

Zofia Zwolska, Anna Jezierska-Anczuków, Maria Wojciechowska

Z Zakładu Mikrobiologii IGIChP w Warszawie

Kierownik: Prof.dr hab. biol. Z. Zwolska

PORÓWNANIE GATUNKÓW I LEKOWRAŻLIWOŚCI BAKTERII IZOLOWANYCH Z PLWOCIN I MATERIAŁÓW BRONCHOSKOPOWYCH. ANALIZA WYNIKÓW RUTYNOWYCH BADAŃ DIAGNOSTYCZNYCH Z LAT 1995-1997.

COMPARISON OF BACTERIAL PATHOGEN SPECIES AND THEIR DRUG SENSITIVITY
ISOLATED FROM SPUTUM SAMPLES AND BRONCHOSCOPE MATERIALS.
BACTERIOLOGICAL ANALYSIS OF ROUTINE DIAGNOSTIC RESULTS IN 1995-1997.

Summary: Proper identification of the organism and determination of their sensitivity to antimicrobial agents, is the most important part of the management of patients with symptoms of respiratory system infections.

In the case of pulmonary infections, the utility of sputum for diagnosing the cause of lower respiratory tract infections seems to be limited. In the patients receiving antibiotics, there is a high rate of colonization of the upper respiratory tract that may lead to the overgrowth of one or another pathogen, making it more abundant in the upper than a lower respiratory tract. Also, the patients may be unable to provide adequate lower-respiratory-tract samples. For these reasons, more invasive procedures have been recommended. These include bronchoscopy with bronchoalveolar lavage (BAL) sampling. The purpose of our study was to determine the value of sputum and BAL fluid on the basis of profile bacteria and their drug sensitivity isolated from the patients treated in Nat. Res. Inst. Tuberc. and Lung Diseases in Warsaw during period of 3 years (1995 – 1997). On the basis of analysis of 5926 sputum samples and 3534 bronchoscopic materials we have found that the bacterial pathogens species and drug resistant pattern were similar in sputum samples as in materials of bronchoscopic procedures. The same bacterial species and numbers *Escherichia coli*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus aureus* were predominant in both type of clinical materials with near the same frequency.

Key words: sputum, BAL, bacterial pathogenes, drug sensitivity

PNEUMONOL. ALERGOL. POL., 2001, 69, 1-2, 14-25

Wstęp

Z wielu doniesień polskich i zagranicznych wynika, że zakażenia układu oddechowego stanowią jedną z najczęstszych przyczyn porad i interwencji medycznych. Trafna diagnostyka tej grupy chorych wymaga wysokich kwalifikacji personelu medycznego i specjalistycznego sprzętu a leczenie jest często długotrwałe i kosztowne.

W lecznictwie otwartym badanie mikrobiologiczne z izolacją czynnika etiologicznego i określeniem wrażliwości na antybiotyki jest często niedostępne.

W związku z powyższym konieczne jest leczenie empiryczne oparte na znajomości najczęściej występujących gatunków patogennych i wzorów ich lekowrażliwości.

Gwarancją uzyskania wiarygodnego wyniku badania mikrobiologicznego jest właściwy wybór materiału oraz jego prawidłowe pobranie.

Płwocina, wydzielina pochodząca z dolnego odcinka układu oddechowego, jest najłatwiejszym do uzyskania materiałem diagnostycznym. W przypadku badania takiego materiału możemy spodziewać się „zanieczyszczenia” drobnoustrojami kolonizującymi gardło i jamę ustną. Stwarza to trudności w interpretacji uzyskanych wyników.

W ostatnich latach podkreśla się większą przydatność do diagnostyki schorzeń układu oddechowego, materiałów pobranych w czasie bronchoskopii krytykując wartość płwociny.

Opierając się na trzyletnich badaniach materiałów z dolnych dróg oddechowych postanowiliśmy porównać częstość występowania patogenów izolowanych z płwociny i materiałów bronchoskopowych. Analizie poddano gatunki i wzory lekooporności wyizolowanych drobnoustrojów patogennych. Sprawdzone też czy i jak często materiały pobrane w czasie bronchoskopii są „zanieczyszczone” florą pochodzącą z górnych odcinków dróg oddechowych.

Materiał i metody

Materiałem do badań była płwocina i materiały bronchoskopowe pobrane od chorych z objawami schorzeń dróg oddechowych leczonych w Instytucie Gruźlicy i Chorób Płuc w Warszawie w latach 1995-1997 (tab. I). W omawianym okresie w szpitalu leczono 13571 chorych w tym: ze schorzeniami układu oddechowego – 10079 i nowotworami – 4371 i wykonano 1777 operacji w obrębie klatki piersiowej.

