

УДК 615.33.032

Бактерии рода *Leuconostoc*: клиническое значение, идентификация, чувствительность к антибиотикам

Л.И. Ахметова, Е.Ю. Первалова, С.М. Розанова

Центр лабораторной диагностики, г. Екатеринбург, Россия

В настоящее время ванкомицин во многих случаях является препаратом выбора для терапии тяжелых инфекций, вызванных грамположительными кокками. Более того, он часто бывает единственным эффективным препаратом в отношении множественно-устойчивых штаммов бактерий. В связи с этим важна идентификация редко встречающихся в клинической практике микроорганизмов, обладающих природной устойчивостью к ванкомицину, в частности бактерий рода *Leuconostoc*. Это позволит не только

назначить адекватную антимикробную терапию, но и поможет избежать ошибочных заявлений о выделении ванкомицинорезистентных штаммов стрептококков, пневмококков и энтерококков.

В статье представлены схемы идентификации представителей рода *Leuconostoc* и описание клинического случая бактериемии, вызванного данным микроорганизмом.

Ключевые слова: лейконосток, ванкомицин, микробиологическая диагностика, идентификация, бактериемия.

Genus *Leuconostoc*: Clinical Significance, Identification, Susceptibility to Antimicrobials

L.I. Ahmetova, E.J. Perevalova, S.M. Rozanova

Microbiological Laboratory of Center of Laboratory Diagnostics, Ekaterinburg, Russia

In many cases vancomycin is a drug of choice for the treatment of serious gram-positive infections and what is more important vancomycin is often the only antimicrobial agent that active against multiresistant strains. In this connection the correct identification of intrinsically vancomycin-resistant bacteria that quite uncommon in clinical practice, in particular *Leuconostoc* spp., is important. Prompt identification of this bacterium will lead not only to

administration of adequate antibiotic therapy but also to avoid the mistaken reports about vancomycin resistance in streptococci, enterococci and other streptococcus-like bacteria.

Approaches to identification of *Leuconostoc* are presented. One case of *Leuconostoc* bacteremia is described.

Key words: *Leuconostoc*, vancomycin, laboratory diagnosis, identification, bacteremia.

Введение

Широкое использование антибактериальных препаратов в клинической практике приводит к селекции высокорезистентных штаммов микроорганизмов. Так, следствием широкого применения β -лактамных антибиотиков явилось распространение метициллинорезистентных стафилококков и устойчивых к ампициллину энтерококков. Препаратом выбора для лечения инфекций, вызванных

этим часто встречающимися в клинической практике возбудителями, является ванкомицин.

До настоящего времени в России не было достоверных сообщений о выделении ванкомицинорезистентных штаммов энтерококков и стафилококков со сниженной чувствительностью к ванкомицину. В то же время необходимо помнить о возможности инфицирования относительно редко встречающимися в клинической практике микроорганизмами с

природной устойчивостью к ванкомицину, среди которых наибольшее значение имеют бактерии рода *Leuconostoc*.

Общая характеристика бактерий рода *Leuconostoc*

Стрептококкоподобные бактерии рода *Leuconostoc* из клинического материала впервые выделены Handwerger в середине 80-х годов прошлого века [1].

Leuconostoc spp. – грамположительные, каталазонегативные, неспорообразующие, неподвижные, гетероферментативные факультативно-анаэробные кокки, широко распространенные в окружающей среде, включая почву и растения [2, 3].

Род *Leuconostoc* включает "типичного представителя" *L. mesenteroides* и 8 "второстепенных" видов – *L. pseudomesenteroides*, *L. lactis*, *L. citreum*, *L. gelidum*, *L. carnosum*, *L. fallax*, *L. argentinum* и *L. oenos*. Два других ранее существовавших вида, *L. cremoris* и *L. dextranicum*, упразднены в связи с тем, что генетически являются не более чем подвидами *L. mesenteroides*. А упомянутый вид *L. pseudomesenteroides*, возможно, будет выделен в новый род *Wesella* (*W. pseudomesenteroides*) [3].

Благодаря использованию молекулярных методов исследования, установлено, что вид *L. oenos* генетически достаточно далек от остальных представителей рода *Leuconostoc*. В связи с этим предложено перенести его в новый род *Oenococcus* как *O. oeni* [3].

