inni autorzy odnośnie występowania tej grupy bakterii w materiałach klinicznych (4,7). Na przykład wśród 525 izolowanych gram-dodatnich

Tabela III. Lekowrażliwość szczepów ziarenkowców katalazoujemnych dominujących w wyhodowaniach.

Lp.	Gatunek	Liczba szczepów	Odsetek szczepów wrażliwych na dany chemioterapeutyk:														
			PEN	AMP	CFT	TET	ERY	LIN	PRI	TSU	VAN	RFA	FOS	OXA	STR^H	KAN^H	GEN^H
1.	*E. faecalis*	104	2	86	13	14	13	2	14	17	90	57	21	3	0	0	0
2.	*E. faecium*	70	4	45	10	17	10	9	52	46	93	49	27	2	0	0	0
3.	*A. viridans*	34	53	78	73	39	38	39	87	55	97	82	53	38	0	10	0
4.	*S. mitis*	33	66	89	89	37	66	69	91	55	91	94	78	67	13	13	13
5.	*S. pyogenes*	27	93	89	96	17	68	89	96	82	93	96	71	75	13	21	13
6.	*S. agalactiae*	25	85	96	83	21	81	78	88	62	93	93	63	74	0	4	0
7.	*S. sanguis*	25	64	89	89	52	61	54	93	50	85	96	48	46	0	0	0
8.	*G. morbillorum**	13	62	100	100	47	71	85	100	43	82	88	57	71	7	21	7
			PEN	AMO	AMC	PIC	TIC	CXT	IMI	MOX	TET	CMP	ERY	RFA	CLI	MTR	VAN
9.	*S. intermedius*	33	64	81	92	80	86	75	91	81	51	86	78	91	72	17	86
10.	*G. morbillorum**	19	62	67	88	67	65	79	89	70	47	65	71	88	70	10	82

* Wrażliwość 13 szczepów *G. morbillorum* oznaczano na pasku ATB STREP, a 19 szczepów tego gatunku na pasku ATB ANA.

patogenów katalazoujemnych najczęściej występowały *Enterococcus faecalis* – 130 szczepów oraz inne enterokoki – 62 szczepy (4). *Guiney* i *Urwin* (7) wśród 943 eskulino-dodatnich szczepów stwierdzili 92% enterokoków (737 szczepów *Enterococcus faecalis*, 129 szczepów *E. faecium* oraz inne gatunki enterokoków).

Należy zwrócić uwagę na izolowanie przez nas bakterii należących do rodzajów *Gemella* (8,9% ogółu szczepów) oraz *Aerococcus* (6,3% ogółu izolowanych szczepów). Spośród enterokoków najczęściej izolowano gatunki *Enterococcus faecalis* i *E. faecium* (odpowiednio 19,3% i 13,0% ogółu izolowanych ziarenkowców katalazoujemnych).

Najwięcej szczepów z omawianej grupy proporcjonalnie do liczby badań izolowano z oddziałów: chirurgii szczękowej, ginekologii i położnictwa, dermatologii, chorób wewnętrznych, noworodkowego i intensywnej opieki medycznej.

Badanie lekowrażliwości różnych rodzajów ziarenkowców katalazoujemnych było przedmiotem opracowań wielu autorów, przy czym zwracają oni uwagę na wzrastającą liczbę szczepów opornych (2, 11, 14).

Wyniki badania wrażliwości na leki przeciwbakteryjne wyhodowanych przez nas ziarenkowców katalazoujemnych wskazują na obecność szczepów opornych na antybiotyki β-laktamowe, aminoglikozydy, makrolidy, tetracykliny, a nawet na wankomycynę. Podkreślić należy, że zgodnie z doniesieniami niektórych autorów o obserwowanej oporności enterokoków i innych ziarenkowców katalazoujemnych na wysokie stężenia aminoglikozydów, wśród drobnoustrojów omawianych w naszym materiale również stwierdziliśmy obecność wielu takich szczepów. *Ena* i wsp. (4) sugerują, że zagrożenie wankomycynoopornymi szczepami ziarenkowców Gram-dodatnich nie jest jeszcze duże. Wniosek ten oparto na podstawie siedmioletniego okresu obserwacji. Wśród wyhodowanych przez nas szczepów stwierdziliśmy 3–18% szczepów opornych na wankomycynę w zależności od gatunku drobnoustroju. Wśród szczepów *E. faecalis* było 10% wankomycynoopornych, a wśród szczepów *E. faecium* – 7%.