Tabela I Częstość wykrywania flory bakteryjnej w płwocinie i materiałach bronchoskopowych (w %)
 Table I The frequency of occurrence of bacterial pathogens in sputum and bronchoscopic materials (in %)

Rodzaje materiału Materials	Rok Year	Liczba materiałów No. of specimens	Liczba szczepów No. of strains	Flora fizjologiczna Non pathogenic flora	Flora patogenna Pathogenic flora				Bez drobnoustrojów Without bacteria
					G+	G-	Grzyby Fungi	Razem Total	
Płwociny Sputum	1995	2023	4906	75,5	5,6	12,0	6,7	24,3	0,2
	1996	2039	5128	70,0	5,2	18,5	6,1	29,8	0,2
	1997	1864	4933	66,6	7,6	18,1	7,6	33,3	
razem/total		5936							
Materiały bronchoskopowe Bronchoscopic materials	1995	1192	4160	73,5	4,9	7,5	2,1	14,5	12,0
	1996	1255	4385	70,0	7,0	12,1	2,6	21,7	8,3
	1997	1087	4466	74,0	9,4	12,2	2,8	24,4	1,6
razem/total		3534							

Z płwociny, pobranej rano po uprzedniej toalecie jamy ustnej, wykonywano bezpośredni preparat mikroskopowy barwiony metodą Grama. Za prawidłowo wykrztuszoną uważano płwocinę, w której stwierdzano > 20 leukocytów wielo-

jądrowych i < 10 komórek nabłonka w polu widzenia. Plwocinę poddawano homogenizacji 1% roztworem pankreatyny w temperaturze 37°C przez 30 minut.

Materiały bronchoskopowe – wydzielina oskrzelowa i popłuczyny pęcherzykowo-oskrzelowe (BALF) oceniano makroskopowo i wykonywano preparat mikroskopowy barwiony metoda Grama. Materiały o małej liczbie elementów morfotycznych wirowano przez 10 minut przy 3000 obrotów / min. i uzyskany osad poddawano dalszej diagnostyce.

Badane materiały posiewano na stosowane rutynowo pożywki bakteriologiczne.

Identyfikacje poszczególnych gatunków drobnoustrojów przeprowadzono następująco:

– pałeczki gram ujemne – identyfikacja biochemiczna przy pomocy testów API 20E i API 20NE

– gronkowce – identyfikacja API Staph i testu Staph Kit

Pozostałe gatunki patogenne identyfikowano zgodnie z zaleceniami Krajowego Konsultanta ds. Mikrobiologii (9).

Testy wrażliwości wykonywano w systemie ATB firmy „bioMeriux” oraz metodą krążkową na zalecanych, dla każdego rodzaju szczepu patogennego, pożywkach (9).

W przypadku stwierdzenia obecności grzybów badany materiał przekazywano do dalszej identyfikacji do Pracowni Mikologii.

Wyniki

W latach 1995-1997 wykonano posiewy 5936 plwocin i 3534 materiałów bronchoskopowych (Tab I). W każdym analizowanym roku kalendarzowym badano podobną ilość materiałów.

Szczepy bakteryjne uznane za florę fizjologiczną górnych dróg oddechowych izolowano w zbliżonych odsetkach (od 66,6% do 75,5%) z obu rodzajów materiałów diagnostycznych. Częstość występowania patogennej flory bakteryjnej zarówno w plwocinie jak i w materiałach bronchoskopowych była podobna i wahała się w granicach od 24,3% do 33,3% w plwocinie i od 14,5% do 24,4% w materiale z oskrzeli. Grzyby izolowano trzykrotnie częściej z plwociny. Odsetek plwocin bez drobnoustrojów w poszczególnych latach był stały i wynosił 0,2%, natomiast odsetek materiałów bronchoskopowych wolnych od drobnoustrojów wahał się od 12,0% w 1995 do 1,6% w 1997.

Zarówno w plwocinie jak i materiale z oskrzeli najczęściej wykrywano pałeczki gramujemne z rodziny Enterobacteriaceae (*Escherichia coli*, *Enterobacter cloacae*, *Klebsiella pneumoniae*, *Klebsiella oxytoca*, *Serratia liquefaciens*, *Enterobacter agglomerans*, *Citrobacter freundii*, *Proteus mirabilis*) i pałeczki gramujemne niefermentujące (z rodzaju *Pseudomonas* i *Acinetobacter*) (Tab II). Odsetek wszystkich pałeczek gramujemnych izolowanych z plwociny wyniósł 7,3%, a z materiałów bronchoskopowych 6,5%.

