

УДК 616.34-008.87:579.86]-053.32-085.33

Энтерококковое носительство и антибиотикорезистентность в отделении выхаживания недоношенных новорожденных

А.В. Дехнич¹, О.И. Кречикова², Л.И. Туркова³, Л.С. Страчунский¹

¹ НИИ антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии, Россия

² Смоленский областной центр госсанэпиднадзора, Россия

³ Детская больница № 1 г. Смоленска, Россия

Изучена чувствительность 100 штаммов энтерококков, выделенных в отделении выхаживания недоношенных новорожденных детской больницы № 1 г. Смоленска. Из исследованных штаммов 61 идентифицирован как *Enterococcus faecium*, 33 – *Enterococcus faecalis*, 4 – *Enterococcus casseliflavus* и 2 – *Enterococcus durans*. Минимальная подавляющая концентрация ампициллина, гентамицина, стрептомицина, ванкомицина, тейкопланина, хлорамфеникола, тетрациклина, рифампицина, цiproфлоксацина, офлоксацина, левофлоксацина, спарфлоксацина, хинупристина, дальфопристина и хинупристина/дальфопристина (синерцида) опре-

делялась методом разведений в агаре. Из исследованных штаммов *Enterococcus* spp. 53% были резистентны к ампициллину, 39 и 44% – к стрептомицину и гентамицину, 50, 71 и 93% – к хлорамфениколу, тетрациклину и рифампицину соответственно. Не было штаммов, полностью резистентных к ванкомицину и тейкопланину. В целом *E. faecium* отличался наибольшей резистентностью среди исследованных энтерококков к тестируемым антибиотикам, за исключением хинупристина/дальфопристина, к которому более резистентным оказался *E. faecalis*.

Ключевые слова: энтерококки, антибиотикорезистентность, носительство, педиатрия.

Enterococcal Carriage and Antimicrobial Resistance in Premature Born Unit

A.V. Dekhnitch¹, O.I. Kretchikova², L.I. Turkova³, L.S. Stratchounski¹

¹Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical Academy, Russia

²Smolensk Regional Center for Epidemiology and Hygiene, Russia

³Paediatric Hospital No. 1, Smolensk, Russia

Sensitivity of 100 enterococcal strains isolated from faeces in premature born unit to 15 antimicrobial agents has been studied. 33 strains of *Enterococcus faecalis*, 61 strains of *Enterococcus faecium*, 4 strains of *Enterococcus casseliflavus* and 2 strains of *Enterococcus durans* were included in this study. MICs to ampicillin, gentamicin, streptomycin, vancomycin, teicoplanin, chloramphenicol, tetracycline, rifampicin, ciprofloxacin,

ofloxacin, levofloxacin, sparfloxacin, quinupristin, dalfopristin and quinupristin/dalfopristin were detected by agar dilution method. 53% of strains were resistant to ampicillin, 44 and 39% – to gentamicin and streptomycin, 50, 71 and 93% were resistant to chloramphenicol, tetracycline and rifampicin, respectively. There were no strains fully resistant to vancomycin and teicoplanin. Generally *E. faecium* was more resistant than other enterococci to most of tested antibiotics with exception of quinupristin/dalfopristin where *E. faecalis* was more resistant.

Key words: enterococci, antimicrobial resistance, carriage, premature born.

Контактный адрес:
Андрей Владимирович Дехнич
214019, Смоленск, а/я 5
Тел.: (0812) 611301
Эл. почта: andrei@antibiotic.ru

Введение

Энтерококки являются частью нормальной микрофлоры *желудочно-кишечного тракта* (ЖКТ) человека и животных [1–3]. *Enterococcus faecalis*, который наиболее часто встречается у человека, обнаруживается в испражнениях более 90% здоровых взрослых людей [1]. Около 50% новорожденных детей колонизируются *E. faecalis* на первом году жизни [1, 4]. Колонизация *E. faecium* менее типична. Однако в последние годы отмечается повышение частоты нозокомиального носительства этого микроорганизма, связанное, по-видимому, с большей его резистентностью ко многим антибактериальным препаратам [5–8].

Несмотря на то что энтерококки являются частью нормальной микрофлоры, они все чаще рассматриваются как один из важнейших возбудителей нозокомиальных инфекций [1–3]. Особенно часто такие инфекции развиваются у новорожденных (до 10% от числа всех бактериальных неонатальных инфекций). Они протекают особенно тяжело и часто приводят к развитию бактериемии и сепсиса. От 20–25 до 46% случаев энтерококковой бактериемии у новорожденных заканчивается летальным исходом [9–12].

В целом можно отметить тенденцию к общему росту частоты неонатальных энтерококковых инфекций, что, по-видимому, связано с увеличением выживаемости недоношенных новорожденных, использованием антибиотиков широко спектра дей-

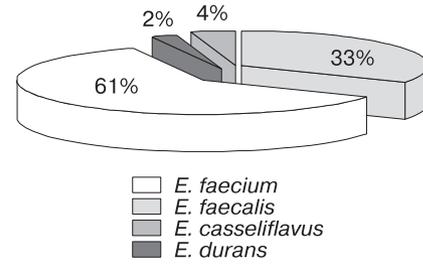


Рис. 1. Структура энтерококкового носительства в отделении выхаживания недоношенных новорожденных детской больницы № 1 г. Смоленска

вия, особенно цефалоспоринов, парентеральным питанием и искусственной вентиляцией легких [1–3, 9, 13].

