

УДК [616.321+616.322]-002-022:579.862.1

Экологические аспекты чувствительности к антибиотикам анаэробных бактерий

М. Качерес^{1,2}, К.Э. Норд¹, А. Веинтрауб¹

¹ Отдел клинической микробиологии, кафедра иммунологии, микробиологии, патологии и инфекционных болезней, Каролинский институт, Университетская больница Хаддинга, Стокгольм, Швеция

² Кафедра микробиологии, медицинский факультет, Национальный независимый университет Леона, Никарагуа

В статье представлены основные подходы к антибиотикотерапии анаэробных инфекций, описаны наиболее типичные анаэробные патогены и механизмы их резистентности к антимикробным препаратам. Приведены данные исследований чувствительности к антибиотикам *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp. и *Fusobacterium* spp., выделенных у госпитализированных пациентов в Швеции и Никарагуа, получавших антибактериальную терапию, а также у детей в возрасте до 2 лет в Никарагуа, получавших и не получавших антибиотики. Наименее активными в отношении *Bacteroides* spp. были бензилпенициллин, цефалотин и пиперациллин, которые несколько превосходили клиндамицин и цефокситин. Обнаружены штаммы *Fusobacterium* spp., устойчивые к бензилпенициллину. Большинство штаммов *Clostridium* spp. были чувствительны к

тестируемым антибиотикам. Единственными анаэробами, устойчивыми к ампициллину и цефокситину, оказались *Bacteroides* spp., выделенные у детей, получавших антибиотики. Ни у детей, ни у взрослых не обнаружено штаммов, устойчивых к имипенему, метронидазолу и хлорамфениколу. Резистентность анаэробов, выделенных у 219 пациентов в Никарагуа, определялась к наиболее часто используемым в этой стране антибиотикам. Так, представители группы *B. fragilis* часто проявляли резистентность к ампициллину (56%), цефокситину (28%) и клиндамицину (25%). Обнаружены штаммы *Fusobacterium* spp., устойчивые к ампициллину (44%) и цефокситину (12%).

Ключевые слова: анаэробы, антибиотикотерапия, антибиотикорезистентность.

Ecological Aspects of Antimicrobial Susceptibility of Anaerobic Bacteria

M. Caceres^{1,2}, C.E. Nord¹, A. Weintraub¹

¹ Division of Clinical Bacteriology, Department of Immunology, Microbiology, Pathology and Infectious Diseases, Karolinska Institute, Huddinge University Hospital, Stockholm, Sweden

² Department of Microbiology, Medicine Faculty, National Autonomous University of Leon, Nicaragua

The treatment options for the therapy of anaerobic infections, the most typical anaerobic pathogens and their mechanisms of resistance to antimicrobials are given in the article. The data on

the susceptibility testing of *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp. and *Fusobacterium* spp. isolated from hospitalized adults from Sweden and Nicaragua who were receiving antimicrobial therapy and from Nicaraguan antimicrobial treated children and healthy children under 2 years of age. Benzylpenicillin, cephalotin and piperacillin were the antimicrobials less effective against *Bacteroides* species, followed by clindamycin and cefoxitin. *Fusobacterium* species resistant to benzylpenicillin were also found. A significant diffe-

Контактный адрес:

Carl Erik Nord

F82, Huddinge University Hospital

SE-141 86 Stockholm, Sweden.

Тел.: +46 8 585 878 38, 585 800 00

Факс: +46 8 711 3918

Эл. почта: carl.erik.nord@impi.ki.se

rence was observed between the Nicaraguan and Swedish patients. Most *Clostridium* species from both groups of patients were sensitive to the antimicrobial agents tested. *Bacteroides* strains were the only bacterial species resistant to ampicillin and cefoxitin isolated from children; the percentage of resistant strains increased with age. These resistant strains were isolated mainly from antimicrobial treated children. However, *Bacteroides* strains resistant to ampicillin were also isolated from the intestinal microflora of healthy children. No resistant strains to imipenem, metronidazole and chloramphenicol were found. The

antimicrobial susceptibility pattern of anaerobic and aerobic bacteria isolated from 219 Nicaraguan patients was determined against the most common antimicrobials used in Nicaragua. *B. fragilis* group strains were the most common anaerobic isolates and the most resistant to ampicillin (56%), cefoxitin (28%) and clindamycin (25%). *Fusobacterium* strains resistant to ampicillin and cefoxitin (44% and 12% resistance, respectively) were also isolated. All the gram-positive anaerobic strains isolated were sensitive to the antimicrobials tested.

Key words: anaerobs, antibacterial therapy, antibacterial resistance.

Терапия анаэробных инфекций

Учитывая, что анаэробные инфекции часто обусловлены смешанной микрофлорой, а бактериологическое исследование занимает достаточно длительное время, врачи вынуждены начинать эмпирическую антимикробную терапию до получения результатов определения чувствительности возбудителей. В этом случае, как правило, при лечении пациентов с анаэробными инфекциями возникает необходимость хирургического вмешательства, и антибиотикотерапия может быть неэффективной без адекватной хирургической обработки раны и ее дренирования [1–5].

Эмпирический выбор антибиотиков должен проводиться с учетом клинической картины заболевания, данных о наиболее типичных возбудителях инфекции, антибиотикорезистентности в соответствующем медицинском учреждении и, наконец, возможных изменений микрофлоры пациента, вызванных предшествующей терапией или непосредственно инфекцией.