L. mesenteroides и *L. lactis* изолируются преимущественно из молока и молочных продуктов. *L. oenos* был выделен только из вина. *L. pseudomesenteroides* и *L. citreum* обнаруживаются на растениях, овощах и в молочных продуктах. *L. gelidum* и *L. carnosum* чаще всего выделяются из мяса и мясных продуктов, *L. fallax* – из консервированных овощей. *L. argentinum* изолирован из непастеризованного молока в Аргентине, как следует из названия [3].

Клиническое значение бактерий рода *Leuconostoc*

Представители рода *Leuconostoc* имеют скорее экономическое, чем клиническое значение, поскольку они используются в изготовлении некоторых молочных продуктов и вина. Однако в последние годы эти микроорганизмы все чаще выделяются при инфекциях в основном от пациентов с иммунодефицитными состояниями.

В литературе описаны случаи выделения *Leuconostoc* spp. из крови больных со злокачественными новообразованиями и длительной катетеризацией, из интраабдоминальных абсцессов и абсцессов печени, а также из раневого отделяемого

при послеоперационных инфекциях и при одонтогенных абсцессах [4–8]. Описан также случай гнойного менингита, вызванного *Leuconostoc* spp. у 16-летней, ранее здоровой, пациентки [8].

Другой группой риска, возможно, даже более важной, чем пациенты с иммуносупрессией, являются новорожденные и дети первых лет жизни. Так, I.R. Friedland et al. описали случай гнойного менингита, вызванного *Leuconostoc mesenteroides* у месячного ребенка [9], а J. Carapetis et al. – 2 случая бактериемии *Leuconostoc* spp. у детей с некротизирующим энтероколитом, длительно получавших парентеральное питание [10]. Более того, описано несколько случаев бактериемии, связанной с употреблением детского питания, контаминированного *L. mesenteroides* [11].

Дополнительными факторами, предрасполагающими к заражению, являются: длительное госпитальное лечение, применение устройств (венозных катетеров, гастро- или трахеостомы, дренажных фистул), нарушающих целостность кожи и слизистых оболочек, обширные хирургические вмешательства, снижение барьерной функции кишечника, предшествующая антибактериальная терапия препаратами, недостаточно активными в отношении лейконоста [1, 12–15].

Следует признать, что инфекционные заболевания, вызванные *Leuconostoc* spp., регистрируются редко. Это связано не только с тем, что данный микроорганизм действительно имеет невысокое клиническое значение, но и с отсутствием практики его выделения, в основном в связи с недостаточным уровнем знаний лабораторных работников.

Сложность идентификации также связана и со сходством некоторых свойств данного микроорганизма с другими, более распространенными бактериями – пневмококками, зелеными стрептококками, особенно *Streptococcus sanguis* II, и лактобактериями, что может быть причиной лабораторных ошибок [3, 16].

Среди факторов патогенности *Leuconostoc* spp. известен лейкоцидин J (бактерицин), инактивирующий протеолитические ферменты и бактерицидный в отношении лактобактерий и некоторых других микроорганизмов [17, 18, 19]. Однако в целом "классических" факторов патогенности, таких, как продукция токсинов, у представителей рода *Leuconostoc* не выявлено.

Активность антибактериальных препаратов в отношении *Leuconostoc* spp.

Лейконосток принадлежит к немногим грамположительным бактериям, включая *Pediococcus* spp., *Lactobacillus* spp., *Erysipelothrix* spp. и некоторые эн-

терококки, природно-резистентным к гликопептидным антибиотикам – ванкомицину и тейкопланину.

Природная устойчивость представителей рода *Leuconostoc* к гликопептидам связана с тем, что концевой участок пентапептида, используемого для построения клеточной стенки лейконостока, представлен депсипептидом аланин-лактат, а не дипептидом аланин-аланин, как у чувствительных к ванкомицину бактерий.