Как известно, *E. faecalis* “ответственен” за 80–90% энтерококковых инфекций. Непосредственным источником инфекции, как правило, является собственная микрофлора (эндогенное инфицирование) [1–4]. В то же время для *E. faecium*, вызывающего 10–15% энтерококковых инфекций, характерно распространение от пациента к пациенту, то есть чаще инфицирование является экзогенным. Но в любом случае основным резервуаром *Enterococcus* spp. является кишечная микрофлора, что объясняет целесообразность периодического мониторинга резистентности энтерококков, колонизирующих ЖКТ госпитализированных пациентов, для оценки эпидемиологической ситуации в лечебном учреждении и планирования эмпирической терапии [2, 7, 14].

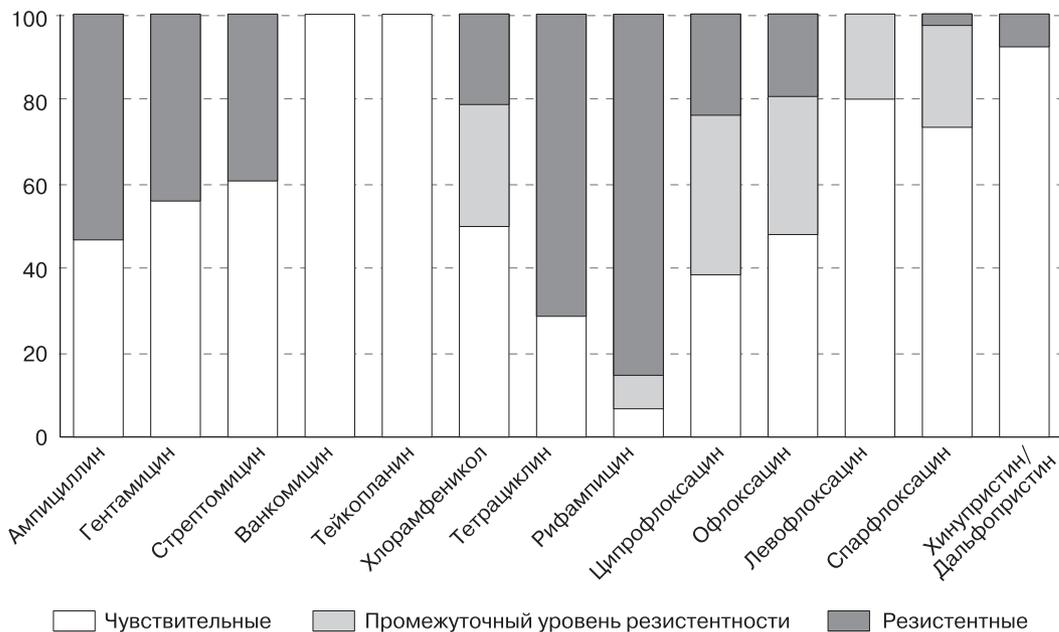


Рис. 2. Суммарная чувствительность *Enterococcus* spp., % штаммов

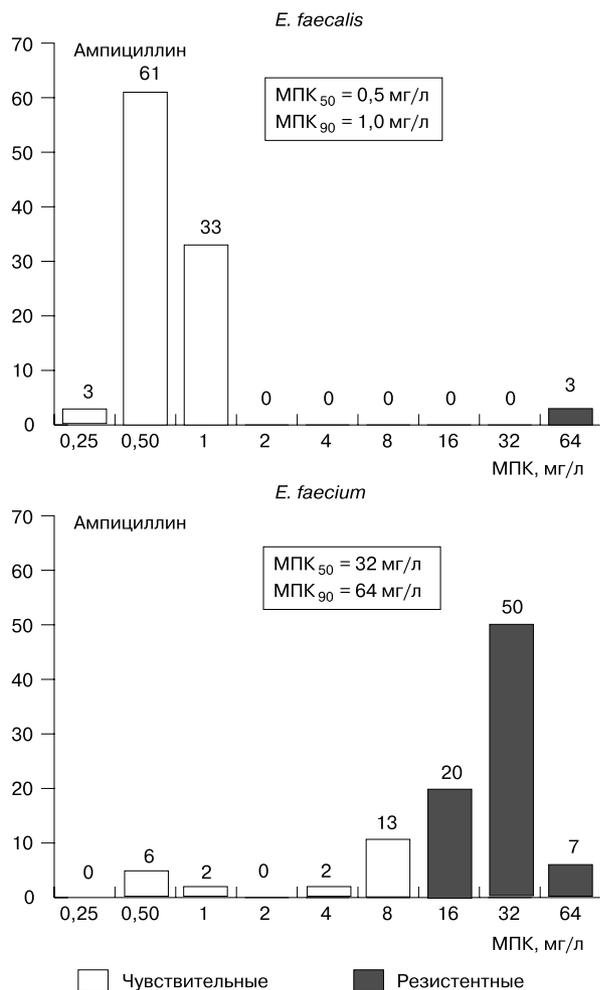


Рис. 3. Чувствительность к ампициллину *Enterococcus* spp., выделенных у недоношенных новорожденных, % штаммов

Множественно-устойчивые штаммы энтерококков, особенно ванкомицинорезистентные, являются одной из основных проблем терапии нозокомиальных инфекций. Однако данные о резистентности энтерококков в России крайне ограничены, как и мало известно об эпидемиологии энтерококкового носительства в целом и у недоношенных новорожденных в частности.