Następnym najczęściej izolowanym patogenem był *Staphylococcus aureus* wykrywany w plwocinie z częstością 4,0% a w materiale z oskrzeli 3,6% i *Haemophilus influenzae* – 1,1% i 1,6%. *Haemophilus parainfluenzae* występował częściej w plwocinie (3,3%) niż w materiale z oskrzeli (1,6%). *Streptococcus pneu-*

Porównanie gatunków i lekowrażliwości bakterii izolowanych z płwocin i BALF

Tabela II. Częstość izolowania poszczególnych gatunków bakterii patogennych z płwociny i materiałów bronchoskopowych (średni odsetek z lat 1995-1997)

Table II. The frequency of isolation of pathogenic strains from sputum and bronchospic materials (mean frequency in 1995-1997)

Gatunki bakterii/Pathogen species	Z płwocin Sputum	Z materiałów bronchoskopowych Bronchospic materials
<i>Staphylococcus aureus</i>	4,0	3,6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3,1	2,4
<i>Escherichia coli</i>	1,2	1,3
<i>Haemophilus influenzae</i>	1,1	1,6
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	0,7	1,1
<i>Enterobacter cloacae</i>	0,4	0,4
<i>Pseudomonas sp.</i>	0,6	0,4
<i>Streptococcus pyogenes</i>	0,7	0,8
<i>Klebsiella oxytoca</i>	0,4	0,4
<i>Acinetobacter calcoacaligenes</i>	0,4	0,3
Inne pałeczki Gram (-) niefermentujące	0,2	0,3
<i>Enterococcus faecalis</i>	0,2	0,8
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	0,5	0,6
<i>Serratia liquefaciens</i>	0,1	0,1
<i>Haemophilus parainfluenzae</i>	3,3	1,6
<i>Enterobacter agglomerans</i>	0,2	0,1
<i>Citrobacter freundii</i>	0,1	0,1
<i>Proteus mirabilis</i>	0,1	0,1

moniae izolowano z częstością 0,7% i 1,1%., a *Streptococcus pyogenes* 0,7% i 0,8% z płwociny i materiałów bronchoskopowych.

Nie wymienione w tabeli gatunki bakterii występowały z częstością mniejszą niż 0,1%.

Około 50% szczepów *E.coli* wytwarzało b-laktamazę i wykazywało oporność na amoksyliny, ureidopenicyliny (Tab III). Około 10% szczepów było opornych na amoksyliny z inhibitorem β -laktamazy. Średnio 60% szczepów wykazywało oporność na cefalosporyny I generacji, 29%-40% na tetracykliny i 12%-24% na kotrimoksazol. Zaobserwowano różnicę w oporności badanych szczepów na chinolony i aminoglikozydy -szczepy izolowane z płwociny były bardziej odporne.

Szczepy *Pseudomonas aeruginosa* izolowane zarówno z płwociny jak i materiałów bronchoskopowych wykazywały zbliżone wzory oporności i charakteryzowały się znacznym stopniem oporności na badane antybiotyki, w tym również na karbapenemy (27% – 38%). Porównywalny odsetek opornych szczepów (26% – 42%) obserwowano w przypadku piperacyliny z tazobaktamem (Tab IV).

Wzory oporności na antybiotyki szczepów *Staphylococcus aureus* pochodzących z obu rodzajów materiałów są bardzo zbliżone (Tab V). Największy odsetek szczepów wykazywał oporność na penicylinę (około 90%) i tetracyklinę

Tabela III. Oporność na antybiotyki *Escherichia coli* wyizolowanych z płwociny i materiałów bronchoskopowych (w odsetkach)**Table III.** Antibiotic resistance patterns of *E.coli* isolated from sputum and bronchoscopic materials (in %)

