LABORATORINĖ MEDICINA
2023, tomas 25, Nr. 1 (93), p. 21–25

Antrinio peritonito sukėlėjų spektras ir atsparumas antimikrobiniams vaistams

Lina Radvilaitė, Violeta Kareivienė

Lietuvos sveikatos mokslų universiteto Medicinos fakulteto Laboratorinės medicinos klinika

Lithuanian University of Health Sciences, Faculty of Medicine, Department of Laboratory Medicine

El. paštas: violeta.kareiviene@lsmu.lt

Santrauka

Darbo tikslas. Išanalizuoti antrinio peritonito sukėlėjus ir jų atsparumą vaistams Lietuvos sveikatos mokslų universiteto ligoninės Kauno klinikų (LSMUL KK) stacionaro skyriuose.

Tyrimo objektas ir metodai. Retrospektyviai analizuoti LSMUL KK nuo antrinio peritonito gydytų pacientų duomenys. Mikroorganizmai identifikuoti masių spektrometrijos būdu MALDI-TOF MS sistema. Sukėlėjų atparumas vaistams buvo vertinamas diskų difuzijos metodu. Pacientų ligos istorijų duomenų statistinė analizė atlikta IBM SPSS Statistics v20.0 sistema.

Tyrimo rezultatai. Atlikta 138 antrinio peritonito atvejų analizė. 51,6 % sukėlėjų sudarė enterobakterijos, 20,2 % – enterokokai, 8,2 % – bakteroidai. Tarp enterobakterijų 65 % *K. pneumoniae* padermių pasižymėjo dauginiu atparumu vaistams. Vankomicinui atsparios buvo 37,9 % *E. faecium* ir 5,0 % *E. faecalis* padermių. Viena *E. faecium* padermė buvo atspari linezolidui. Dvi arba daugiau padermių buvo nustatyta 45,6 % tiriamųjų pasėliuose.

Išvados. Esant antriniam peritonitui, 80 % nustatytų sukėlėjų priklausė normaliai žarnyno mikrobiotai. Dauginiu atsparumu vaistams dažniausiai pasižymėjo *K. pneumoniae* ir *E. faecium* padermės. Beveik pusei tirtų pacientų nustatytas daugiau nei vienas sukėlėjas.

Reikšminiai žodžiai: antrinis peritonitas, sukėlėjų spektras, atsparumas vaistams.

ĮVADAS

Pilvaplėvės infekcijos, nulemtos pilvo organų vientisumo pažeidimo, sudaro 1 % visų skubios pagalbos priėmimų ir yra antra dažniausia sepsio priežastis pasaulyje [1, 2]. Antrinio peritonito atvejai linkę sparčiai progresuoti, tad infekcijai suvaldyti atliekama skubi chirurginė infekcijos židinio kontrolė ir nedelsiant skiriamas empirinis antimikrobinis gydymas [3]. Iššūkių skiriant empirinį gydymą kelia nuolat kintantis sukėlėjų atsparumo profilis dėl dauginį atsparumą antibiotikams įgijusių padermių. Skirtingų tyrimų duomenimis, 30–39 % pirminio empirinio gydymo pasirinkimų būna netinkami dėl padermių atsparumo vaistams [3, 4]. Empirinio antimikrobinio gydymo sprendimus sunkina ir tai, kad antrinio peritonito infekcija dažnai yra polimikrobinės kilmės [5–7].

Kadangi sėkmingam empiriniam gydymui svarbios išankstinės žinios apie regionui būdingą sukėlėjų spektrą bei sukėlėjų atsparumo vaistams tendencijas, buvo atliekama retrospektyvioji 2019 m. LSMUL KK nuo antrinio peritonito gydytų pacientų ir jų mikrobiologinių pasėlių duomenų analizė. Buvo siekiama nustatyti, kokie mikroorganizmai dažniausiai sukėlė infekcinį peritonitą skirtinguose intensyviosios terapijos skyriuose bei koks buvo jų atsparumas antimikrobiniams vaistams.