Однако, несмотря на резистентность к гликопептидам, *Leuconostoc* spp. чувствителен к большинству антибиотиков, активных в отношении стрептококков. Так, лейконосток обычно чувствителен к пенициллину, ампициллину, клиндамицину, эритромицину и фосфомицину [14, 16]. Показана также активность *in vitro* нового кетолида HMR3 647 [20]. Умеренную активность проявляют имипенем, цефалоспорины, тетрациклины и хлорамфеникол [14, 16].

Интересно, что, кроме природной резистентности к ванкомицину, бактерии рода *Leuconostoc* обладают рядом других уникальных свойств. Так, *L. mesenteroides* резистентен к фитонцидам чеснока, а *L. oenos* – к низким значениям pH среды (pH 2,6) [21, 22].

Крайне лимитированные клинические данные свидетельствуют, что, по-видимому, препаратом выбора для терапии инфекций, вызванных *Leuconostoc* spp., является пенициллин или ампициллин [1, 16]. Однако следует учитывать, что

встречаются штаммы лейконостока со сниженной чувствительностью к этим антибиотикам [14].

Лабораторная диагностика

Клиническое значение имеет выделение *Leuconostoc* spp. только из заведомо стерильных источников (кровь, ликвор, перитонеальная и суставная жидкости) при соблюдении всех правил асептики и антисептики. Если же лейконосток обнаружен в материале, вероятность контаминации которого высока (например, в отделяемом из раны), клиническое значение данный факт имеет только в том случае, если не обнаружено никаких других более вирулентных микроорганизмов или если лейконосток в большом количестве выделяется при нескольких анализах последовательно взятого материала [1, 14].

Забор, транспортирование и хранение клинического материала. Не описано каких-либо специфических требований, предъявляемых к забору, транспортированию и хранению клинического материала для исследования его на наличие бактерий рода *Leuconostoc*. Поскольку лейконосток является факультативным анаэробом, для него приемлемы рутинные методы, принятые для неанаэробных бактерий [1].

Выделение из клинического материала. Культура *Leuconostoc* spp. может быть выделена при рутинном исследовании клинического материала. Никаких специальных питательных сред и условий для культивирования не требуется. Данный микро-

Таблица 1. Идентификация стрептококков и стрептококкоподобных бактерий [3]

| Наименование рода бактерий | Чувствительность к ванкомицину | Каталаза | Продукция газа из глюкозы | ЛАП | ПИР | Гидролиз эскулина | Рост в 6,5% растворе NaCl | Гидролиз аргинина | Рост при температуре | |
|----------------------------|--------------------------------|----------|---------------------------|-----|-----|-------------------|---------------------------|-------------------|----------------------|-------|
| | | | | | | | | | 10°C | 45°C |
| <i>Streptococcus</i> | Ч | – | – | + | – | В | В | В | – | – (+) |
| <i>Enterococcus</i> | Ч (Р) | – | – | + | + | + | + | В | + | + |
| <i>Lactococcus</i> | Ч | – | – | + | + | + | В | – | + | – |
| <i>Aerococcus</i> | Ч | – | – | В | В | – | + | – | В | – |
| <i>Leuconostoc</i> | Р | – | + | – | – | В | В | – | + | В |
| <i>Pediococcus</i> | Р | – | – | + | – | + | В | В | – | В |
| <i>Gemella</i> | Ч | – | – | В | В | – | – | – | – | – |
| <i>Alloiococcus</i> | Ч | + | – | + | + | – | + | – | – | – |
| <i>Vagococcus</i> | Ч | – | – | + | + | + | + | В | + | – |
| <i>Tetragenacoccus</i> | Ч | – | – | + | – | ? | ? | ? | – | – |
| <i>Globicatella</i> | Ч | – | – | – | + | + | + | – | – | – |
| <i>Helcococcus</i> | Ч | – | – | – | + | + | В | – | ? | ? |

Примечание: ЛАП – лейциламинопептидаза, Ч – чувствительный, “+” – положительный результат, “+ (–)” – большинство штаммов дают положительный результат, В – переменный результат, ПИР – пирролидонил-бета-нафтилаид, Р – резистентный, “–” – отрицательный результат, “– (+)” – большинство штаммов дают отрицательный результат, ? – нет данных.