Материал и методы исследования

В исследование были включены 100 последовательных штаммов *Enterococcus* spp., изолированных из фекалий 76 новорожденных, госпитализированных в отделение выхаживания недоношенных детской больницы № 1 г. Смоленска (главный врач – В.М. Олейникова).

Предварительную идентификацию осуществляли с использованием окраски по Граму, теста на на-

личие каталазы, а также на основании роста и морфологии колоний на желчно-эскулиновом агаре. Окончательно выделенные штаммы идентифицировали с помощью идентификационных полосок API 20 STREP (BioMérieux, Франция). При необходимости использовали дополнительные тесты (подвижность, образование пигмента, редукция теллурита калия).

Минимальную подавляющую концентрацию (МПК) к 15 антимикробным препаратам (ампициллину, гентамицину, стрептомицину, ванкомицину, тейкопланину, хлорамфениколу, тетрациклину, рифампицину, ципрофлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, спарфлоксацину, хинупристину, дальфопристину и хинупристину/дальфопристину) определяли методом разведений в агаре. Чувствительность и интерпретацию ее результатов определяли согласно рекомендациям Национального комитета по клиническим лабораторным стандартам США (NCCLS) [15]. Для контроля качества определения чувствительности использовали контрольный штамм *E. faecalis* ATCC 29212.

При интерпретации результатов определения чувствительности резистентные и умеренно-резистентные штаммы условно объединяли в группу “нечувствительных” штаммов, как рекомендует Европейской системой по контролю за антибиотикорезистентностью (EARSS).

Все включенные в исследование культуры были скринированы на продукцию β -лактамаз при помощи теста с нитроцефином. Кроме того, анализировали антибактериальные препараты, назначавшиеся пациентам, включенным в исследование.

Результаты исследования

Из выделенных 100 штаммов энтерококков 61 (61%) был идентифицирован как *E. faecium*, 33 (33%) – как *E. faecalis*, 4 (4%) – как *E. casseliflavus*, 2 (2%) – как *E. durans* (рис. 1). Большинство (90%) детей получали антибактериальные препараты (см. таблицу). Чаще назначались цефалоспорины и аминогликозиды.

Частота назначения антибактериальных препаратов обследованным детям

Антибиотик	%
Аминогликозиды (гентамицин, амикацин)	51
Цефалоспорины I поколения (цефазолин)	48
Цефалоспорины II–III поколений (цефуроксим, цефотаксим)	46
Линкомицин	4
Оксациллин	3
Не получали антибиотики	10