DARBO TIKSLAS

Šio darbo tikslas buvo išanalizuoti antrinio peritonito sukėlėjus ir jų atsparumą antimikrobiniams vaistams LSMUL KK stacionaro skyriuose. Buvo siekiama nustatyti antrinio peritonito sukėlėjų spektrą bei dažnį, įvertinti dažniausiai išskirtų sukėlėjų atsparumą antimikrobiniams vaistams bei polimikrobinių infekcijų dažnį tirtiems pacientams.

TYRIMO MEDŽIAGA IR METODAI

Darbas atliktas LSMU Laboratorinės medicinos klinikoje. Tyrimui gautas LSMU Bioetikos centro pritarimas

Nr. BEC-LMB(M)-162. LSMU ligoninės Kauno klinikų Laboratorinės medicinos klinikoje Mikrobiologijos laboratorijoje buvo vertinama iš pilvaplėvės ertmės surinkta tiriamoji medžiaga laikotarpiu nuo 2019-01-01 iki 2019-12-31. Tiriamųjų analizei demografiniai ir ligos istorijų klinikiniai duomenys buvo surinkti naudojantis Laboratorinės medicinos klinikos suteikta ligoninės informacinės sistemos (LIS) elektronine prieiga. Į tyrimo imtį neįtrauktos pavienės spontaninio (pirminio) peritonito ligos istorijos ir vertinti tik antrinio peritonito atvejai.

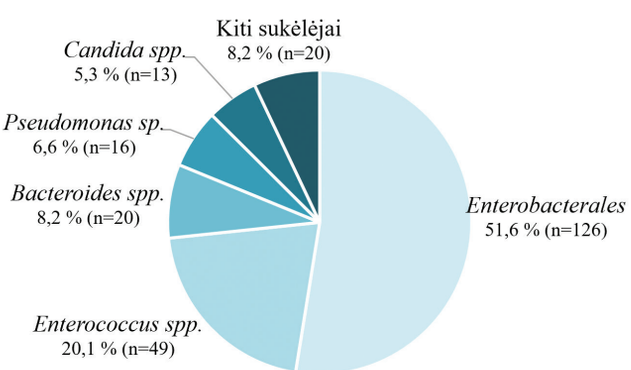
Mikrobiologiniam tyrimui tiriamoji medžiaga buvo imama atsakingojo gydytojo sprendimu. Ėminys buvo imamas iš pilvaplėvės ertmėje įtariamo infekcijos židinio. Tiriamoji medžiaga į laboratoriją buvo pristatoma ir mikroskopuojama imersine sistema. Remiantis mikroskopijos rezultatais, tiriamoji medžiaga toliau buvo išsėjama ant standžiųjų mitybinių terpių. Mikroorganizmų identifikacija buvo atliekama masių spektrometrijos būdu MALDI-TOF MS sistema.

Bakterijų atsparumas vaistams buvo vertinamas diskų difuzijos metodu, laikantis EUCAST parengto vertinimo standarto. Grybelių atsparumas priešgrybeliniams vaistams buvo nustatomas taikant kolorimetrinio terpės mikroskiedimo metodą.

Pacientų ligos istorijų duomenų statistinė analizė atlikta IBM SPSS Statistics v20.0 sistema. Nepriklausomų grupių kokybinių požymių tarpusavio ryšys įvertintas naudojantis chi kvadrato ($\chi 2$) kriterijumi. Mažoms imtims vertinti buvo taikomas tikslusis Fišerio kriterijus. Rezultatai buvo laikomi reikšmingais, kai $p<0,05$.

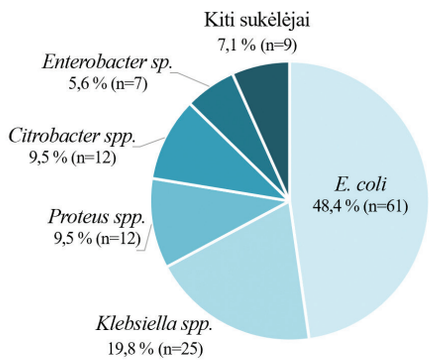
REZULTATAI

Tyrime dalyvavo 138 pacientai (n=138), kurių pilvaplėvės ertmės pasėliuose iš viso identifikuotos 244 mikroorganizmų padermės (n=244). Iš visų antrinio peritonito sukėlėjų 79,9 % (n=195) sudarė žarnyno mikrobiotos atstovai: 51,6 % sudarė enterobakterijos (n=126), 20,2 % enterokokai (n=49) ir 8,2 % griežtieji anaerobai *Bacteroides spp.* (n=20). Rečiau buvo nustatomos *Pseudomonas sp.* (n=16) ir *Candida spp.* (n=13) padermės, atitinkamai 6,6 % ir 5,3 % visų identifikuotų mikroorganizmų (1 pav.).