Препаратами, активными при лечении большинства анаэробных инфекций, являются метронидазол, хлорамфеникол, клиндамицин, пенициллины широкого спектра, такие, как тикарциллин и пиперациллин, карбапенемы, цефокситин, комбинации β -лактама и ингибиторов β -лактамаз (тазобактам, сульбактам или клавулановая кислота) и некоторые новейшие фторхинолоны (гatifлоксацин и моксифлоксацин) [4, 5]. В связи с тем, что анаэробные инфекции, например интраабдоминальные, часто вызываются смешанной анаэробно-аэробной микрофлорой, рекомендуется использовать комбинацию антибиотиков, активных в отношении аэробов и анаэробов.

Потенциально активными против грамотрицательных аэробов являются аминогликозиды, азтре-

онам, цефалоспорины III–IV поколения и фторхинолоны.

Монотерапия препаратом с широким спектром действия, включающим энтеробактерии и анаэробы, не уступает по эффективности комбинации антибактериальных средств. Одними из наиболее эффективных препаратов для монотерапии интраабдоминальных инфекций являются цефамицины, в частности цефокситин [6]. Кроме того, для монотерапии могут быть использованы карбапенемы (имипенем/циластатин, меропенем, биापенем), комбинации β -лактама/ингибитор и новейшие фторхинолоны (гatifлоксацин и моксифлоксацин) [5].

Резистентность анаэробов к антибактериальным препаратам. Использование антибиотиков в клинической практике сопровождалось выделением бактерий, устойчивых к антибиотикам. В последние годы сообщалось об увеличении резистентности анаэробов к различным антибактериальным препаратам. Появление устойчивости к антибиотикам у анаэробных бактерий имеет огромное значение при выборе эмпирической терапии. Подтверждена устойчивость анаэробов к β -лактамам, клиндамицину, макролидам, тетрациклинам и нитроимидазолам [7].

Род *Bacteroides* и другие роды, выделенные из него (*Prevotella* и *Porphyromonas*), отличаются повышенной устойчивостью к различным антибиотикам [8]. Из них наиболее устойчивыми к антибактериальным препаратам являются представители группы *Bacteroides fragilis*. Часто встречаются *Fusobacterium* spp., устойчивые к β -лактамам [9]. Обнаружены резистентные к метронидазолу штаммы *Clostridium perfringens* и *Propionibacterium* spp. [7]. Список устойчивых к антибиотикам бактерий, часто встречающихся при смешанных анаэробно-

аэробных инфекциях, включает представителей группы *B. fragilis* и такие аэробные микроорганизмы, как *Escherichia coli*, *Pseudomonas* spp., *Klebsiella* spp. и *Staphylococcus aureus* [10–13].

Механизмы устойчивости анаэробных бактерий. Выделяют следующие механизмы устойчивости анаэробных бактерий:

- 1) гидролиз антибиотика различными ферментами до проникновения его к мишени действия;
- 2) снижение проницаемости бактериальной клетки;
- 3) модификация (изменение) мишени действия антибиотика;
- 4) механизмы активного выведения антибиотика из бактериальной клетки [8, 14].

Так, например, у штаммов *C. perfringens* обнаружены два гена, обуславливающие устойчивость к тетрациклину – *tetA(P)* и *tetB(P)*. Белок, кодируемый геном *tetA(P)*, служит активной тетрациклиновой “помпой” [15]. Резистентность к β -лактамам наиболее часто связана с продукцией β -лактамаз [8].

β -Лактамазы анаэробных бактерий. Продукция β -лактамаз сравнительно часто наблюдается в группе *Bacteroides*. Первая β -лактамаза *B. fragilis* описана в 1973 г. J.D. Anderson и R.V. Sykes [16]. Выделенный фермент являлся неиндуцибельной цефалоспориной, которая обуславливала высокий уровень устойчивости к β -лактамам. В. Olsson и соавт. сообщили, что 90% из 231 исследованных штаммов *B. fragilis* продуцировали β -лактамазы [17].

К. Sato и соавт. описали β -лактамазу, выделенную у штамма *B. fragilis*, которая разрушала многие цефалоспорины, включая цефуоксим [18]. I. Brook и соавт. обнаружили, что 53% штаммов *Bacteroides* spp., выделенных у детей, вырабатывали β -лактамазы [19]. По сообщению А. Heimdahl и соавт. [20], 42% исследованных пациентов, лечившихся пенициллинами, являлись носителями штаммов *Bacteroides*, продуцирующих β -лактамазы.

По современным данным, на основании теста гидролиза нитроцефина продукция β -лактамаз наблюдается у штаммов: *B. fragilis* (75–100%), *Bacteroides ovatus* (90–100%), *Bacteroides vulgatus* (до 100%), *Bacteroides thetaiotaomicron* (91–100%) и *Bacteroides distasonis* (58–85%). Наряду с β -лактамазопродуцирующими штаммами группы *Bacteroides* другие анаэробные грамотрицательные палочки родов *Prevotella*, *Porphyromonas* и *Fusobacterium* все чаще вырабатывают β -лактамазы.

Частота продукции β -лактамаз у штаммов родов *Prevotella* и *Porphyromonas* составляет 40–60%, у фузобактерий – 5–10%, преимущественно у *F. nucleatum*, а также у штаммов *Fusobacterium mortiferum*

[21–23]. Среди клостридий синтез β -лактамаз выявлен у *Clostridium butyricum*, *Clostridium clostridioforme* и *Clostridium ramosum* [24–26].