Antybiotyk Antibiotic	Płwociny/sputum			Mat. bronchoskopowe/ Bronchoscopic materials		
	1995	1996	1997	1995	1996	1997
Amoksylicyna	49,1	57,1	47,2	35,2	56,2	68,2
Amoksylicyna + kw.klawulanowy	6,2	12,1	14,2	5,2	8,6	18,1
Ureidopenicylina	38,3	53,2	29,1	43,0	31,1	47,0
Cefalosporyny I generacji	74,4	68,2	64,1	57,1	56,0	65,1
Cefoksytyna	16,5	16,3	20,0	10,0	8,2	9,0
Cefalosporyny III generacji	2,0	0	5,1	0	0	0
Amikacyna	20,1	15,4	5,2	0	0	0
Gentamycyna	4,1	5,2	3,0	0	0	3,2
Netylmycyna	2,2	4,0	3,1	0	0	3,1
Tetracyklina	32,0	40,1	39,2	29,1	32,0	38,1
Chinolony I generacji	11,0	10,2	15,0	0	8,1	9,5
Chinolony II generacji	4,2	2,0	5,4	0	4,2	0
Ciprofloksacyna	2,4	0	2,0	0	4,3	0
Kotrimoksazol	16,0	15,1	17,1	0	12,0	24,2
Piperacylina + tazobactam	4,0	0	3,2	0	0	0
Liczba szczepów No. of strains	50	55	59	20	25	34

Porównanie gatunków i lekowrażliwości bakterii izolowanych z płwocin i BALF

Tabela IV. Oporność na antybiotyki *Pseudomonas aeruginosa* izolowanych z płwociny i materiałów bronchoskopowych (w odsetkach)

Table IV. Antibiotic resistance patterns of *Pseudomonas aeruginosa* isolated from sputum and bronchoscopic materials (in %)

Antybiotyk Antibiotic	Płwociny/sputum			Mat. bronchoskopowe/ Bronchoscopic materials		
	1995	1996	1997	1995	1996	1997
Tikarcilina	32,1	46,4	36,5	45,7	31,4	52,0
Tikarcilina + kw.klawulanowy	26,2	35,3	28,2	36,2	28,3	42,1
Ureidopenicylina	39,0	50,0	52,2	42,5	39,4	48,3
Ceftazydym	58,4	58,3	61,0	57,1	43,2	55,2
Cefsulodyna	48,2	59,2	46,4	50,2	33,1	50,2
Aztreonam	55,6	60,2	58,5	65,5	48,9	65,6
Imipenem	29,1	27,8	29,2	27,3	35,3	38,3
Tobramycyna	41,7	50,1	38,3	39,8	41,1	35,2
Amikacyna	64,2	61,3	54,9	48,5	40,4	44,1
Gentamycyna	83,1	71,5	67,4	76,4	53,6	51,2
Netylmycyna	75,4	74,2	65,9	75,4	59,1	55,7
Piperacylina + tazobaktam	28,9	32,1	39,1	33,6	26,4	42,3
Chinolony II generacji	79,6	85,3	84,5	70,4	92,3	93,1
Ciprofloksacyna	41,2	50,4	54,4	36,2	49,7	62,3
Fosfomycyna	75,1	76,7	65,3	68,3	70,1	62,3
Liczba szczepów No. of strains	77	138	169	33	49	26

Tabela V Oporność na antybiotyki *Staphylococcus aureus* wyizolowanych z płwociny i materiałów bronchoskopowych (w odsetkach)

Table V Antibiotic resistance patterns of *Staphylococcus aureus* isolated from sputum and bronchoscopic materials (in %)

Antybiotyk Antibiotic	Płwociny/sputum			Mat. bronchoskopowe/ Bronchoscopic materials		
	1995	1996	1997	1995	1996	1997
Penicylina G.	92,1	92,0	90,1	94,3	85,9	90,9
Tobramycyna	20,0	19,1	14,2	16,1	11,8	15,1
Gentamycyna	15,3	19,4	12,4	12,4	8,3	12,4
Tetracyklina	73,2	72,3	68,2	50,9	62,1	56,3
Erytromycyna	25,4	25,1	28,9	21,8	12,3	12,9
Linkomycyna	23,1	23,4	10,9	16,2	10,2	20,2
Pefloksacyna	17,4	18,1	9,1	14,4	7,1	14,3
Nitrofurantoina	4,3	0,9	1,0	6,1	0	2,1
Kwas fusydowy	5,2	2,2	2,4	6,0	0	0,9
Kotrimoksazol	5,1	2,1	2,1	2,4	0,9	1,2
Rifampicyna	14,0	16,4	9,2	6,4	12,3	12,1
Wankomycyna	0	0	0	0	0	0
Liczba badanych szczepów No. of strains	142	158	185	51	77	86

(około 65%). Nie stwierdzono oporności żadnego szczepu na wankomycynę, a oporność na gentamycynę, kwas fusydowy i kotrimoksazol dotyczyła kilku% badanych szczepów.