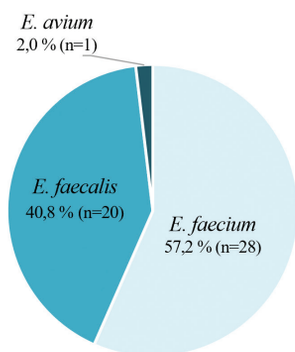
1 pav. Antrinio peritonito sukėlėjų pasiskirstymas
Fig. 1. Spectrum of secondary peritonitis pathogens

Enterobakterijų eilėje (n=126) tarp antrinio peritonito sukėlėjų vyravo *Escherichia coli* rūšis, sudariusi 48,4 % (n=61), ir *Klebsiella spp.* (n=25) – 19,8 % sukėlėjų. Rečiau buvo nustatoma *Proteus spp.* (n=12) ir *Citrobacter spp.* (n=12), kurios sudarė po 9,5 % sukėlėjų. Taip pat nustatyta *Enterobacter sp.* (n=7), sudariusi 5,6 % visų išskirtų *Enterobacterales* eilės antrinio peritonito sukėlėjų. Kiti sukėlėjai sudarė 7,1 % (2 pav.).



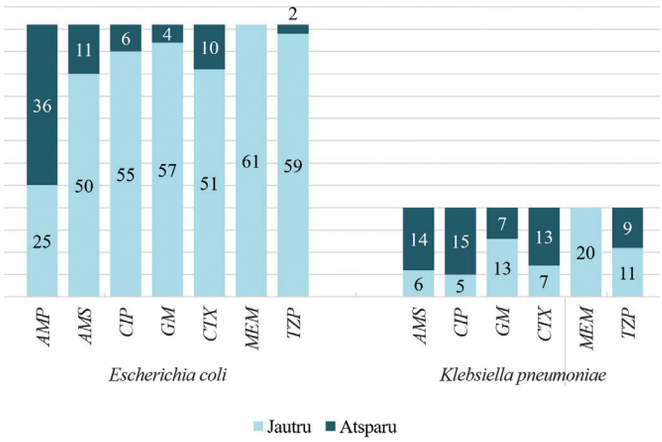
2 pav. *Enterobacterales* eilės antrinio peritonito sukėlėjų pasiskirstymas
Fig. 2. Spectrum of *Enterobacterales* pathogens of secondary peritonitis

Tarp antrinį peritonitą sukėlusių enterokokų (N=49) rastos trys skirtingos sukėlėjų rūšys. Iš jų 57,2 % buvo *Enterococcus faecium* (n=28), 40,8 % *Enterococcus faecalis* (n=20) ir 2,0 % *Enterococcus avium* (n=1) (3 pav.).



3 pav. *Enterococcus* genties antrinio peritonito sukėlėjų pasiskirstymas
Fig. 3. Spectrum of *Enterococcus* pathogens of secondary peritonitis