PODSUMOWANIE

1. Na terenie PSK Nr 1 w Warszawie wśród ziarenkowców katalazoujemnych izolowanych z materiałów klinicznych dominują szczepy *Streptococcus spp.* i *Enterococcus spp.* Najwięcej wyhodowanych szczepów należy do gatunku *Enterococcus faecalis.*

2. Najwięcej szczepów ziarenkowców katalazoujemnych izoluje się (proporcjonalnie do liczby badań) z oddziałów: chirurgii szczękowej, ginekologii i położnictwa, dermatologii, chorób wewnętrznych, noworodkowego i intensywnej opieki medycznej.

3. W środowisku naszego szpitala występują wankomycynooporne szczepy omawianej grupy drobnoustrojów. Oporność na wankomycynę nie jest zjawiskiem częstym, dotyczy od kilku do kilkunastu procent szczepów zależnie od gatunku.

4. Wankomycyna, w badaniach lekowrażliwości in vitro, jest najbardziej aktywnym lekiem wobec ziarenkowców katalazoujemnych izolowanych na terenie naszego szpitala.

Przedstawione przez nas opracowanie pozwala zwrócić uwagę na wzrastający udział ziarenkowców katalazoujemnych w wywoływaniu ciężkich zakażeń o przebiegu

niejednokrotnie niepomyślnym dla pacjenta, zwłaszcza w związku z narastającymi trudnościami skutecznego ich leczenia. Okresowa analiza wyhodowań i lekowrażliwości omawianych drobnoustrojów stanowi więc ważny element w programowaniu racjonalnej antybiotykoterapii oraz podejmowaniu rozsądnych przedsięwzięć epidemiologicznych.

A. Rokosz, K. Rafałowska, D. Lipnicki

GRAM-POSITIVE, CATALASE-NEGATIVE COCCI ISOLATED FROM CLINICAL SPECIMENS – INDENTIFICATION AND DRUG SENSITIVITY OF STRAINS

SUMMARY

4608 clinical specimens (including 1641 samples of blood) for bacteriological examination were obtained from patients hospitalized in different wards of National Clinical Hospital No 1 in Warsaw. Strains were cultured, identified and their sensitivity to antibacterial drugs was determined during 14 months with the use of semi-automated API (ATB-plus) system (bioMérieux, France). Strains of Gram-positive, catalase-negative cocci were separated from all cultured strains. They belonged to the genera: *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Gemella*, *Aerococcus* and *Lactococcus* (538 strains altogether). 238 *Streptococcus spp.* strains (44.2%) and 201 *Enterococcus spp.* strains (37.4%) were isolated from all specimens. The greatest number of catalase-negative cocci was obtained from wound smears – 420 strains, which amounts to 78.2% of all strains. Among isolates dominated *E. faecalis* strains – 104 (19,3%) and *E. faecium* strains – 70 (13.0% of all isolated strains).

Vancomycin was the most effective antibacterial drug against gram-positive, catalase-negative cocci isolated from patients hospitalized in our hospital. Vancomycin-resistant strains consituted from 3% to 18% of strains depending on a species.

PIŚMIENNICTWO

1. *Asche V.*: Aust. Fam. Physician, 1993, 22, 1763. – 2. *Chen H.Y., Bonfiglio G., Allen M., Piper D., Edwardson T., McVey D., Livermore D.M.*: J. Antimicr. Chemother., 1993, 32, 247. – 3. *Dzierżanowska D.*: Antybiotykoterapia praktyczna, α-medica press, Bielsko Biała, 1994. – 4. *Ena J., Houston A., Wenzel R.P., Jones R.M.*: J. Chemother. 1993, 5, 17. – 5. *Essers L., Haralambie E.*: Zbl. Hyg. Abt. A, 1977, 238, 394. – 6. *Grollier G., Burucoa C., Bonnin M., de Rautlin de la Roy Y.*: Ann. Biol. Clin., 1992, 50, 393. – 7. *Guiney M., Urwin G.*: Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis., 1993, 12, 362. – 8. *Kleszcz P., Heczko P.B.*: Medycyna 2000, 1995, 51/52,3. – 9. *McGowan J.E.Jr.*: Am. J. Med. 1991, 91, 245. – 10. Morbidity and Mortality Weekly Report, 1993, 42, 597.

11. *Schaberg D.R.*: Ann. Emerg. Med., 1994, 24, 462. – 12. *Tailor S.A., Bailey E.M., Rybak M.J.*: Ann. Pharmacother., 1993, 27, 1231. – 13. *Tillotson G.S.*: J. Clin. Path., 1982, 35, 468. – 14. *Vemuri R.K., Zervos M.J.*: Postgrad. Med., 1993, 93, 121.

Adres: Zakład Bakteriologii Klinicznej AM w Warszawie
02-004 Warszawa, ul. T. Chałubińskiego 5