Szczepy *Haemophilus influenzae* wyizolowane z płwociny i materiałów bronchoskopowych były w większości przypadków b-laktamazoujemne i charakteryzowały się wysoką wrażliwością na ampicylinę, amoksycylinę z kwasem klawulanowym i cefoperazon. W roku 1997 zaobserwowano znaczny wzrost odsetka szczepów opornych na kotrimoksazol niż w latach poprzednich (Tab VI).

Tabela VI Oporność na antybiotyki *Haemophilus influenzae* izolowanych z płwociny i materiałów bronchoskopowych (w odsetkach)

Table VI Antibiotic resistance patterns of *Haemophilus influenzae* isolated from sputum and bronchoscopic materials (in %)

Antybiotyk Atibiotic	Płwociny/sputum			Mat. bronchoskopowe/ Bronchoscopic materials		
	1995	1996	1997	1995	1996	1997
Ampicylina	11,0	4,4	8,1	4,2	5,2	9,1
Amoksycylina + kw.klawulanowy	0	3,3	1,0	4,2	5,2	0
Cefoperazon	0	2,1	0	0	2,4	0
Tetracyklina	7,4	13,4	8,1	4,3	15,8	5,4
Kotrimoksazol	13,2	23,8	54,0	12,0	21,4	59,1
Liczba badanych szczepów No. of strains	46	67	84	25	38	44

Podobnie jak w przypadkach omawianych wyżej gatunków nie stwierdzono znacznych różnic we wzorach oporności szczepów pochodzących z płwociny i materiałów bronchoskopowych. Szczepy *Streptococcus pneumoniae* charakteryzowały się całkowitą wrażliwością na antybiotyki β-laktamowe. Najwyższy odsetek szczepów wykazał oporność na kotrimoksazol (57%-81%), tetracyklinę (27%-33%) i erytromycynę (3%-13%) (Tab VII).

Tabela VII Oporność na antybiotyki *Streptococcus pneumoniae* izolowanych z płwociny i materiałów bronchoskopowych (w odsetkach)

Table VII Antibiotic resistance patterns of *Streptococcus pneumoniae* isolated from sputum and bronchoscopic materials (in %)

Antybiotyk Atibiotic	Płwociny/sputum			Mat. bronchoskopowe/ Bronchoscopic materials		
	1995	1996	1997	1995	1996	1997
Tetracyklina	33,4	30,7	27,1	37,5	27,6	29,1
Erytromycyna	5,1	3,2	13,2	6,7	6,9	6,1
Kotrimoksazol	64,1	80,7	80,0	66,7	74,0	57,2
Liczba badanych szczepów No. of strains	39	26	30	15	19	28

Nie stwierdzono znacznych różnic pomiędzy szczepami *Streptococcus pyogenes* wyizolowanymi z płwociny i z materiałów bronchoskopowych. Największy odsetek oporności dotyczył tetracykliny (średnio 35%) i erytromycyny (średnio 10%). Nie stwierdzono oporności na antybiotyki β -laktamowe (Tab VIII).

Tabela VIII Oporność na antybiotyki *Streptococcus pyogenes* wyizolowanych z płwociny i materiałów bronchoskopowych (w odsetkach)

Table VIII Antibiotic resistance patterns of *Streptococcus pyogenes* isolated from sputum and bronchoscopic materials (in %)

Antybiotyk Atibiotic	Płwociny/sputum			Mat. bronchoskopowe/ Bronchoscopic materials		
	1995	1996	1997	1995	1996	1997
Tetracyklina	25,1	54,1	29,0	22,1	39,1	43,1
Erytromycyna	10,2	8,0	6,4	11,2	15,7	10,0
Kotrimoksazol	30,3	46,2	33,0	66,3	58,6	33,2
Liczba badanych szczepów No. of strains	20,0	24,0	48,0	9	46	40

Omówienie wyników

Diagnostyka bakteriologiczna schorzeń układu oddechowego jest jedną z najbardziej kontrowersyjnych procedur mikrobiologicznych. Spowodowane to jest zarówno czynnikami obiektywnymi jak i subiektywnymi. Do czynników obiektywnych należy różnorodność gatunkowa drobnoustrojów występujących w drogach oddechowych, zjawisko częstej kolonizacji bakteryjnej różnych odcinków układu oddechowego jak również dostępność do badań bakteriologicznych odpowiedniego materiału. Czynniki subiektywne mający wpływ na wiarygodność otrzymanego wyniku jest dobór właściwego materiału i prawidłowy sposób przekazania go do badania, trudność w ocenie ilościowej występujących patogenów, interpretacja otrzymanych wyników badania mikrobiologicznego i skonfrontowanie ich z oceną stanu klinicznego pacjenta. Należy również pamiętać, że obsada kadrowa laboratorium i wyposażenie mają wpływ na jakość otrzymanych wyników.