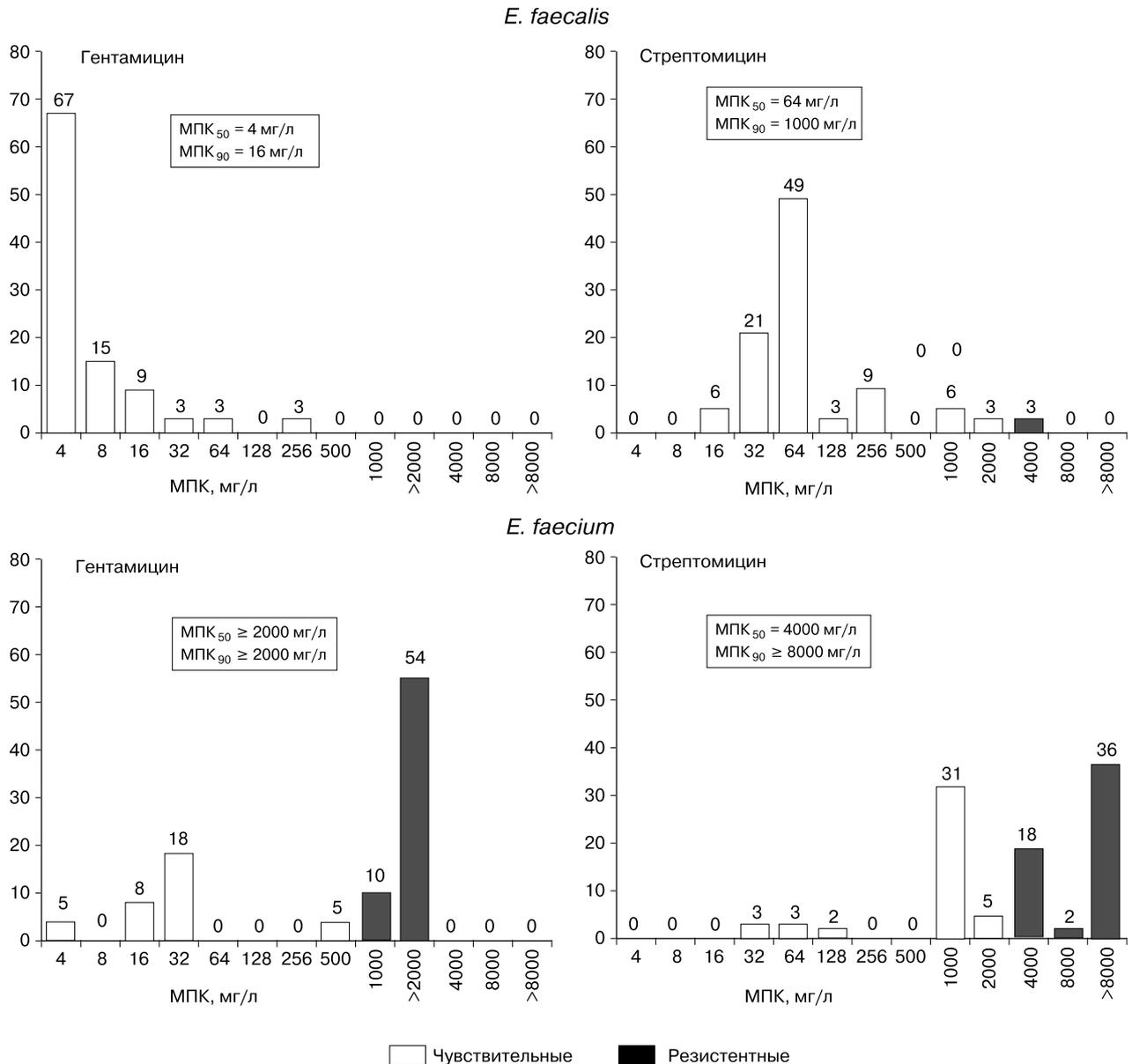


Рис. 4. Чувствительность к аминогликозидам *Enterococcus* spp., выделенных у недоношенных новорожденных, % штаммов

Суммарные результаты определения чувствительности представлены на рис. 2.

Резистентность к ампициллину (рис. 3). Только 1 (3%) штамм *E. faecalis* проявил резистентность (МПК – 64 мг/л) к ампициллину. У 97% штаммов МПК ампициллина была в диапазоне 0,5–1,0 мг/л. Продукции β-лактамаз не выявлено.

В противоположность *E. faecalis* большинство штаммов (77%) *E. faecium* были резистентны к ампициллину со значением МПК 16 – 64 мг/л.

Все 4 штамма *E. casseliflavus* оказались резис-

тентными к ампициллину (МПК – 16 – 64 мг/л), что, однако, не связано с продукцией β-лактамаз. Один из двух штаммов *E. durans* был устойчив к ампициллину (МПК – 32 мг/л), в то время как против второго ампициллин был активен (МПК – 0,25 мг/л). Оба штамма β-лактамаз не продуцировали.

Резистентность к аминогликозидам (рис. 4). Все штаммы *E. faecalis* были чувствительны к гентамицину (МПК – 4–256 мг/л). Только 1 изолят (3%) проявил резистентность к стрептомицину (МПК – 4000 мг/л).

