

(98)

Antybiotykooporność szczepów bakteryjnych worka spojówkowego u dzieci

Antibiotic resistance of conjunctival bacterial flora in children

Marek E. Prost¹, Katarzyna Semczuk²

¹ Z Kliniki Okulistycznej Wojskowego Instytutu Medycyny Lotniczej w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Marek Prost

² Z Zakładu Mikrobiologii i Immunologii Klinicznej Instytutu „Pomnika Centrum Zdrowia Dziecka” w Warszawie

Kierownik: prof. dr hab. n. med. Danuta Dzierżanowska

Summary: Purpose: To evaluate conjunctival bacterial flora in children and its resistance to the most frequently antibiotics used by the ophthalmologists in Poland.

Material and methods: Bacterial conjunctival cultures obtained in 593 children without ocular infections.

Results and conclusions: Pathogenic bacterial isolates were identified in 26.3% children. Most frequently isolated were Gram-positive cocci (70.5%). Significant resistance of Gram-positive cocci to aminoglycosides (5% to 65%) was observed. Emerging resistance to fluoroquinolones, especially of coagulase-negative staphylococci (in 21%), was also observed.

Słowa kluczowe: flora bakteryjna worka spojówkowego, antybiotykooporność, zapalenie wnętrza gałki, zapalenie rogówki, dzieci.

Key words: conjunctival bacterial flora, antibiotic resistance, endophthalmitis, keratitis, children.

Bakterie znajdujące się w worku spojówkowym mogą być przyczyną zapaleń wnętrza gałki ocznej po zabiegach operacyjnych oraz zapaleń rogówki (np. po zabiegach chirurgii refrakcyjnej lub po pourazowym uszkodzeniu ciągłości nabłonka rogówki). Badania molekularne wykazały, że w 82% przypadków bakterie wyhodowane z aspiratów ciała szklistego u chorych z zapaleniem wnętrza gałki ocznej są genetycznie identyczne jak te, które stwierdza się w worku spojówkowym (1). Dlatego też przed operacjami lub też po urazie oka, aby zapobiec zakażeniu, miejscowo stosowane są antybiotyki. W związku z tym dla lekarza okulisty ważna jest znajomość flory bakteryjnej, jaka zazwyczaj znajduje się w worku spojówkowym, oraz wiedza, jaka jest jej wrażliwość na dostępne antybiotyki. Jest to bardzo ważne, ponieważ w chwili obecnej przed zabiegami operacyjnymi zazwyczaj nie przeprowadza się posiewów z worka spojówkowego.

Celami niniejszej pracy są ocena flory bakteryjnej w worku spojówkowym u dzieci oraz określenie wrażliwości tych bakterii na antybiotyki stosowane w okulistyce.

Materiał i metoda

W pracy poddano analizie wyniki badań bakteriologicznych wymazów z worka spojówkowego u 593 dzieci. Byli to pacjenci bez objawów zapalnych przedniego odcinka oka, zgłaszający się do Poradni Okulistycznej na badania dna oka, dobranie okularów, oraz chorzy przyjmowani na oddział w celu wykonania operacji zaćmy lub zęza. Przed pobraniem wymazu dzieci te nie otrzymywały kropli do oka. Były one uprzednio badane w celu wykluczenia zmian

zapalnych w obrębie powiek, dróg łzowych, spojówek i przedniego odcinka oka.

Wymaz z worka spojówkowego pobierano za pomocą bawełnianego aplikatora zestawu transportowego (Copan) i przesyłano bezpośrednio do laboratorium bakteriologicznego. Wymazy wysiewano na podłoża stałe tj. Columbia Agar, agar czekoladowy, McConkeya (Diagmed) oraz na bulion cukrowy (płynne podłoże namnażające – Biomed). Inkubację przeprowadzano w warunkach tlenowych i mikroaerofilnych przez 24 godziny. Po 24 godzinach przy braku wzrostu na podłożach stałych wysiewano podłoże płynne. Wrażliwość na antybiotyki oznaczano metodą dyfuzyjno-krażkową wg zaleceń NCCLS (National Committee for Clinical Laboratory standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; eleventh informational supplement, M100-S11. Wayne, PA: NCCLS; 2001) na podłożach Mueller-Hinton agar i Mueller-Hinton agar z dodatkiem krwi baraniej (Diagmed). Identyfikację przeprowadzano, stosując klasyczne metody bakteriologiczne. Do badań wybrano następujące antybiotyki: ofloksacynę, norfloksacynę, tobramycynę, gentamycynę, amikacynę, neomycynę i erytromycynę, ponieważ są to najczęściej stosowane krople lub maści antybiotykowe przez okulistów w Polsce (badania rozpoczęto w 2001 r.).