Таблица 2. Дифференциация ванкомицинорезистентных стрептококкоподобных бактерий [25]

| Наименование рода бактерий | Устойчивость к ванкомицину | Гидролиз L-пирролидонил-бета-нафтиламида (ПИР-тест) | Наличие фермента лейцинаминопептидазы |
|----------------------------|----------------------------|---|---------------------------------------|
| <i>Leuconostoc</i> | + | – | – |
| <i>Enterococcus</i> * | + | + | + |
| <i>Pediococcus</i> | + | – | + |

* Большинство штаммов чувствительны

организм хорошо растет на обычных обогащенных неселективных средах, таких, как кровяной и шоколадный агар [1, 23, 24].

Идентификация. На кровяном агаре лейконосток формирует мелкие колонии с альфа-гемолизом (в этом случае они очень похожи на зеленыящие стрептококки) или без гемолиза.

Тест на наличие каталазы дает отрицательный результат.

При окраске по Граму лейконостоки представляют собой грамположительные кокки, располагающиеся в виде цепочек, особенно тогда, когда мазок сделан с жидкой питательной среды. Правильное проведение микроскопии крайне важно, поскольку она также в большинстве случаев позволяет дифференцировать лейконосток от лактобактерий.

Основная проблема идентификации представителей рода *Leuconostoc* состоит в том, что данные микроорганизмы часто могут быть ошибочно идентифицированы как зеленыящие стрептококки (особенно *Streptococcus sanguis* II), пневмококки, энтерококки или лактобактерии. Это обстоятельство приводит к ошибочным утверждениям о появлении ванкомицинорезистентных штаммов стрептококков, пневмококков и энтерококков.

В табл. 1 приведены основные отличительные свойства стрептококков и стрептококкоподобных бактерий, включая лейконосток.

Природная резистентность *Leuconostoc* spp. к ванкомицину позволяет быстро дифференцировать данный микроорганизм от большинства других стрептококкоподобных бактерий, за исключением *Pediococcus* spp. и ванкомицинорезистентных штаммов энтерококков, дифференциальная диагностика которых приведена в табл. 2.

В табл. 3 представлена видовая идентификация представителей рода *Leuconostoc*.

Случай из практики

В микробиологической лаборатории Центра лабораторной диагностики г. Екатеринбурга в 1998 г. была выделена культура *Leuconostoc* spp. из крови

ребенка (возраст – 23 дня) с диагнозом “энтероколит”. Ранее в литературе были описаны аналогичные случаи обнаружения *Leuconostoc* spp. у грудных детей с патологией желудочно-кишечного тракта, в основном с некротическим энтероколитом.

Для бактериологического исследования крови, идентификации и определения чувствительности возбудителя к антибиотикам в лаборатории применяли микробиологические анализаторы “Bactec-9240” и “Sceptor” (Becton Dickinson, США). Выделенная культура идентифицирована как *Streptococcus agalactiae*. Она оказалась резистентной к ванкомицину и чувствительной к пенициллину и ампициллину.

После получения столь необычного результата на автоматизированной системе дополнительно были выполнены следующие тесты: САМР-тест (для подтверждения вида *S. agalactiae*), серотипирование, определение чувствительности диско-диффузионным методом к ранее тестированным антибиотикам. В результате микроорганизм идентифицирован как зеленыящий стрептококк, чувствительный к пенициллину и резистентный к ванкомицину. В то же время результаты серотипирования показали, что данный микроорганизм, по-видимому, имеет G-групповой антиген.

Для подтверждения результата выделенную культуру направили в Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии*, где методом E-тестов была определена чувствительность к антибиотикам. Данный микроорганизм действительно был резистентен к гликопептидным антибиотикам – ванкомицину (МПК >256 мг/л) и тейкопланину (МПК >256 мг/л). В то же время он был чувствителен к ампициллину (0,5 мг/л). В дальнейшем данный штамм был отправлен в бактериологическую лабораторию Центрального госпиталя г. Лиона (Франция)*, где на автоматическом анализаторе (BioMerieux, Франция) культура была окончательно идентифицирована как *Leuconostoc* spp.

* Авторы выражают искреннюю признательность за содействие в работе сотрудникам Научно-исследовательского института антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии и М. Chomarar (Hospices civils de Lyon, France).