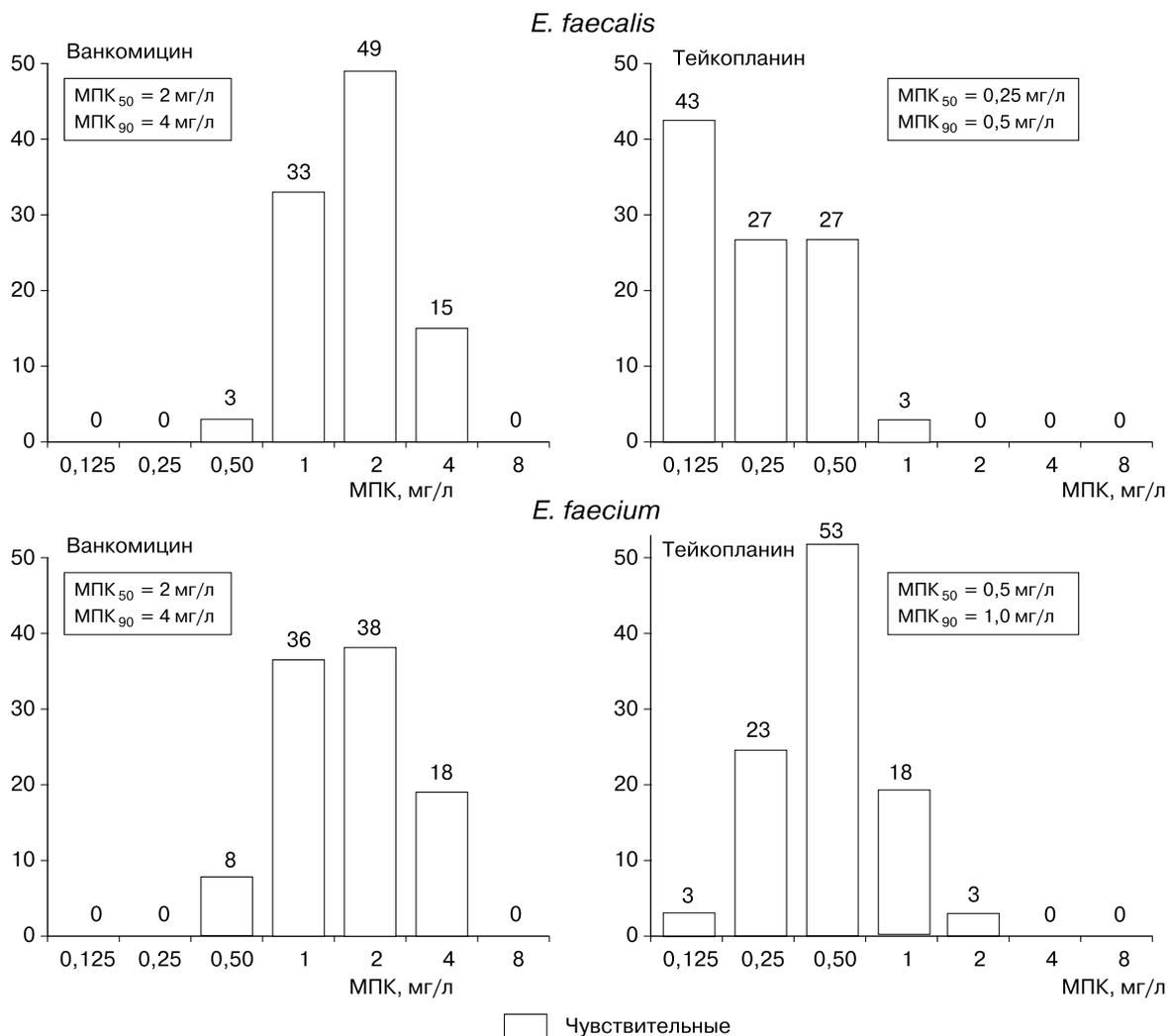


Рис. 5. Чувствительность к гликопептидам *Enterococcus* spp., выделенных у недоношенных новорожденных, % штаммов

Большинство штаммов *E. faecium* (64 и 56% соответственно) обладали высоким уровнем резистентности к гентамицину (МПК – 1000–>2000 мг/л) и стрептомицину (МПК – 4000–>8000 мг/л).

Все 4 штамма *E. casseliflavus* проявили высокий уровень резистентности к гентамицину (МПК – 1000–>2000 мг/л), в то время как только 1 штамм был резистентен к стрептомицину (МПК – 8000 мг/л). Один из двух изолятов *E. durans* был резистентен к обоим аминогликозидам.

Чувствительность к гликопептидам (рис. 5). Не обнаружено штаммов, резистентных к гликопептидным антибиотикам ванкомицину и тейкопланину (рис. 5).

Резистентность к хлорамфениколу, тетрациклину и рифампицину (рис. 6–8). Хлорамфеникол (рис. 6) демонстрировал практически эквива-

лентную активность в отношении как *E. faecalis*, так и *E. faecium*. В то же время тетрациклин (рис. 7) был значительно менее активен в отношении *E. faecium* (резистентность – 92%) в сравнении с *E. faecalis* (резистентность – 30%).

Рифампицин (рис. 8) обладал низкой активностью в отношении всех исследованных энтерококков (88% *E. faecalis* и 93% *E. faecium* оказались нечувствительными).

Все штаммы *E. casseliflavus* были резистентны к хлорамфениколу, тетрациклину и рифампицину, один штамм *E. durans* – к хлорамфениколу и рифампицину, но чувствителен к тетрациклину, другой – устойчив к тетрациклину, но чувствителен к хлорамфениколу и рифампицину.

Резистентность к фторхинолонам (рис. 9–12). Все протестированные фторхинолоны облада-

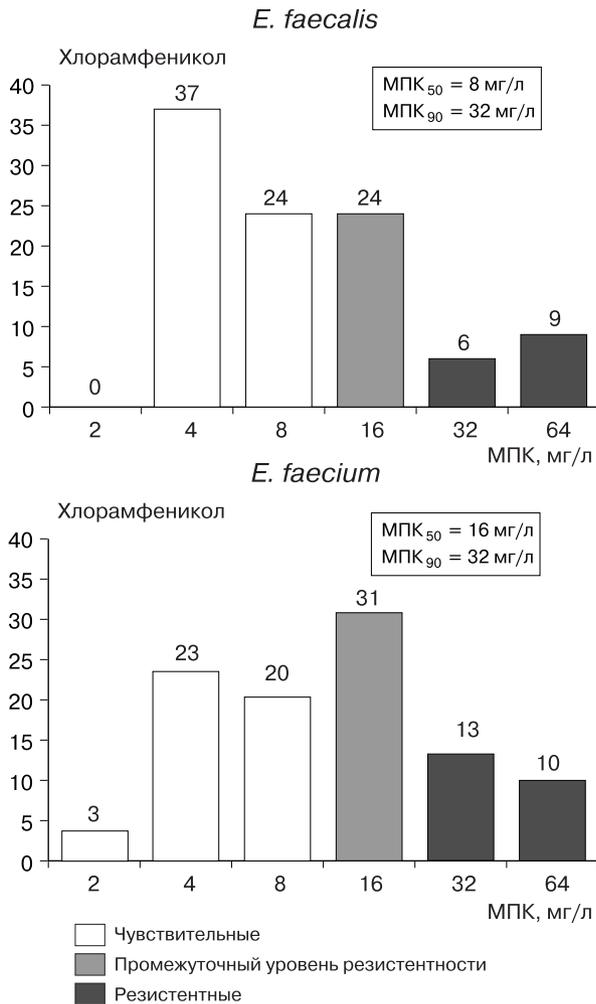


Рис. 6. Чувствительность к хлорамфениколу *Enterococcus* spp., выделенных у недоношенных новорожденных, % штаммов

ли хорошей *in vitro* активностью в отношении *E. faecalis*. Только 4 (12%) штамма были нечувствительны к ципрофлоксацину, а 1 (3%) штамм – к офлоксацину. Не было выявлено устойчивости к левофлоксацину и спарфлоксацину.