Staphylococcus koag. (-) diagnozowany był tylko wówczas, gdy uzyskiwano bardzo liczny wzrost po 24. godzinie inkubacji. W przypadku pojedynczego wzrostu uznawany był za zanieczyszczenie pochodzące ze skóry.

Wyhodowany drobnoustrój Bacterial isolates	Częstość występowania (w %) Frequency of occurrence (%)
<i>Staphylococcus aureus</i>	25,6
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	23,7
<i>Staphylococcus koag. (-)</i>	15,4
<i>Haemophilus influenzae</i>	14,1
Pał. <i>Enterobacteriaceae</i>	8,3
<i>Streptococcus viridans</i>	5,8
<i>Moraxella catarrhalis</i>	3,9
<i>Enterococcus faecalis</i>	1,9
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1,3

Tab. I. Częstość występowania wyhodowanych drobnoustrojów w worku spojówkowym N=156.

Tab. I. Percentage of bacterial isolates from the conjunctival sac. N=156.

Wyniki

Pozytywny wynik posiewu z worka spojówkowego uzyskano u 156 z 593 badanych dzieci (26,3%). Częstość występowania różnych drobnoustrojów przedstawiono w tabeli I. Najczęściej stwierdzanymi bakteriami były ziarniaki gram (+). Różne gatunki ziarniaków stwierdzono u 70,5% dzieci z dodatnimi posiewami. Najczęściej były to *Staphylococcus aureus* (25,6%), *Streptococcus pneumoniae* (23,7%) oraz *Staphylococcus koag. (-)* (15,4%). O wiele rzadziej stwierdzano w worku spojówkowym bakterie Gram (-). Najczęściej były to pałeczki *Haemophilus influenzae* (14,1%) i pałeczki *Enterobacteriaceae* (8,3%), rzadziej natomiast dwoinki *Moraxella catarrhalis* (3,9%). Bardzo rzadko izolowano również Gram (+) ziarniaki – *Enterococcus faecalis* (1,9%). Należy zwrócić uwagę, że u 1,3% dzieci z pozytywnymi wynikami posiewów bakteriologicznych stwierdzono pałeczki *Pseudomonas aeruginosa*, które powodują najcięższe stany zapalne w obrębie gałki ocznej.

Badania wrażliwości stwierdzanych w worku spojówkowym drobnoustrojów na antybiotyki wykazały, że najbardziej skutecznymi lekami są fluorochinolony (tabela II). Mniejszą skuteczność wykazywała erytromycyna. Antybiotykooporność była największa w przypadku aminoglikozydów, przy czym nie istniały większe różnice pomiędzy poszczególnymi lekami w tej grupie.

Największą oporność na działanie antybiotyków wykazywały *Staphylococcus koag. (-)* i *Streptococcus pneumoniae*.

Dyskusja

Wrzaz z coraz szerszym stosowaniem określonego antybiotyku zaczyna rozwijać się oporność bakterii na dany lek. W okulistyce grupą antybiotyków, która jeszcze do niedawna uważana była za najbardziej skuteczną, były fluorochinolony. W ostatnim okresie pojawiły się jednak doniesienia o coraz większej antybiotykooporności różnych bakterii na leki z tej grupy (2-7). Np. wg Goldstein i wsp. liczba wyhodowanych z oczu z zapaleniami rogówki szczepów *Staphylococcus aureus* opornych na działanie ofloksacyny i ciprofloksacyny zwiększyła się z ok. 5% w 1993 roku do 35% w 1997 roku (5), wg zaś Alexandrakisa i wsp. z 11% w 1990 roku do 28% w 1998 roku (2). Ponieważ fluorochinolony są w chwili obecnej bardzo szeroko stosowane w okulistyce, fakt ten stawia pod znakiem zapytania skuteczność przedoperacyjnej profilaktyki zapalenia wnętrza gałki ocznej oraz leczenie zapalenia rogówki.

W przebadanej przez nas grupie dzieci w 26,3% przypadków stwierdzono obecność bakterii w worku spojówkowym. Podawany w piśmiennictwie procent pozytywnych posiewów z worka spojówkowego jest bardzo różny: od 11,7% do 82% (7-12). Prawie wszystkie stwierdzone szczepy bakteryjne były drobnoustrojami, które mogą powodować stany zapalne wnętrza gałki ocznej oraz rogówki. Najczęściej izolowano *Staphylococcus aureus* (25,6%) oraz *Streptococcus pneumoniae* (23,7%), nieco rzadziej zaś *Staphylococcus koag. (-)* (15,4%) i *Haemophilus influenzae* (14,1%). Porównując nasze wyniki z rezultatami Ta i wsp. (12), którzy również w podobnym okresie czasu badali florę bakteryjną worka spojówkowego u zdrowych osób, można powiedzieć, że w naszym materiale o wiele rzadziej stwierdzano *Staphylococcus koag. (-)*, natomiast częściej *Staphylococcus aureus*, *Streptococcus pneumoniae* i *Haemophilus influenzae*. W badaniach tych autorów najczęściej izolowanym drobnoustrojem był *Staphylococcus koag. (-)* (78%), natomiast *Staphylococcus aureus* – tylko w 5%, *Streptococcus* – w 3%, *Haemophilus influenzae* zaś był nieobecny (12).