Субстратный профиль β -лактамаз. Большинство β -лактамаз, продуцируемых бактериями группы *B. fragilis*, относятся к цефалоспориномам, то есть они разрушают цефалоспорины более интенсивно, чем пенициллины [27]. Описаны “чистая” пенициллиназа у *B. fragilis* [28] и фермент, гидролизующий как пенициллин, так и цефалоспорин у *B. bivius* [29]. Сообщалось также об обнаружении у штаммов *B. fragilis* ферментов, разрушающих имипенем [30]. Большинство β -лактамаз *F. nucleatum* являются пенициллиназами [31]. Т. Kesado и соавт. описали β -лактамазу у штамма *C. butyricum*, которая гидролизовала бензилпенициллин более эффективно, чем другие исследованные β -лактамазы [25].

Ингибиторы β -лактамаз. Большинство β -лактамаз бактерий группы *B. fragilis* чувствительны к клоксациллину, клавулановой кислоте, сульбактаму, тазобактаму и *p*-хлорртутьбензоату. Ферменты фузобактерий ингибируются клавулановой кислотой, сульбактамом и тазобактамом. В отношении β -лактамаз *C. butyricum* эффективны клавулановая кислота, сульбактам, тазобактам и *p*-хлорртутьбензоат [25, 32].

Изоэлектрические точки β -лактамаз штаммов *B. fragilis* находятся в кислотном диапазоне pH 4,3–5,6 [17, 30]. Ферменты *F. nucleatum* имеют изоэлектрические точки в пределах 4,8 [31], а ферменты *C. butyricum* – 4,4 [25].

Молекулярная масса β -лактамаз, продуцируемых *B. fragilis*, составляет 26 500–41 500 Д, *C. butyricum* – 32 000–80 000, а *F. nucleatum* – 21 000–26 000 [8].

Антимикробные препараты

β -Лактамные антибиотики. Бензилпенициллин остается препаратом выбора при лечении анаэробных инфекций, вызванных β -лактамазонегативными бактериями. К ним относятся пептострептококки, большинство клостридий, неспорообразующие анаэробные грамположительные и некоторые грамотрицательные палочки. Бактерии группы *B. fragilis* устойчивы к пенициллинам, а большинство других анаэробных грамотрицательных палочек все чаще приобретают устойчивость к пенициллинам. К числу последних относятся *Fusobacterium* spp., пигментообразующие представители рода *Prevotella* и *Porphyromonas* spp., *Prevotella bivia* и *Prevotella disiens*, *Bilophila wadsworthia* и *Bacteroides splanchnicus*. Некоторые клостридии также вырабатывают β -лактамазы [33].

Комбинации ингибиторов β -лактамаз (клавулановая кислота, сульбактам или тазобактам) и β -лактаманного антибиотика (ампициллин, амоксициллин, тикарциллин или пиперациллин) активны в отношении большинства β -лактамазопродуцирующих штаммов.

B. fragilis, *Prevotella* spp. и *Porphyromonas* spp. устойчивы к цефалоспорином I поколения в результате продукции цефалоспориноаз. Цефокситин является наиболее активным цефалоспорином в отношении группы *B. fragilis*, хотя 5–15% штаммов являются резистентными.

Карбапенемы (имипенем, меропенем, биापенем) отличаются очень высокой активностью против широкого спектра аэробов и анаэробов [33].

Клиндамицин является представителем группы линкосамидов, которые по химической структуре близки к макролидным антибиотикам. В отношении чувствительных микроорганизмов, таких, как *B. fragilis*, клиндамицин *in vitro* проявляет бактерицидную активность [34].

Метронидазол принадлежит к классу нитроимидазолов, к которому также относятся тинидазол и орнидазол. Метронидазол рассматривается как “золотой стандарт” при лечении большинства анаэробных инфекций, с которым сравнивают другие антибиотики, проявляющие антианаэробную активность. В первую очередь это связано с быстрым уничтожением *Bacteroides* spp. и низкой частотой устойчивости.

Механизм действия данного препарата включает 4 фазы:

- 1) проникновение в бактериальную клетку;
- 2) освобождение нитрогруппы;
- 3) цитотоксическое действие редуцированного вещества;
- 4) освобождение конечных неактивных продуктов.

Ключевой компонент бактерицидного действия метронидазола – образование окислительно-восстановительных промежуточных внутриклеточных метаболитов. Внутриклеточными мишенями для этих веществ могут быть РНК, ДНК или клеточные белки бактерий [35].

Хлорамфеникол является антибиотиком широкого спектра действия, продуцируемым различными *Streptomyces* spp. [34].

Проведенные исследования

М. Caseres и соавт. исследовали антибиотикорезистентность анаэробной микрофлоры человека [36]. Активность бензилпенициллина, пиперациллина, цефалотина, цефокситина, имипенема, клиндамицина, метронидазола и хлорамфеникола оце-

нивалась *in vitro* в отношении 95 штаммов *Clostridium* spp., 72 штаммов *Fusobacterium* spp. и 296 штаммов *Bacteroides* spp., выделенных из слюны и кала пациентов, получавших различную антибактериальную терапию в Швеции и Никарагуа в 1998 г.