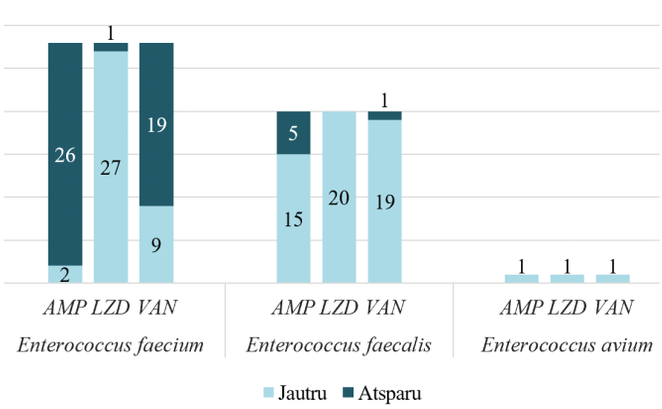
Dažniausiai nustatytos *Enterobacterales* eilės rūšys buvo *E. coli* ir *K. pneumoniae*, jos kartu sudarė 64,3 % (n=81) visų enterobakterijų padermių. Dažniausiai *E. coli* buvo atspari ampicilinui (59,0 %; n=36), rečiau (mažėjančia tvarka) cefotaksimui (16,4 %; n=10), ciprofloksacinui (9,8 %; n=6), gentamicinui (6,6 %; n=4), piperacilinui-tazobaktamui (3,3 %; n=2). Visos *E. coli* padermės (n=61) buvo jautrios meropenemui. Dažniausiai *K. pneumoniae* buvo atspari ciprofloksacinui, rečiau ampicilinui-sulbaktamui (70,0 %; n=14), cefotaksimui (65,0 %; n=13), piperacilinui-tazobaktamui (45,0 %; n=9), gentamicinui (35,0 %; n=7). Visos *K. pneumoniae* padermės (n=20) buvo jautrios meropenemui (4 pav.).



4 pav. *Escherichia coli* (n=61) ir *Klebsiella pneumoniae* (n=20) jautrumas antibiotikams. Santrumpos: AMP – ampicilinas, AMS – ampicilinas-sulbaktamas, CIP – ciprofloksacinas, GM – gentamicinas, CTX – cefotaksimas, MEM – meropenemas, TZP – piperacilinas-tazobaktamas

Fig. 4. *Escherichia coli* (n=61) ir *Klebsiella pneumoniae* (n=20) susceptibility to antimicrobial drugs. Abbreviations: AMP – ampicillin, AMS – ampicillin-sulbactam, CIP – ciprofloxacin, GM – gentamicin, CTX – cefotaxime, MEM – meropenem, TZP – piperacillin-tazobactam

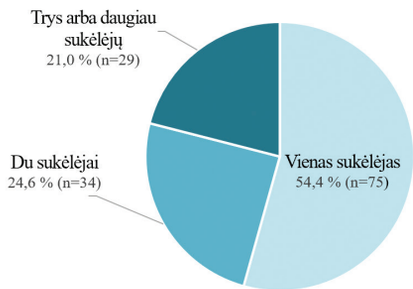
Enterokokų genties *E. faecium* dažniausiai buvo atsparus ampicilinui (92,6 %; n=26), rečiau vankomicinui (67,9 %; n=19). Viena *E. faecium* padermė buvo atspari visiems trims antibiotikams, įskaitant linezolidą. Rečiau atsparumas antimikrobiniams vaistams buvo būdingas *E. faecalis* rūšiai. *E. faecalis* taip pat dažniausiai buvo atsparus ampicilinui (25,0 %; n=5), rečiau vankomicinui (5,0 %; n=1). Linezolidui buvo jautrios visos *E. faecalis* padermės (n=20). Viena *E. avium* padermė pasižymėjo jautrumu visiems trims antibiotikams (5 pav.). Palygintus *E. faecium* ir *E. faecalis* atsparumą antibiotikams nustatyta, kad *E. faecium* reikšmingai dažniau atsparus ampicilinui (p<0,001) ir vankomicinui (p<0,001).



5 pav. *Enterococcus spp.* padermių (n=49) jautrumas antibiotikams. Santrumpos: AMP – ampicilinas, LZD – linezolidas, VAN – vankomicinas

Fig. 5. *Enterococcus spp.* (n=49) susceptibility to antimicrobial drugs. Abbreviations: AMP – ampicillin, LZD – linezolid, VAN – vancomycin

Visi tirti pacientai, kuriems diagnozuotas antrinis peritonitas (n=138), buvo išskirti į grupes pagal jų pasėliuose nustatytų sukėlėjų skaičių. Vienas sukėlėjas nustatytas 54,4 % (n=75) tirtų pacientų, du sukėlėjai – 24,6 % (n=34) pacientų ir trys arba daugiau sukėlėjų – 21,0 % (n=29) pacientų. Taigi polimikrobinė infekcija buvo būdinga 45,6 % (n=63) visų tirtų pacientų (6 pav.).