Przeprowadzone badania wykazały, że grupą antybiotyków, która w chwili obecnej jest najbardziej skuteczna w profilaktyce lub leczeniu zakażeń bakteryjnych worka spojówkowego, są fluorochinolony (tabela II). Wszystkie bakterie Gram (-) wykazywały 100% wrażliwość na leki z tej grupy. Zjawisko antybiotykooporności zaczęło natomiast występować w grupie bakterii Gram (+). Część drobnoustrojów z tej grupy wykazywała nadal stuprocentową (*Staphylococcus aureus*) lub dużą (*Streptococcus pneumoniae*) wrażliwość na fluorochinolony. Natomiast 21% szczepów *Staphylococcus koag. (-)* i 11% szczepów *Streptococcus viridans* było odporne na działanie norfloksacyny i ofloksacyny. Wyniki podobnych badań jak nasze opublikowali ostatnio Ta i wsp. (12). Autorzy ci stwierdzili oporność na fluorochinolony w 29% szczepów *Staphylococcus aureus* i 15-16% szczepów *Staphylococcus koag. (-)* u pacjentów bez objawów zapalnych w worku spojówkowym (12). U chorych z zapaleniem rogówki oporność na fluorochinolony stwierdzono w 28% i 35% szczepów *Staphylococcus aureus* oraz w 0% i 38,9% szczepów *Staphylococcus koag. (-)* (2,5).

W przypadku aminoglikozydów oporność ziarniaków Gram (+) była zdecydowanie większa i wahała się od 5% do 65% (tabela II). Nie stwierdzono przy tym szczepów, które w 100% byłyby wrażliwe na działanie tych antybiotyków. Należy przy tym zaznaczyć, że aktywność aminoglikozydów wobec szczepów *Streptococcus* jest zdecydowanie mniejsza niż wobec innych Gram (+) bakterii (tabela II), co znajduje potwierdzenie w pracach innych autorów (12). W przypadku bakterii Gram (-) oporność na aminoglikozydy wahała się od 4% do 17%, przy czym nie stwierdzono występowania zjawiska oporności na te antybiotyki wśród szczepów *Pseudomonas aeruginosa*. Według Ta i wsp. oporność szczepów *Staphylococcus koag. (-)* na działanie gentamycyny, amikacyny i tobramycyny wynosiła tylko 1-4%, w przypadku *Staphylococcus aureus* wahała się od 0% do 29%, w przypadku zaś pałeczek Gram (-) – 22-25% (12). U chorych na zapalenie rogówki oporność szczepów *Staphylococcus aureus* na działanie tobramycyny i gentamycyny wynosiła 6%, szczepów Gram (-) zaś – 0% (2).

W naszym materiale zastanawiające jest, że *Staphylococcus koag. (-)* i *Staphylococcus aureus* wykazują mniejszą wrażliwość na działanie tobramycyny niż gentamycyny i amikacyny. W większości innych publikacji autorzy podają, że wrażliwość tych szczepów bakteryjnych na działanie tobramycyny, gentamycyny i amikacyny jest podobna i waha się od 71% do 100% (12,13).

Podsumowując należy stwierdzić, że bakterie, które mogą wywołać stany zapalne wnętrza gałki ocznej oraz rogówki, występują w worku

Drobnoustroje Bacterial isolates	Ofloksacylina Norfloksacylina			Erytromycyna			Gentamycyna			Amikacylina			Neomycyna			Tobramycyna		
	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R	S	I	R
<i>Staphylococcus aureus</i>	100	0	0	52,5	35	12,5	95	0	5	77,5	10	12,5	65	15	20	62,5	20	17,5
<i>Staphylococcus koag. (-)</i>	79	0	21	42	4	54	54	4	42	62,5	21	16,5	50	17	33	30	33	37
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	70	30	0	92	2,6	5,4	27	14	59	27	8	65	8	14	14	14	27	59
<i>Streptococcus viridans</i>	89	0	11	45	33	22	56	22	22	11	33	56	11	22	67	22	45	33
<i>Enterococcus faecalis</i>	100	0	0	67	33	0	33	67	0	0	100	0	67	0	33	33	0	67
<i>Haemophilus influenzae</i>	100	0	0	27	64	9	64	27	9	82	14	4	55	36	9	55	36	9
<i>Moraxella catarrhalis</i>	100	0	0	83	17	0	83	0	17	67	33	0	83	17	0	83	17	0
Pat. Enterobacteriaceae	100	0	0	Brak aktywności			77	15	8	61	23	16	92	0	8	77	15	8
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	100	0	0	Brak aktywności			50	50	0	50	50	0	100	0	0	100	0	0