Наиболее активными препаратами были метронидазол, имипенем и хлорамфеникол. Клиндамицин был также активен в отношении большинства штаммов.

18 штаммов *Bacteroides* spp., выделенных в Никарагуа, проявляли устойчивость к бензилпенициллину (МПК – 2048 мг/л), пиперациллину (МПК >4096 мг/л) и цефалотину (МПК₉₀ – 512 мг/л). Два штамма *Bacteroides* spp., выделенных в Швеции, были резистентны к бензилпенициллину (МПК – 2048 мг/л), пиперациллину (МПК >4096 мг/л) и цефалотину (МПК₉₀ – 128 мг/л). 21 изолят *Fusobacterium* spp. из Никарагуа был устойчив к бензилпенициллину и пиперациллину (МПК – 64 мг/л), тогда как штаммы из Швеции были чувствительны к тестированным антибиотикам. Один штамм *Clostridium* spp., выделенный в Никарагуа, был устойчив к бензилпенициллину и пиперациллину (МПК – 1024 мг/л). Продукция β -лактамаз обнаружена у 56,7% штаммов *Fusobacterium* spp., у 67,8% штаммов *Bacteroides* spp. и 2% штаммов *Clostridium* spp., изолированных в Никарагуа, по сравнению с 14,2, 54,1 и 8,8% соответственно выделенных в Швеции.

В другом исследовании в Никарагуа оценивалась чувствительность анаэробов кишечника детей как здоровых, так и больных, получавших антибактериальную терапию [37]. В исследовании были включены штаммы, выделенные у здоровых детей, не получавших антимикробной химиотерапии, с момента рождения и в возрасте 1, 3, 6, 12, 18 и 24 мес, и у детей такого же возраста, которым назначались распространенные в Никарагуа антибиотики. У 67 здоровых и 94 детей, получавших антибиотики, выделены 947 штаммов *Bacteroides* spp. и 745 штаммов *Clostridium* spp.

Минимальную подавляющую концентрацию ампициллина, цефокситина, имипенема, клиндамицина, метронидазола и хлорамфеникола определяли с помощью разведения в агаре, продукцию β -лактамаз – с помощью дисков с нитроцефином. Не обнаружено штаммов, устойчивых к имипенему, клиндамицину, метронидазолу или хлорамфениколу.

В группе детей, получавших антимикробную терапию, наблюдалось постепенное снижение чувствительности *Bacteroides* spp. к ампициллину и цефокситину при достижении 24 мес с 88 до 78% и с 94 до 81% соответственно. У здоровых детей в возрасте до 12 мес все штаммы *Bacteroides* были чувст-

вительны к цефокситину по сравнению с 92% у детей старше 1 года. Чувствительность штаммов *Bacteroides* к ампициллину у этих же детей в возрасте 1 мес составляла 91%, в 24 мес – 86%.

Все штаммы *Clostridium* были чувствительны к ампициллину и цефокситину. Продукция β -лактамаз была обнаружена только у штаммов *Bacteroides* spp. Эти данные свидетельствуют, что рациональное использование антибиотиков абсолютно необходимо для предупреждения развития резистентности у анаэробов.

М. Сaceres и соавт. исследовали также чувствительность анаэробов и аэробов, выделенных у пациентов со смешанными инфекциями в Никарагуа [38]. Всего изучено 241 штамм анаэробов и 227 штаммов аэробов, выделенных у 136 пациентов с кишечными инфекциями и 49 – с некишечными. Активность ампициллина, бензилпенициллина, цефокситина, имипенема, клиндамицина, метронидазола, хлорамфеникола, гентамицина, метициллина и ванкомицина определяли методом разведения в агаре. У всех штаммов исследовали продукцию β -лактамаз.

Имипенем, метронидазол и хлорамфеникол были наиболее активными в отношении анаэробов и несколько превосходили клиндамицин. Только бактерии группы *B. fragilis* оказались менее чувствительными к клиндамицину (МПК₉₀ – 8 мг/л).

Ампициллин был наименее активным β -лактамом в отношении большинства *B. fragilis* (МПК₉₀ >1024 мг/л), а также *E. coli* (МПК₉₀ >1024 мг/л).

Хлорамфеникол проявил меньшую активность против грамотрицательных аэробов, тогда как гентамицин отличался хорошей активностью в отношении тестированных аэробных бактерий, за исключением *E. coli* и *Pseudomonas* spp. Среди грамположительных аэробов и анаэробов *Staphylococcus aureus* были наименее чувствительными к β -лактамам – 29% метициллинорезистентных штаммов. Не обнаружено ванкомицинорезистентных штаммов *S. aureus*. Наблюдалась четкая корреляция между продукцией β -лактамаз и устойчивостью к β -лактамам.

Распространенность антимикробной устойчивости энтеротоксигенных *B. fragilis* у детей с диареей в Никарагуа недавно исследовали М. Сaceres и соавт. [39]. Энтеротоксигенные *B. fragilis* (ЕТВФ) вызывают диарею, которая обуславливает заболеваемость и летальность у детей в развивающихся странах. Фекалии исследованы у 106 детей в возрасте до 10 лет с диареей и у 60 детей того же возраста без диареи (в качестве контрольной группы).

Для обнаружения ЕТВФ использовали иммуномагнитное разделение (IMS) в комбинации с полимеразной цепной реакцией (IMS-PCR) и метод

НТ29/С1. ЕТВФ обнаружена у 9 (8,4%) детей с диареей, чаще у детей в возрасте до 1 года (11,1%). Возраст всех детей с ЕТВФ был меньше 2 лет. ЕТВФ получена в монокультуре у 5 (55,5%) из 9 детей.