6 pav. Tirtų pacientų pasiskirstymas pagal pasėliuose nustatytų sukėlėjų skaičių (n=138)

Fig. 6. Number of pathogens detected in microbiological cultures

DISKUSIJA

Šio tyrimo metu palyginome antrinį peritonitą sukėlusių mikroorganizmų spektrą bei dažnį. Visose publikacijose *E. coli* buvo nurodytas kaip dažniausias antrinio peritonito sukėlėjas, jo dažnis svyravo nuo 22,4 % iki 60,7 % [5, 8, 9]. Šiame tyrime *E. coli* nustatyta 44,2 % atvejų. *K. pneumoniae* sudarė 14,5 % antrinio peritonito atvejų ir nuo 11,0 % iki 16,3 % visų antrinio peritonito atvejų kitų šalių mokslininkų tyrimuose [5, 8, 9].

Šiame tyrime 20,3 % antrinio peritonito sukėlėjų sudarė *E. faecium*. Kitų autorių tyrimai rodo, kad *E. faecium* dažnis buvo didesnis ir svyravo nuo 30,2 % iki 35,2 % [5, 8–10]. *E. faecalis* mūsų atliktame tyrime nustatytas 14,5 %, kituose tyrimuose – nuo 8,3 % iki 34,9 % atvejų [5, 8–10].

Anaerobiniai *Bacteroides* genties mikroorganizmai šiame tyrime išskirti 14,5 % pasėlių, užsienio autorių duomenimis – nuo 5,3 % iki 34,7 %. *Pseudomonas aeruginosa* LSMUL KK sukėlė antrinį peritonitą 11,6 % atvejų, kituose gydymo centruose *P. aeruginosa* dažnis antrinio peritonito pasėliuose svyravo nuo 10,0 % iki 19,3 % [5, 8–10].

Lyginant mikroskopinių grybų sukelto peritonito etiologiją, užsienio autorių publikacijose buvo nurodoma didesnė sukėlėjų spektro įvairovė. Ne *albicans* rūšys sudarė nuo 19,6 % iki 30,6 % kituose tyrimuose ir tik 6,7 % mūsų tyrime. Taip pat kiti tyrėjai nustatė pavienius *Aspergillus* sukėlėjus [8, 11], šio tyrimo metu *Aspergillus* neaptikta.

Mūsų darbe nustatytų sukėlėjų atsparumas antimikrobiniams vaistams buvo lyginamas su kitų gydymo centrų publikacijų rezultatais [5, 7, 12]. Taip pat duomenys buvo lyginami su Europos antimikrobinio atsparumo stebėsenos centro (EARS-Net) 2019 metų ataskaitos duomenimis [6]. Trečios kartos cefalosporinams atsparios *E. coli* sudarė 16,4 % enterobakterijų šiame tyrime, kituose tyrimuose – nuo iki 3,0 % iki 22 % [5, 7, 12]. Kitų *Enterobacterales* eilės rūšių atsparumas trečios kartos cefalosporinams šiame tyrime buvo

nustatytas didesnis nei kitų autorių skelbtuose tyrimuose. Ne *coli* (angl. *non-coli*) rūšių atsparumo trečios kartos cefalosporinams dažnis šiame tyrime buvo 36,9 %, kituose tyrimuose mažesnis – nuo 5,6 % iki 9,0 % [7, 12, 13]. Mūsų tyrimo imtyje karbapenemams atsparių *K. pneumoniae* padermių nustatyta nebuvo, nors 2019 m. karbapenemams atsparių *K. pneumoniae* Europoje vidurkis siekė 31,3 %. Naujausi iš Lietuvos gauti duomenys apie pirmuosius atsparių karbapenemams *K. pneumoniae* protrūkius paskelbti [14] šaltinyje.