Wśród wielu klinicystów utrzymuje się niechęć do traktowania płwociny jako dobrego materiału diagnostycznego. Uważają oni bowiem, że tylko materiały pobierane w czasie bronchoskopii są wartościowe.

Celem przedstawionej analizy była próba stwierdzenia czy bakterie izolowane z obu rodzajów materiałów różnią się gatunkowo, częstością ich występowania i lekowrażliwością, u chorych poddanych rutynowej diagnostyce bakteriologicznej.

Odpowiedź na to pytanie starano się uzyskać analizując wyniki około 10 000 posiewów bakteriologicznych płwociny i materiałów bronchoskopowych uzyskanych od chorych leczonych w IGiCHP. W wyniku tej analizy starano się pośrednio uzyskać informacje o wartości płwociny w diagnostyce schorzeń układu oddechowego.

Florę fizjologiczną jamy ustnej i gardła stwierdzono w porównywalnym odsetku w przypadku obu rodzajów materiałów (66%-75%). W badanych latach stały odsetek (0,2) płwocin był wolny od drobnoustrojów. W latach 1995 i 1996

aż 10% materiałów bronchoskopowych nie zawierało bakterii, natomiast w 1997 roku odsetek ten zmniejszył się do 1,6%. Różnica w występowaniu flory fizjologicznej dotyczyła liczby wyhodowanych bakterii. W przypadku materiałów bronchoskopowych były to pojedyncze kolonie.

Tak więc stwierdzenie, że materiały bronchoskopowe pozwalają uzyskać bardziej wiarygodne wyniki, gdyż nie zawierają flory fizjologicznej górnych dróg oddechowych, nie znalazło potwierdzenia w naszych wynikach.

W każdym badaniu bronchoskopowym bronchoskop musi dotrzeć do miejsca docelowego poprzez jamę nosowogardłową i tchawicę, gdzie kolonizujące organizmy mogą zakażać pobrany materiał i być przyczyną fałszywie dodatnich wyników. Ryzyko to można zmniejszyć wykonując zabiegi przy pomocy osłoniętej szczoteczki bronchoskopowej.

Patogenną florę bakteryjną stwierdzono w porównywalnym odsetku (12,4-25,7%) w obu rodzajach materiałów, z niewielką przewagą patogenów w płwocinie. Odsetek występowania patogenów w płwocinie wahał się w kolejnych latach od 14,5 do 33,3%.

Głównymi patogenami w obu rodzajach materiałów były pałeczki gramujemne, wśród których dominowały pałeczki z rodziny Enterobacteriaceae i *Pseudomonas aeruginosa*. Stwierdzenie dominacji pałeczek gramujemnych w materiałach z dolnych dróg oddechowych jest zgodne z danymi opisywanymi w literaturze (12). Wysoka częstość występowania tych patogenów w w/w materiałach może być spowodowana zarówno procesem chorobowym jak i kolonizacją dróg oddechowych. Takie zjawisko obserwowano na przykład u 85% pacjentów poddanych wentylacji (1). Oceniamy, że wśród operowanych w naszym szpitalu chorych zabiegi wentylacyjne wykonywane są u około 10% pacjentów i szacunkowo liczba ta w latach 1995-1997 wynosiła 180.

Również wykonywana u pacjentów tracheostomia może być przyczyną kolonizacji bakteryjnej. Harlid (7) obserwując grupę chorych po zabiegu tracheostomii stwierdził u 83% pacjentów kolonizację miejsca zabiegu i tchawicy różnymi gatunkami bakterii z dominacją *Pseudomonas aeruginosa*. Użycie szczoteczki w zabiegach bronchoskopowych pozwoliło mu odróżnić zjawisko kolonizacji od rzeczywistej infekcji. Około 70% tak pobranych materiałów bronchoskopowych było wolnych od bakterii.

Można przypuszczać, że dominacja pałeczek gramujemnych w analizowanych przez nas materiałach jest związana zarówno ze środowiskiem szpitalnym jak i profilem naszego szpitala.

Wśród bakteryjnej flory gramodatniej najczęściej występował *Staphylococcus aureus* (3,6 – 4,0%), w dalszej kolejności występowały również charakterystyczne dla schorzeń układu oddechowego patogeny: *Haemophilus influenzae* (1,1-1,6%), *Streptococcus pneumoniae* (0,7 – 1,1%) i *Streptococcus pyogenes* (0,7-0,8%).