Для определения чувствительности выделенных штаммов ЕТВФ использовали методику разведения в агаре. Все штаммы были резистентны к ампициллину (диапазон МПК – 8–1024 мг/л). Один штамм был также устойчив к клиндамицину (МПК – 256 мг/л). Все другие антибиотики сохраняли активность (МПК₅₀ и МПК₉₀: 8 и 16 мг/л – для цефокситина, 0,004 и 0,008 мг/л – для имипенема, 0,5 и 0,5 мг/л – для клиндамицина и метронидазола, 2 и 4 мг/л – для хлорамфеникола). Большинство (77%) ЕТВФ вырабатывали β -лактамазы.

Распространение резистентности к различным антимикробным препаратам. Бензилпенициллин, цефалотин и пиперациллин были наименее активными против *Bacteroides* spp., изолированных в Никарагуа. Не обнаружено штаммов, устойчивых к имипенему, метронидазолу и хлорамфениколу.

Ампициллино- и цефокситинорезистентные *Bacteroides* spp. преимущественно выделялись у детей, получавших антимикробную терапию. *Bacteroides* spp., устойчивые к ампициллину, встречались у детей в возрасте до 1 мес (12% устойчивых). Частота резистентности увеличивалась с возрастом, достигая 22% в 6 и 24 мес.

Ампициллинорезистентные штаммы, выделенные у здоровых детей, наблюдались реже. У детей до 3 мес жизни резистентных штаммов *Bacteroides* spp. не выделено. Частота выделения ампициллинорезистентных штаммов *Bacteroides* spp. у здоровых детей варьировала от 9 до 14%. Резистентность *Bacteroides* spp. к цефокситину составляла 6–19% у детей в возрасте 1–24 мес, получавших антибиотики.

Цефокситин был более активен, чем ампициллин, в отношении *Bacteroides* spp., изолированных у здоровых детей. Цефокситинорезистентные бактерии выделялись только у детей в возрасте 18–24 мес (8% резистентность). Резистентных штаммов *Clostridium* spp. не обнаружено.

При смешанных инфекциях резистентные штаммы выделены только в группе *B. fragilis* и среди *Fusobacterium* spp. Штаммы *B. fragilis* проявляли большую резистентность к ампициллину, цефокситину и клиндамицину, тогда как *Fusobacterium* spp. в основном были устойчивы к ампициллину и лишь некоторые штаммы – и к цефокситину. Все другие изолированные анаэробы были чувствительны к антибиотикам. У анаэробных бактерий не обнаружено устойчивости к имипенему или хлорамфениколу.

Все энтеротоксигенные штаммы *B. fragilis* были устойчивы к ампициллину, один штамм оказался

устойчивым также к клиндамицину (МПК – 256 мг/л).

Продукция β -лактамаз. Частыми продуцентами β -лактамаз у анаэробов являлись представители группы *Bacteroides* (69%), выделенные из нормальной микрофлоры, а также рода *Fusobacterium*, изолированные у взрослых пациентов из Никарагуа, получавших антибиотики (57%).

β -Лактамазоположительные штаммы *Bacteroides* и *Fusobacterium* обнаружены и в Швеции (54 и 14% соответственно). Кроме того, продукцию β -лактамаз наблюдали и у 19% штаммов *Bacteroides* spp., выделенных у детей, получавших антимикробную терапию, по сравнению с 9% в контрольной группе. β -Лактамазоположительные штаммы *Clostridium* spp. выделены только из нормальной микрофлоры взрослых в Никарагуа (2%) и Швеции (9%). Наиболее часто продукция β -лактамаз выявлялась у бактерий группы *B. fragilis*, полученных у пациентов с анаэробными инфекциями (80%, включая энтеротоксигенные штаммы *B. fragilis*). *Fusobacterium* spp., изолированные у этих же пациентов, также часто вырабатывали β -лактамазы (56%). Среди штаммов, полученных из очагов анаэробной инфекции, только *Bacteroides* spp. и *Fusobacterium* spp. вырабатывали β -лактамазы.

Распространение анаэробных микроорганизмов при инфекциях. В исследование были включены 219 пациентов с различными инфекциями. Анаэробные бактерии были обнаружены в 138 (75%) из 185 образцов. Смешанные инфекции, обусловленные аэробами и анаэробами, составили 122 (66%) из 185. Наиболее частыми анаэробами являлись бактерии группы *B. fragilis* (110 пациентов, или 59%). Наиболее распространенной ассоциацией возбудителей при кишечных инфекциях были *B. fragilis* и *E. coli* (29%).

Энтеротоксигенные штаммы *B. fragilis* обнаружены только у детей с диареей (8,4%). Чаще они выделялись у детей в возрасте до 1 года (11,1%) по сравнению с 4,6% у детей старше 1 года. Энтеротоксигенные штаммы *B. fragilis* были единственными энтеропатогенами у 5 (55,5%) детей.

Cryptosporidium spp. или ротавирусы обнаружены в ассоциации с ЕТВФ у 4 детей. *Giardia lamblia* являлась наиболее частым энтеропатогеном в обеих группах (у детей с диареей – 13,2% и у “бессимптомных” детей – 18,3%). *E. coli* (энтеропатогенные и энтеротоксигенные) и ротавирусы обнаружены у 11,3% детей с диареей.