Vankomicinui atsparių enterokokų (VAE) dažnis mūsų atliktame tyrime buvo 40,8 %. Šis rodmuo buvo gerokai didesnis, palyginti su užsienio autorių rezultatais: tarp enterokokų VAE Berlyno universitetinėje ligoninėje buvo tik 5,6 % [7]. Mūsų gautais duomenimis, tarp *E. faecium* vankomicinui atsparios padermės sudarė 67,9 %, Hamburgo-Ependorfo universitetinės ligoninės tyrime tokių padermių buvo 12 % [13]. Linezolidui atsparios padermės Berlyno ligoninėje sudarė 2,8 % antrinį peritonitą sukėlusių enterokokų. Šiame tyrime nustatyta 1 iš 49, arba 2,0 %, linezolidui atsparių *Enterococcus* genties padermių. Atitinkami VAE dažnio skirtumai tarp Lietuvos ir užsienio šalių skelbiami EARS-Net 2019 metų ataskaitoje [6].

Mūsų atliktame tyrime antrinio peritonito infekcija buvo polimikrobinė 45,6 % (n=63) atvejų. Shah ir bendraautorių [15] tyrimo duomenimis, iš pilvaplėvės ertmės infekcijos atvejų polimikrobinės sudarė 49,3 %. Lin ir kiti [16] tirdami perforacijos sukeltus peritonito atvejus paskelbė apie 78 % dažnį. Van Ruler ir bendraautoriai [5] polimikrobinėmis nurodė 110 iš 158, arba 70 %, tirtų pilvo infekcijų.

IŠVADOS

1. Esant antriniam peritonitui, 80 % nustatytų sukėlėjų priklausė normaliai žarnyno mikrobiotai: *Enterobacterales* eilės *Enterococcus* ir *Bacteroides* genčių bakterijoms. Rečiau buvo nustatomos *Pseudomonas sp*. ir *Candida spp*. padermės.

2. Tarp *Enterobacterales* eilės antrinio peritonito sukėlėjų dauginiu atsparumu vaistams dažniausiai pasižymėjo *K. pneumoniae* padermės. Karbapenemams atsparių enterobakterijų nustatyta nebuvo. Tarp *Enterococcus spp.* sukėlėjų *E. faecium* buvo patikimai dažniau atsparus ampicilinui ir vankomicinui negu *E. faecalis*. Aptikta viena *E. faecium* padermė, atspari linezolidui.

3. Beveik pusei tirtų pacientų nustatytas daugiau nei vienas sukėlėjas.

Gauta: 2022 10 21 **Priimta spaudai:** 2023 01 14

Summary

SPECTRUM OF PATHOGENS CAUSING SECONDARY PERITONITIS AND THEIR ANTIMICROBIAL RESISTANCE

Lina Radvilaitė, Violeta Kareivienė

Aim of the study. To analyse the spectrum of pathogens causing secondary peritonitis and their resistance to antimicrobial drugs in Lithuanian University of Health Sciences Kaunas Clinics inpatient departments.

Object and methods of the study. All patients of the study received treatment for secondary bacterial or fungal peritonitis in Hospital of Lithuanian University of Health Sciences Kaunas Clinics in 2019. Microorganisms were identified using MALDI-TOF MS system. Drug resistance of the pathogens was evaluated using disk diffusion method. Statistical analysis of the patients' data was performed with the system IMB SPPS Statistics v20.0.

Results. Analysis of 138 secondary peritonitis cases was performed. 51.6% (n=126) of pathogens were *Enterobacterales*, 20.2% (n=49) were *Enterococcus spp*., 8.2% (n=20) *Bacteroides spp.*, 6.6% (n=16) *Pseudomonas aeruginosa* and 5.3% (n=13) were *Candida spp*. Vancomycin-resistant were 67.9% (n=19) of *E. faecium* and 5.0% (n=1) of *E. faecalis* isolates. Two or more strains were identified in almost half of evaluated microbiological cultures.

Conclusions. 80% of isolated microorganisms causing secondary peritonitis belonged to normal intestinal flora: *K. pneumoniae* and *E. faecium* strains were most often found to be multidrug-resistant. In almost half of analysed cases two or more pathogens were detected.