Haemophilus influenzae uznawany jest za główny patogen w przewlekłych zapaleniach oskrzeli (5), charakteryzuje się on zdolnością silnej adhezji do śluzówki (10), wydziela toksyny i uszkadza komórki nabłonka. Wg niektórych autorów jest najczęściej izolowanym patogenem zarówno z płwociny (2) jak i z materiałów bronchoskopowych (6).

Patogeny izolowane z płwociny i materiałów bronchoskopowych charakteryzowały się podobną lekowrażliwością.

Dominujące wśród pałeczek gramujemnych szczepy *Eschrichia coli* (230 szczepów) charakteryzowały się dużą opornością na cefalosporyny I generacji (56-74%) i amoksyliny (35-68%). Badane szczepy wykazywały wysoką wrażliwość na cefalosporyny III generacji, chinolony i piperacylinę z tazobaktamem. Około 50% wyizolowanych szczepów wytwarzało β -laktamazę.

Pseudomonas aeruginosa jest często izolowany od chorych na mukowiscydozę, rozstrzenia oskrzeli, oraz w trakcie długotrwałej sztucznej wentylacji płuc. Pacjenci ci są leczeni wielokrotnie antybiotykami (często cefalosporynami i chinolonami) nowej generacji. Tym najprawdopodobniej należy tłumaczyć bardzo dużą oporność na chinolony II generacji (70,4-93%) i stosunkowo wysoką na karbapenemy (27 -38%).

Wśród przebadanych szczepów gronkowca złocistego 9-14% stanowiły szczepy β -laktamazoujemne. Podobne wyniki (13,3%) uzyskano w badaniach (9,12). Analizowane szczepy (514) charakteryzowały się znaczną opornością na penicylinę benzylową (powyżej 90%) i tetracykliny (około 60%). Nie stwierdzono szczepów opornych na wankomycynę. W latach 1996 i 1997 odsetek szczepów MRSA (methicillin resistant *Staphylococcus aureus* tj. szczep gronkowca oporny na metycylinę) występujących w płwocinie wynosił kolejno 17% i 15%, zaś w materiałach bronchoskopowych 12% i 14%.

Wyizolowane z dolnych dróg oddechowych szczepy *Haemophilus influenzae* charakteryzowały się wysoką i narastającą w kolejnych latach (od około 13 do 59%) opornością na kotrimoksazol przy dużej wrażliwości na amoksylinę z kwasem klawulanowym i cefoperazon. Odsetek szczepów produkujących β -laktamazę wynosił 9- 11%. W zależności od przeprowadzanych badań inni autorzy określają częstość występowania tego enzymu jako 3,8 i 25,9% analizowanej populacji bakteryjnej (9,12).

Wśród 170 szczepów *Streptococcus pyogenes* i 157 szczepów *Streptococcus pneumoniae* nie stwierdzono oporności na żaden z badanych antybiotyków β -laktamowych czyli żaden ze szczepów nie produkował enzymu β -laktamazy. Nasze dane są zgodne z doniesieniami innych autorów (12) badających szczepy pochodzące od chorych hospitalizowanych.

W ostatnich dwóch latach w literaturze opublikowano tylko jedną pracę porównującą wyniki badań bakteriologicznych płwociny i BAL u pacjentów chorych na mukowiscydozę (3).

Pacjenci chorobami układu oddechowego mieli wykonany posiew płwociny i średnio 2 zabiegi bronchoskopowe. Tylko w 21% posiewów płwociny i BAL uzyskano takie same wyniki. Wykonane posiewy bakteriologiczne tych materiałów wykazały obecność bakterii patogennych w 70% badanych płwocin i w 100% materiałów z oskrzeli. Obserwowano też hodowanie różnych gatunków bakterii z płwociny i BAL od jednego pacjenta. Podsumowując pracę autorzy stwierdzają skuteczność badania bronchoskopowego u chorych mających kłopoty z odkrztuszaniem właściwej płwociny, jak również u chorych z utrzymującymi się objawami choroby mimo leczenia.

Autorzy (4,8) prac poglądowych na temat właściwego doboru materiałów do mikrobiologicznej diagnostyki schorzeń dolnego układu oddechowego poddają

krytyce wyniki otrzymywane zarówno z badań płwociny jak i wydzieliny oskrzelowej. Uznają hodowle otrzymane z obu rodzajów materiałów za niereprezentatywne dla schorzenia a wyniki badania za mało swoiste i czułe. Z kolei inwazyjne postępowanie jest wg nich kosztowne, czasochłonne i potencjalnie stwarzające zagrożenie. Zdaniem cytowanych autorów techniki badań diagnostycznych wymagają pilnie udoskonaleń.