Аспекты чувствительность к антимикробным препаратам анаэробных бактерий. Анаэробные бактерии имеют большое значение при смешанных инфекциях и представляют существен-

ную часть нормальной микрофлоры человека. Наиболее частыми анаэробами желудочно-кишечного тракта являются *Bacteroides* spp., *Clostridium* spp. и *Fusobacterium* spp.

Назначение антибактериальных препаратов – наиболее частая причина нарушения состава нормальной микрофлоры. Наряду с изменением микрофлоры антибиотики также могут способствовать появлению резистентных бактерий в ее составе [40]. Следует отметить, что штаммы *Bacteroides* spp. и *Fusobacterium* spp., выделенные у взрослых пациентов в Никарагуа, проявляли значительно большую резистентность, чем штаммы, выделенные у больных в Швеции.

Штаммы *Bacteroides* spp., устойчивые к ампициллину и цефокситину, также были изолированы из нормальной микрофлоры здоровых детей в возрасте до 2 лет в Никарагуа. Эти обстоятельства могут быть объяснены как результат влияния некоторых факторов, характерных для развивающихся стран, таких, как неправильное использование антибиотиков работниками здравоохранения и населением, а также низкое качество лекарственных средств [41].

В Никарагуа антибиотики могут приобретаться без назначения врача. Нерациональное применение в стране антибиотиков стало обыденным явлением. С другой стороны, Швеция является страной с развитой системой здравоохранения, где применение антибиотиков находится под жестким контролем. Резистентные штаммы, обнаруженные у здоровых детей в Никарагуа, отражают распространение резистентности в стационарах лечебных учреждений. Появление устойчивых бактерий кишечной микрофлоры у отдельных пациентов при антимикробной терапии может стать наиболее важным фактором распространения резистентных штаммов среди других пациентов в условиях стационара [42].

Естественная микрофлора является источником большинства анаэробов, вызывающих инфекции у человека. Исключения представляют *Clostridium tetani*, *Clostridium botulinum* и *Clostridium difficile* [4]. Все типы инфекций, развивающиеся в организме, могут быть вызваны анаэробами. И ни один орган или ткань человека не имеет врожденного иммунитета против анаэробных инфекций.

Большинство анаэробных инфекций обусловливается как анаэробными, так и аэробными микроорганизмами. Наиболее часто выделяемыми анаэробами являются представители группы *B. fragilis*, (особенно *B. fragilis*), *Prevotella* spp., *Porphyromonas* spp., *F. nucleatum*, *Peptostreptococcus* spp., *C. perfringens* и *C. ramosum* [1].

В Никарагуа штаммы группы *B. fragilis* были обнаружены в 59% случаев из 185 положительных

клинических образцов, выделенных у пациентов с различными инфекционными заболеваниями. Штаммы *B. fragilis* часто обнаруживались в ассоциации с грамотрицательными аэробами, особенно *E. coli*.

Fusobacterium spp., *Clostridium* spp. и *Peptostreptococcus* spp. также выделялись в сочетании с аэробными бактериями (66%). Штаммы *B. fragilis* в виде монокультуры или в смешанных культурах чаще наблюдались при кишечных инфекциях. Эти данные совпадают с сообщением из Турции [43].

Развитие устойчивости к антибиотикам у анаэробных бактерий значительно влияет на выбор антимикробных препаратов для эмпирической терапии. В настоящих исследованиях у пациентов с различными инфекциями были обнаружены штаммы *B. fragilis*, устойчивые к ампициллину (56%), клиндамицину (25,5%), цефокситину (28%) и метронидазолу (3%), а также *Fusobacterium* spp., резистентные к ампициллину (44%) и цефокситину (12%). Все энтеротоксигенные штаммы *B. fragilis*, выделенные у детей с диареей, были устойчивы к ампициллину, а один штамм – к клиндамицину.

Все чаще сообщается о появлении устойчивости анаэробов к различным антибиотикам, особенно к β -лактамам, клиндамицину, макролидам, тетрациклинам и нитроимидазолам [7]. В данном исследовании не обнаружено устойчивости к хлорамфениколу и имипенему. *Clostridium* spp., *Peptostreptococcus* spp., *Propionibacterium* spp. и другие грамположительные анаэробные неспорообразующие палочки были чувствительны ко всем тестируемым антибиотикам.

Выработка β -лактамаз является основным механизмом устойчивости к β -лактамам антибиотикам. Они являются ферментами, разрушающими (гидролизующими) β -лактамные препараты [8, 24, 27, 44, 45]. Мы обнаружили, что грамотрицательные аэробы и анаэробы часто продуцируют β -лактамазы. Количество штаммов, вырабатывающих β -лактамазы, варьировало от 70% у грамотрицательных анаэробов до 80% у грамотрицательных аэробов. Анаэробные грамположительные бактерии крайне редко вырабатывали β -лактамазы.

Незначительное количество *Clostridium* spp., выделенных из нормальной микрофлоры пациентов,

получавших антимикробную терапию в Никарагуа и Швеции, продуцировали β -лактамазы – 2 и 9% соответственно. Профиль резистентности к ампициллину, бензилпенициллину, цефалотину и цефокситину у *Bacteroides* spp., штаммов группы *B. fragilis* и *Fusobacterium* spp. коррелировал с профилем вырабатываемых β -лактамаз.