Таблица 3. Идентификация видов бактерий рода *Leuconostoc* [3]

| Тест | <i>L. mesenteroides</i> ss. <i>mesenteroides</i> | <i>L. mesenteroides</i> ss. <i>dextranicum</i> | <i>L. mesenteroides</i> ss. <i>cremoris</i> | <i>L. (W.) paramesenteroides</i> | <i>L. pseudomesenteroides</i> | <i>L. citreum</i> | <i>L. lactis</i> | <i>L. (O) enos</i> | <i>L. gelidum</i> | <i>L. carnosum</i> | <i>L. fallax</i> | <i>L. argentinum</i> |
|------------------------|--|--|---|----------------------------------|------------------------------------|-------------------|-------------------|--------------------|------------------------|------------------------|------------------|--|
| Желтый пигмент | - | - | - (+) | - | - (+) | + | - | - | - | - | - | - |
| Рост при температуре: | | | | | | | | | | | | |
| 10°C | ? | ? | ? | ? | + | + | ? | ? | + | + | + | + |
| 37°C | + (-) | + | - | + (-) | + | - (+) | + | + (-) | - (+) | - (+) | + | + |
| 45 °C | - | ? | ? | ? | - | - | - | ? | - | - | - | - |
| Гидролиз эскулина | + (-) | + (-) | - | + (-) | + | + | - (+) | + | + | - (+) | ? | - |
| Декстран из сахарозы | + | + | - | - | ? | ? | - | - | B | + | ? | - |
| Кислота из: | | | | | | | | | | | | |
| амигдалина | B | B | - | - | - (+) | + (-) | - | ? | + | - | - | - |
| L-арабинозы | + (-) | - | - | + | + (-) | + | - (+) | B | + | - | - | B |
| арбутина | ? | - | - | - | - (+) | + | - | ? | + | - | - | - |
| целлобиозы | + (-) | B | - | B | + (-) | + | - | B | + | B | - | B |
| фруктозы | + | + | B | + | + | + | + | + | + | + | + | + (-) |
| галактозы | + (-) | B | + (-) | + | + (-) | - (+) | + | B | - | - | - | + |
| β -гентобиозы | B | ? | - | - (+) | B | + | - | ? | ? | ? | ? | B |
| глюконата | B | ? | - | + | B | + | - | ? | - | - | ? | - |
| глюкозы | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + | + |
| лактозы | B | + | B | - | B | - | + | - | - | - | - | + |
| мальтозы | + | + | - (+) | + | + | + | + | - | B | B | + | + |
| маннитола | +* | B | - | +* | - (+) | B | - | - | - | - | +* | B |
| маннозы | + | B | B | + | + | + | + | B | + | B | + | + |
| мелибиозы | + | B | - (+) | + | + (-) | - | + (-) | + | + | B | - | + |
| раффинозы | + (-) | B | - (+) | - (+) | + (-) | - | + (-) | - | + | - | - | + (-) |
| рибозы | + (-) | ? | - (+) | + | + | - | - | ? | B | B | + | - |
| салицина | + | B | - | - (+) | B | + | - | + | + | B | - | - |
| крахмала | - | - | - | - | +* | - | - | ? | ? | ? | ? | - |
| сахарозы | + | + | ? | + | + (-) | + | + | - | + | + | + | + |
| трегалозы | + | + | ? | + | + | + | B | + | + | + | +* | B |
| туранозы | + (-) | ? | - | + | + (-) | + | - | ? | ? | ? | + | B |
| ксилозы | + | B | - (+) | - | + | - (+) | - | B | - | - | - | B |
| Откуда чаще выделяется | Молочные продукты, овощи | Молочные продукты | Молочные продукты | Молочные продукты | Растения, овощи, молочные продукты | Растения | Молочные продукты | Вино | Мясо и мясные продукты | Мясо и мясные продукты | Консервные овощи | Непастеризованное молоко (в Аргентине) |

Примечание: "+" – положительная реакция, "+ (-)" – большинство штаммов дает положительную реакцию, "- (+)" – большинство штаммов дает отрицательную реакцию, ? – нет данных, * – положительная реакция, но медленная или слабовыраженная, "-" – отрицательный результат, B – вариабельный результат.