Все фторхинолоны были значительно менее активны в отношении *E. faecium* по сравнению с *E. faecalis*: 73% штаммов *E. faecium* были нечувствительны к ципрофлоксацину, 28% – к офлоксацину. Промежуточный уровень резистентности к левофлоксацину выявлен у 28% штаммов *E. faecium*; 39% штаммов были нечувствительны к спарфлоксацину.

Все 4 штамма *E. casseliflavus* и 1 из 2 штаммов *E. durans* были резистентны к ципрофлоксацину, офлоксацину и левофлоксацину, но чувствительны к спарфлоксацину.

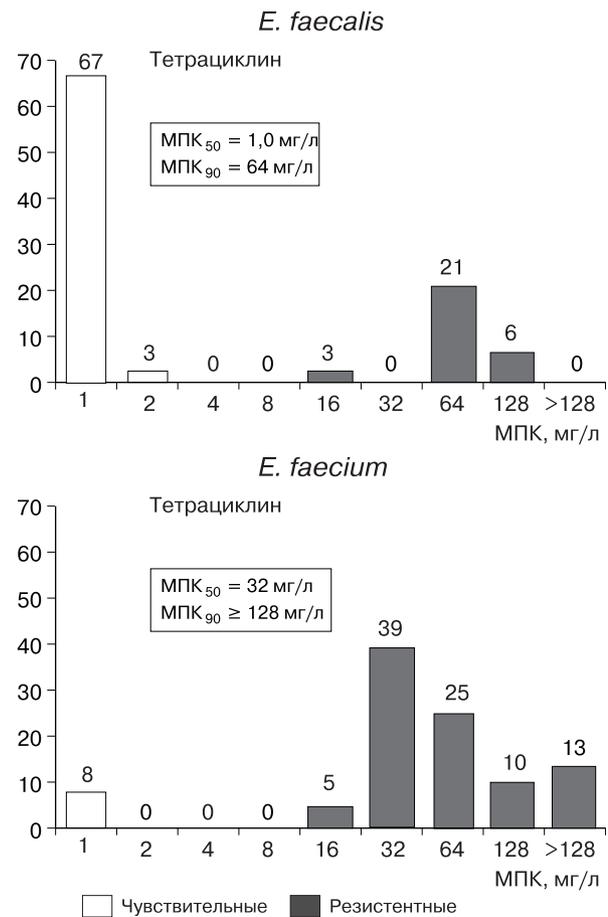


Рис. 7. Чувствительность к тетрациклину *Enterococcus* spp., выделенных у недоношенных новорожденных, % штаммов

Активность хинупристина, дальфопристина и хинупристина/дальфопристина (рис. 13). Большинство штаммов (97%) *E. faecalis* имели МПК для хинупристина >8 мг/л. МПК дальфопристина для всех штаммов варьировала от 128 до >256 мг/л. Наблюдаемый синергизм между хинупристином и дальфопристином снижал МПК данной комбинации до ≤1 мг/л у 21% штаммов.

Активность хинупристина в отношении *E. faecium* была сравнима с таковой против *E. faecalis*. В то же время дальфопристин демонстрировал более высокую активность, что коррелировало со значительно большей чувствительностью к хинупристину/дальфопристину *E. faecium* (91%) в сравнении с чувствительностью *E. faecalis* (21%).

К хинупристину/дальфопристину выявлена чувствительность всех штаммов *E. casseliflavus* и *E. durans*.

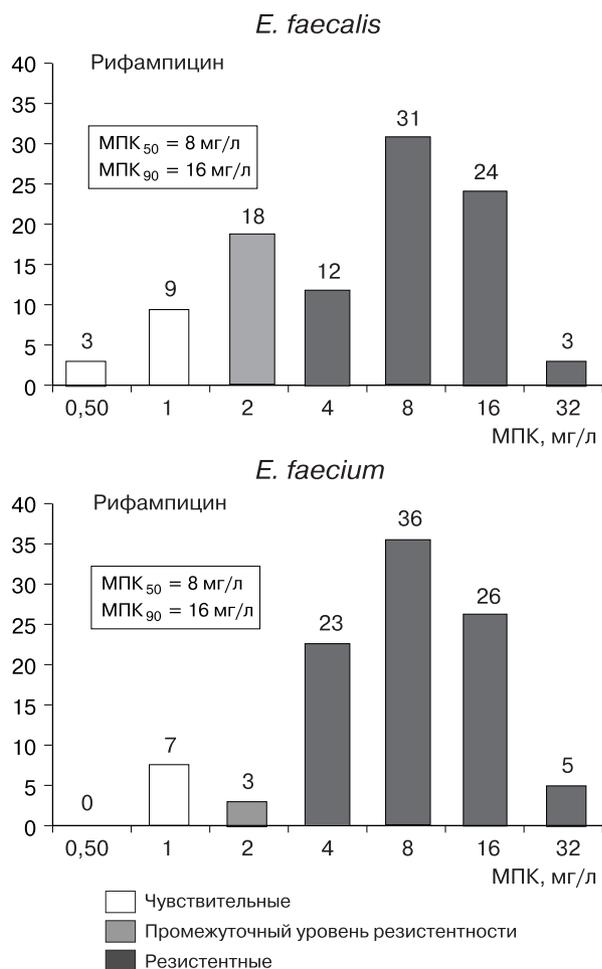


Рис. 8. Чувствительность к рифампицину *Enterococcus* spp., выделенных у недоношенных новорожденных, % штаммов