Нормальная микрофлора человека является четко сбалансированной экосистемой, которая может быть нарушена под влиянием нескольких факторов. Один из наиболее важных факторов – назначение антимикробных препаратов. Нарушая состав микрофлоры, они повышают восприимчивость макроорганизма к суперинфекции комменсалами, способствует развитию резистентных штаммов из бактерий нормальной микрофлоры.

Появление устойчивых штаммов в кишечной микрофлоре во время антибиотикотерапии может стать важным фактором распространения резистентных бактерий среди пациентов в условиях стационара. Нормальная микрофлора считается одним из наиболее значимых защитных механизмов организма. Однако она также является эндогенным источником патогенных бактерий. Учитывая, что анаэробы представляют наиболее распространенную группу, входящую в состав нормальной микрофлоры, можно предположить, что ни один орган или ни одна ткань человека не имеет иммунитета к этим микроорганизмам. Анаэробные инфекции возникают довольно часто, и большинство из них представляют собой смешанные инфекции, включающие как анаэробные, так и аэробные бактерии.

Анаэробные инфекции отличаются широкой распространенностью и значительной летальностью заболевших. В связи с этим эмпирическая терапия должна начинаться как можно раньше. Однако часто для их успешного лечения необходимо хирургическое вмешательство, так как изолированное назначение антибиотиков может оказаться недостаточно эффективным.

Выбор оптимальной терапии может быть основан на опубликованных данных о чувствительности. Тем не менее, учитывая различную устойчивость в различных регионах и даже в больницах, следует периодически изучать распространение резистентности анаэробов в отдельных стационарах и выявлять появившиеся устойчивые штаммы бактерий.

Литература

1. Finegold S.M. Anaerobic infections in humans: An overview. *Anaerobe* 1995;1:3-9.
2. Nord C.E. Treatment of intraabdominal infections.

World wide clinical trials. *Infect Dis Clin Pract* 1995; 4:S17-25.

3. Brismar B., Nord C.E. Monobactams and carbapenems for treatment of intraabdominal infections. *Infection* 1999;27:136-47.