Keywords: secondary peritonitis, spectrum of pathogens, drug resistance.

LITERATŪRA

1. Ross JT, Matthay MA, Harris HW. Secondary peritonitis: Principles of diagnosis and intervention. BMJ 2018; 361: k1407.
2. Tochie JN, Agbor NV, Tianyi T, Leonel F, Mbonda A, Abang DA, et al. Global epidemiology of acute generalised peritonitis: a protocol for a systematic review and meta-analysis. BMJ 2020; 10: 324–6.
3. Membrilla-Fernández E, Sancho-Insenser JJ, Girvent-Montllor M, Álvarez-Lerma F, Sitges-Serra A. Effect of initial empiric antibiotic therapy combined with control of the infection focus on the prognosis of patients with secondary peritonitis. Surg Infect (Larchmt) 2014; 15(6): 806–14.
4. Rüttinger D, Kuppinger D, Hölzwimmer M, Zander S, Vilsmaier M, Küchenhoff H, et al. Acute prognosis of critically ill patients with secondary peritonitis: The impact of the number of surgical revisions, and of the duration of surgical therapy. Am J Surg 2012; 204(1): 28–36.

5. Van Ruler O, Kiewiet JJS, Van Ketel RJ, Boermeester MA. Initial microbial spectrum in severe secondary peritonitis and relevance for treatment. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2012; (31): 671–82.
6. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance in the EU/EEA - AER for 2019. 2020.
7. Steinbach CL, Töpper C, Adam T, Kees MG. Spectrum adequacy of antibiotic regimens for secondary peritonitis: A retrospective analysis in intermediate and intensive care unit patients. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2015; 14(1): 48.
8. Panhofer P, Riedl M, Ferenc V, Ploder M, Jakesz R, Götzinger P, et al. Clinical outcome and microbial flora in patients with secondary and tertiary peritonitis. Eur Surg 2007; 39(4): 259–64.
9. Ballus J, Lopez-Delgado JC, Sabater-Riera J, Perez-Fernandez XL, Betbese AJ, Roncal JA. Surgical site infection in critically ill patients with secondary and tertiary peritonitis: epidemiology, microbiology and influence in outcomes. BMC Infect Dis 2015; 15: 304–10.
10. Jang JY, Lee SH, Shim H, Choi JY, Yong D, Lee JG. Epidemiology and Microbiology of Secondary Peritonitis Caused by Viscus Perforation: A Single-Center Retrospective Study. Surg Infect (Larchmt) 2015; 16(4): 436–42.
11. Kulkarni AA, Aruni A, Rastogi P, Rana S, Gupta R. Invasive aspergillosis causing gastric necrosis and perforation: A case report. JGH Open 2020; 4(1): 90–3.
12. Núñez SA, Lacal V, Núñez J, Serruto G, Zárate MS, Verón MT. Antibiotic Resistance in Community-Acquired Intra-Abdominal Infections: Diabetes Mellitus as a Risk Factor. Surg Infect (Larchmt) 2020; 21(1): 62–68.
13. Grotelüschen R, Heidelmann LM, Lütgehetmann M, Melling N, Reeh M, Ghadban T, et al. Antibiotic sensitivity in correlation to the origin of secondary peritonitis: a single center analysis. Sci Rep 2020; 10(1): 18588.
14. Diržinauskaitė I, Valintėlienė R, Dalmau I, Johansson K. European Centre for Disease Prevention and Control. Outbreak of carbapenemase-producing Enterobacterales in Lithuania – 18 December 2019. ECDC: Stockholm; 2019.
15. Shah PM, Edwards BL, Dietch ZC, Guidry CA, Davies SW, Hennessy SA, et al. Do Polymicrobial 52 Intra-Abdominal Infections Have Worse Outcomes than Monomicrobial Intra-Abdominal Infections? Surg Infect (Larchmt). 2016; 17(1): 27–31.
16. Lin WT, Su SY, Lai CC, Tsai TC, Gau SJ, Chao CM. Peritonitis caused by Aeromonas species at a hospital in southern Taiwan. Intern Med 2013; 52(22): 2517–21.