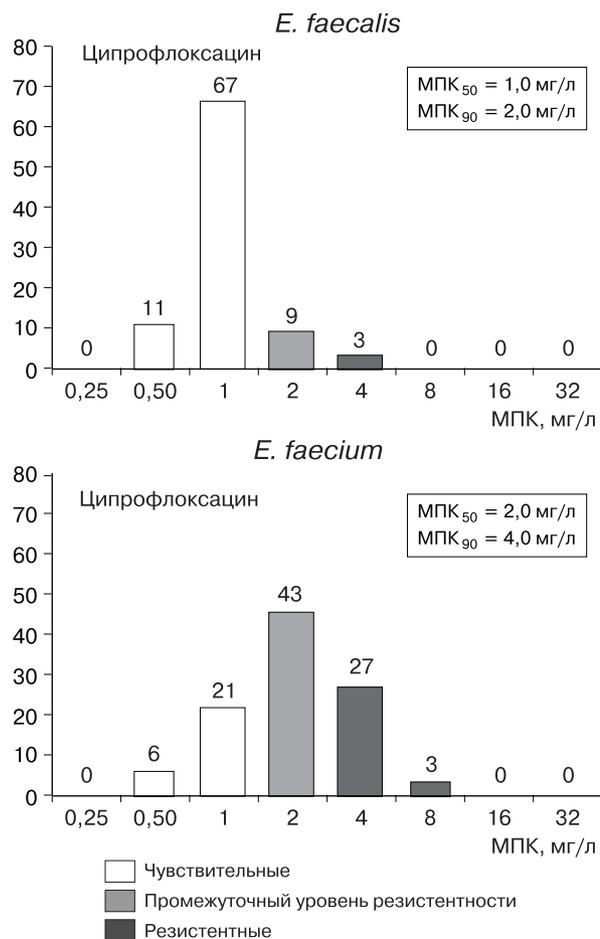


Рис. 9. Чувствительность к ципрофлоксацину *Enterococcus* spp., выделенных у недоношенных новорожденных, % штаммов

Обсуждение результатов

Исследование показало неожиданно высокую встречаемость *E. faecium* (61%) в структуре энтерококкового носительства у недоношенных новорожденных в сравнении с опубликованными зарубежными данными, согласно которым преобладающая роль (85–90%) принадлежит *E. faecalis* [4, 16]. Длительное госпитальное лечение и массивное использование антибиотиков, особенно цефалоспоринов (часто в комбинации с аминогликозидами), были ассоциированы с повышенным риском колонизации множественно-устойчивыми штаммами *E. faecium*, в то время как у неполучавших антибиотики новорожденных энтерококки обычно не изолировались.

Результаты определения чувствительности к ампициллину – препарату, наиболее часто применяемому для эмпирической терапии энтерококковых инфекций, – в целом были сопоставимы с литературными данными [3, 5, 17]. Только один штамм

(3%) *E. faecalis* был резистентен к ампициллину. В то же время в отношении подавляющего большинства (77%) штаммов *E. faecium* этот препарат был неактивен.

Такая ситуация объясняется тем, что многие штаммы *E. faecium* способны продуцировать дополнительный *пенициллинсвязывающий белок* – ПСБ-5, обладающий низкой аффинностью к β -лактамным антибиотикам. *E. faecalis* такой способностью не обладает, в связи с чем резистентность его к пенициллинам за последние 20 лет не возросла и, по данным литературы, составляет не более 5% [3, 5].

Ни у одного из ампициллинорезистентных штаммов в ходе исследования продукции β -лактамаз выявлено не было. Исходя из этого можно сделать вывод, что ингибиторозащищенные пенициллины, как, например, ампициллин/сульбактам, не будут иметь значимых преимуществ перед ампициллином.