Tab. II. Wrażliwość różnych szczepów bakteryjnych wyhodowanych z worka spojówkowego na antybiotyki stosowane w okulistyce (w %).
Tab. II. Sensitivity of different bacteria isolated from the conjunctival sac to antibiotics used in ophthalmic practice (%).

spojówkowym u co czwartego dziecka bez stanów zapalnych w gałkach ocznych (26,3%). Najczęściej są to ziarniaki Gram (+) (70,5%). Bakterie te wykazują dość dużą oporność na działanie aminoglikozydów (większą niż w przypadku tych samych bakterii w badaniach przeprowadzonych w USA). Obserwuje się również wzrastającą oporność bakterii na fluorochinolony, szczególnie *Staphylococcus koag. (-)*. Oporność na fluorochinolony nie jest jeszcze tak duża, jak sugerują to wyniki niektórych prac amerykańskich, ale należy pamiętać, że ta grupa antybiotyków została wprowadzona do leczenia okulistyki w Polsce parę lat później.

PIŚMIENNICTWO

1. Speaker M. G., Milch M. A., Shah M. K., Eisner W., Kreiswirth B. N.: *Role of external bacterial flora in the pathogenesis of acute postoperative endophthalmitis*. Ophthalmology, 1991, 98: 639-649.
2. Alexandrakis G., Alfonso E. C., Miller D.: *Shifting trends in bacterial keratitis in South Florida and emerging resistance to fluorquinolones*. Ophthalmology, 2000, 107: 1497-1502.
3. Chaudhry N. A., Flynn H. W., Murray T. G.: *Emerging ciprofloxacin-resistant Pseudomonas aeruginosa*. Am. J. Ophthalmol., 1999, 128: 509-510.
4. Garg P., Sharma S., Rao G. N.: *Ciprofloxacin-resistant Pseudomonas keratitis*. Ophthalmology, 1999, 106: 1319-1323.
5. Goldstein M. H., Kowalski R. P., Gordon Y. J.: *Emerging fluoroquinolone resistance in bacterial keratitis*. Ophthalmology, 1999, 106: 1313-1318.
6. Hwang D. G.: *Fluoroquinolone resistance in ophthalmology and the potential role of newer ophthalmic fluoroquinolones*. Surv. Ophthalmol., 2004, 49 (Suppl 2): S79-S83.
7. Walker C. B., Claoue C. M.: *Incidence of conjunctival colonization by bacteria capable of causing postoperative endophthalmitis*. J. Royal. Soc. Med., 1986, 79: 520-521.
8. Boltze H. J., Rummelt V., Rollinghoff M., Naumann GO.: *Bakterielles Keim- und Resistenzspektrum der reizfreien Konjunktiva. 7845 präoperative Abstriche der Erlanger Univ. – Augenklinik*. Klin. Mbl. Augenheilk., 1990, 197: 172-175.
9. Fahmy J. A., Moller S., Bentzon M. W.: *Bacterial flora in relation to cataract extraction. I. Material, methods and preoperative flora*. Acta Ophthalmol., (Copenh), 1975, 53: 458-475.
10. Seibel W., Ruprecht K. W.: *Bakteriologische Befunde in Bindehautabstrichen*. Klein Mbl. Augenheilk., 1983, 183: 60-62.
11. Szymulska M., Haszcz D., Rakowska E., Zagórski Z.: *Wartość badań bakteriologicznych w chirurgii zaćmy*. Klin. Oczna, 1996, 98: 125-127.
12. Ta C. N., Chang R. T., Singh B. S., Egbert P. R., Shriver E. M., Blumenkranz M. S., Mino de Kaspar H.: *Antibiotic resistance patterns of ocular bacterial flora*. Am. J. Ophthalmol., 2003, 110: 1946-1951.
13. Zimmerman T. J., Kooner K. S., Sharir M., Fechtner R. D.: *Textbook of ocular pharmacology*. 1997, Lippincott, Raven.

Praca wpłynęła do Redakcji 08.07.04 r. (614).

Zakwalifikowano do druku 04.05.05 r.

Adres do korespondencji (Reprint requests to):

prof. dr hab. n. med. Marek E. Prost
Klinika Okulistyczna Wojskowego Instytutu Medycyny Lotniczej
ul. Krasińskiego 54
01-755 Warszawa