W mikrobiologicznej diagnostyce gruźlicy płwocina ma największą wartość diagnostyczną a dobrze pobrana i opracowana do badania daje wartościowe wyniki (11).

Zła opinia o wartości badania bakteriologicznego płwociny w diagnostyce schorzeń pulmonologicznych może być spowodowana przysyłaniem do badania niewłaściwie pobranego materiału (ślina) i brakiem wiedzy pacjentów o prawidłowym sposobie jej odkrztuszania. W przypadku występowania trudności z uzyskaniem właściwego materiału należy zastosować prowokację (inhalacje pobudzające kaszel i odkrztuszanie płwociny) – postępowanie nie obciążające chorego.

Przedstawione i przeanalizowane wyniki badań upoważniają nas do uznania płwociny za wartościowy i porównywalny do materiałów bronchoskopowych materiał diagnostyczny. Ignorowanie wyniku badania praktykowane przez część klinicystów wydaje się nieuzasadnione. Wyniki badania mikrobiologicznego płwociny wraz z oceną stanu klinicznego pacjenta mogą pomóc w zastosowaniu odpowiedniej terapii.

Wnioski:

Z porównania trzyletnich badań płwociny i materiałów bronchoskopowych wynika, że:

1. Gatunki bakterii patogennych izolowano w podobnych odsetkach z obu rodzajów materiałów.
2. Izolowane gatunki patogenne wykazywały zbliżone wzory lekowrażliwości.
3. W obu rodzajach materiałów dominowały pałeczki gram ujemne (*Escherichia coli* i *Pseudomonas aeruginosa*).
4. Szczepy bakteryjne uznawane za florę fizjologiczną górnych dróg oddechowych stwierdzono w zbliżonych odsetkach w porównywanych materiałach.
5. Zdaniem autorów płwocina stanowi wartościowy materiał diagnostyczny.

Piśmiennictwo

1. Albert S i wsp.: Role of quantitative cultures and microscopic examination of endotracheal aspirates in the diagnosis of pulmonary infection in ventilated patients. *J.Hosp. Infect.* 1997 37 (1); 25-37
2. Ball P: Infective pathogenesis and outcomes in chronic bronchitis. *Cur Op. Pul.Med.* 1966, 2; 181-185
3. Baughman R. i wsp.: Use of bronchoalveolar lavage semiquantitative cultures in cystic fibrosis. *Am.J.Respir.Crit.Med.* 1997, 156; 286-29
4. Mc Carter i wsp.: Quality evaluation of sputum specimens for mycobacterial culture. *Amer.J.Clin.Pat.* 1966, 105; 769-773
5. Davies Bl.: Critical review of microbiological data and methods in diagnosis of lower respiratory tract infections. *Monaldi Arch.Chest.Dis.* 1994, 49; 52-56
6. Fagon J-Y i wsp.: Characterisation of distal bronchial microflora during acute exacerbation of chronic bronchitis. *Am.Rev.Respir.Dis.* 1990, 142; 1004-1008.
7. Harlid i wsp.: Respiratory tract colonisation and infections patients with chronic tracheostomy: a one –year study in patients living at home. *Am.J.Resp. in Crit.Care Med.* 1996, 154; 124-129
8. Reiner L. i wsp. : Role of microbiology laboratory in diagnosis of lower respiratory tract infections. *Clin.Inf.Dis.* 1998; 26; 742-8
9. Trzciński K. i wsp.: Wrażliwość na chemioterapeutyki szczepów bakteryjnych izolowanych z typowych zakażeń dolnych dróg oddechowych w Polsce w 1996 roku. *Int.Med.J.Exp.Clin.Res.* 1997, 3; 714-722
10. Widdicombe J.: Relationships among the composition of mucus epithelial lining fluid and adhesion of microorganisms. *Am.J.Resp.Crit.Care. Med.* 1995, 151; 2088-2093
11. Zwolska Z: Mikrobiologiczne diagnozowanie gruźlicy. *Gruźlica i AIDS.* 1995, 1; 10-15.
12. Zwolska Z. i wsp.: Ocena oporności na antybiotyki i częstość występowania b – laktamazy wśród szczepów bakterii izolowanych od chorych leczonych szpitalnie i ambulatoryjnie. *Pol Merk Lek.* 1998, IV, 23, 241-246.

Wpłynęła: 17.07.00

Adres: Zakład Mikrobiologii, Instytutu Gruźlicy i Chorób Płuc, ul. Płocka 26, 01-138 Warszawa