4. Olsen I., Solberg C.O., Finegold S.M. A primer on anaerobic bacteria and anaerobic infections for the uninitiated. *Infection* 1999;27:159-65.
5. Nord C.E. Use of newer quinolones for the treatment of intraabdominal infections: Focus on clinafloxacin. *Infection* 1999;27:166-72.
6. Gorbach S.L. Antibiotic treatment of anaerobic infections. *Clin Infect Dis* 1994;18:305-10.
7. Rasmussen B.A., Bush K., Tally F.P. Antimicrobial resistance in anaerobes. *J Infect Dis* 1997;24:110-20.
8. Hedberg M., Nord C.E. Beta-lactam resistance in anaerobic bacteria. *J Chemother* 1996;8:3-16.
9. Garcia-Rodriguez J.A., Garcia-Sanchez J.E., Munoz-Bellido J.L. Antimicrobial resistance in anaerobic bacteria: Current situation. *Anaerobe* 1995;1:69-80.
10. Lubbe M.M., Botha P.L., Chalkley L.Y. Comparative activity of eighteen antimicrobial agents against anaerobic bacteria isolated in South Africa. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 1999;18:46-54.
11. Wexler H.M., Molitoris E., Molitoris D., Finegold S.M. In vitro activity of levofloxacin against a selected group of anaerobic bacteria isolated from skin and soft tissue infections. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:984-6.
12. Zwolska Z., Jezierska-Anczukow A., Filczak K., et al. A Polish multicenter survey of Antimicrobial susceptibility and prevalence of β -lactamase productions among bacterial pathogens isolated from hospitalized and ambulatory patients. *Pol Merkuriusz Lek* 1998;4:241-6.
13. Doern G.V., Johns R.N., Pfaller M.A., Kugler K.C., Beach M.L. The SENTRY Study Group (North America). Bacterial pathogens isolated from patients with skin and soft tissue infections: Frequency of occurrence and antimicrobial susceptibility patterns from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (United States and Canada, 1997). *Diagn Microbiol Infect Dis* 1999;34:65-72.
14. Wise R. A review of the mechanisms of action and resistance of antimicrobial agents. *Can resp J* 1999;6:20A-2A.
15. Sloan J., Murry L.M., Luras D., Levy S.B., Rood J.L. The *Clostridium perfringens* TetP determinant comprises two overlapping genes: tet(P), which mediates active tetracycline efflux, and tetB(P), which is related to the ribosomal protection family of tetracycline-resistance determinants. *Mol Microbiol* 1994;11:403-15.
16. Anderson J.D., Sykes R.B. Characterization of a β -lactamase obtained from a strain of *Bacteroides fragilis* resistant to beta-lactam antibiotics. *J Med Microbiol* 1973;6:201-6.
17. Olsson B., Nord C.E., Wadstrom T. Formation of β -lactamase in *Bacteroides fragilis*: Cell bound and extracellular activity. *Antimicrob Agents Chemother* 1976;9:727-35.
18. Sato K., Inoue M., Mitsuhashi S. Activity of β -lactamase produced by *Bacteroides fragilis* against newly introduced cephalosporins. *Antimicrob Agents Chemother* 1980;17:736-7.
19. Brook I., Calhoun L., Yocum P. β -Lactamase-producing isolates of *Bacteroides* species from children. *Antimicrob Agents Chemother* 1980;18:164-6.
20. Heimdahl A., Von Konow L., Nord C.E. β -Lactamase producing *Bacteroides* species in the oral cavity in relation to penicillin therapy. *J Antimicrob Chemother* 1981;8:225-9.
21. Ednie L.M., Jacobs M.R., Appelbaum P.C. Activities of gatifloxacin compared to those of seven other agents against anaerobic organisms. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:2459-62.
22. Hoellman D.B., Spangler S.K., Jacobs M.R., Appelbaum P.C. In vitro activities of cefminox against anaerobic bacteria compared with those of nine other compounds. *Antimicrob Agents Chemother* 1998;42:495-501.
23. Nyfors S., Kononen E., Takala A., Jousimies-Somer H. β -Lactamase production by oral anaerobic Gram-negative species in infants in relation to previous antimicrobial therapy. *Antimicrob Agents Chemother* 1999;43:1591-4.
24. Nord C.E. Mechanisms of beta-lactamase resistance in anaerobic bacteria. *Rev Infect Dis* 1986;8:543-7.
25. Kesado T., Lindqvist L., Hedberg M., Tuner K., Nord C.E. Purification and characterization of a new β -lactamase from *Clostridium butyricum*. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:1302-7.
26. Hedberg M., Lindqvist L., Tuner K., Nord C.E. Effect of clavulanic acid, sulbactam and tazobactam on three different β -lactamase from *Bacteroides uniformis*, *Clostridium butyricum* and *Fusobacterium nucleatum*. *J Antimicrob Chemother* 1992;30:17-25.
27. Nord C.E., Hedberg M. Resistance to beta-lactam antibiotics in anaerobic bacteria. *Rev Infect Dis* 1990;12:231-3.
28. Sato K., Matsuura Y., Inoue M., Mitsuhashi S. Properties of a new penicillinase type produced by *Bacteroides fragilis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1982;22:579-84.
29. Lacroix J.M., Lamothe F., Malaquin F. Role of *Bacteroides bivius* β -lactamase in beta-lactam susceptibility. *Antimicrob Agents Chemother* 1984;26:694-8.
30. Hedberg M., Edlund C., Lindqvist L., Rylander M., Nord C.E. Purification and characterization of a new imipenem hydrolysing metallo- β -lactamase from *Bacteroides fragilis*. *J Antimicrob Chemother* 1992;29:105-13.
31. Tuner K., Lindqvist L., Nord C.E. Purification and properties of a novel β -lactamase from *Fusobacterium nucleatum*. *Antimicrob Agents Chemother* 1985;27:943-7.
32. Sato K., Matsuura Y., Miyata M., Inoue M., Mitsuhashi S. Characterization of cephalosporinases from *Bacteroides fragilis*, *Bacteroides thetaiotaomicron* and *Bacteroides vulgatus*. *J Antibiot* 1983;36:76-85.
33. Brook I. Anaerobic infections. *Med Microbiol* 1999;10:137-53.
34. Stratton C.W. Mechanisms of action for antimicrobial agents: General principles and mechanisms for selected classes of antibiotics. In: Lorian V., ed. *Antibiotics in laboratory medicine*, 4th ed. Williams & Wilkins; 1996. p. 579-603.
35. Freeman C.D., Klutman N.E., Lamp K.C. Metronidazole: A therapeutic review and update. *Drugs* 1997;54:679-780.
36. Caceres M., Hedberg M., Lindqvist L., Nord C.E. Purification and characterization of a beta-lactamase from *Bacteroides distasonis*. *J Chemother* 1991;3 (Suppl): 131-4.
37. Caceres M., Carera E., Palmgren A.-C., Nord C.E. Antimicrobial susceptibility of anaerobic bacteria from the intestinal microflora of healthy children and

- antimicrobial-treated children in Nicaragua. *Span J Chemother* 1998;3:221-8.
38. Caceres M., Carera E., Palma A., Berrios G., Weintraub A., Nord C.E. Antimicrobial susceptibility of anaerobic and aerobic bacteria isolated from mixed infections in Nicaragua. *Span J Chemother* 1999;12:332-9.
39. Caceres M., Zhang G., Weintraub A., Nord C.E. Prevalence and antimicrobial susceptibility of enterotoxigenic *Bacteroides fragilis* in children with diarrhea in Nicaragua. *Anaerobe* 2000;6:143-8.
40. Edlund C., Nord C.E. Ecological impact of antimicrobial agents on human intestinal microflora. *Alpe Adria Microbiol J* 1993;3:137-64.
41. Okeke I.N., Lamikanra A., Edelman R. Socioeconomic and behavioral factors seeding to acquired bacterial resistance to antibiotics in developing countries. *Emerg Infect Dis* 1999;5:18-27.
42. Stark C., Edlund C., Nord C.E. Ecological balance and disturbance in the oropharyngeal and gastrointestinal microflora. *Span J Chemother* 1996;4:250-9.
43. Durmaz B., Durmas R., Tastekin N. Evaluation of culture results of specimens from patients with suspected anaerobic infection. *Microbiologica* 1999;22:155-9.
44. Bush K. Characterization of β -lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 1989;33:259-63.
45. Medeiros A.A. Evolution and dissemination of β -lactamases accelerated by generations of β -lactam antibiotics. *Clin Infect Dis* 1997;24:S10-45.