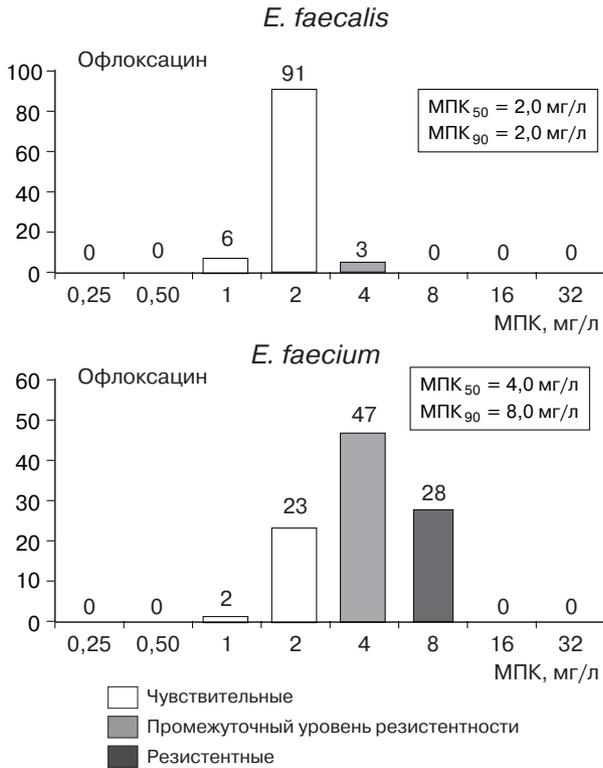


Рис. 10. Чувствительность к офлоксацину *Enterococcus* spp., выделенных у недоношенных новорожденных, % штаммов

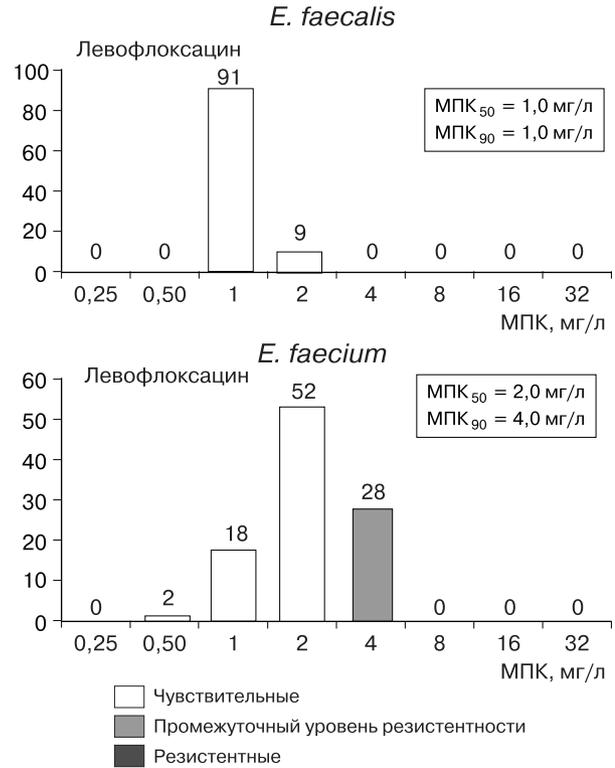


Рис. 11. Чувствительность к левофлоксацину *Enterococcus* spp., выделенных у недоношенных новорожденных, % штаммов

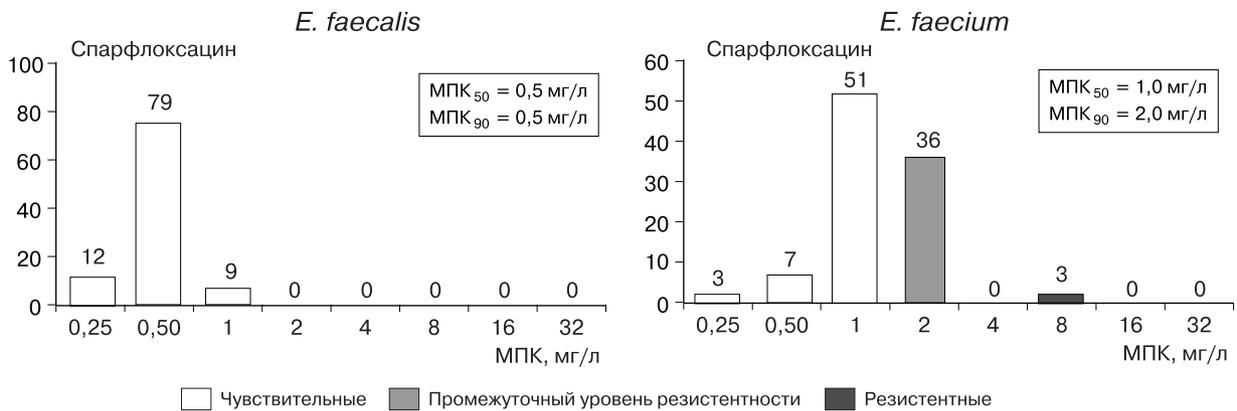


Рис. 12. Чувствительность к спарфлоксацину *Enterococcus* spp., выделенных у недоношенных новорожденных, % штаммов

E. faecium отличался значительно большей устойчивостью также и к другим важным для терапии энтерококковых инфекций препаратам – аминогликозидам. Если к гентамицину и стрептомицину было чувствительно 100 и 97% штаммов *E. faecalis*, соответственно среди *E. faecium* только 36% штаммов проявили чувствительность к гентамицину и 44% – к стрептомицину. Необходимо отметить, что данные о чувствительности к гентамицину и стреп-

томицину, полученные в ходе нашего исследования, несколько отличались от данных некоторых зарубежных и отечественных источников.

Так, по данным М.А. Schouten et al. [17], в 1999 г. в Европе 19,7% штаммов *E. faecalis* и 22,5% *E. faecium* были резистентны к гентамицину. По данным С.В. Сидоренко и соавт., опубликованным в 1998 г. [14], в Москве и Санкт-Петербурге 25 и 44% штаммов *E. faecalis* и 58 и 50% штаммов *E. faecium* были

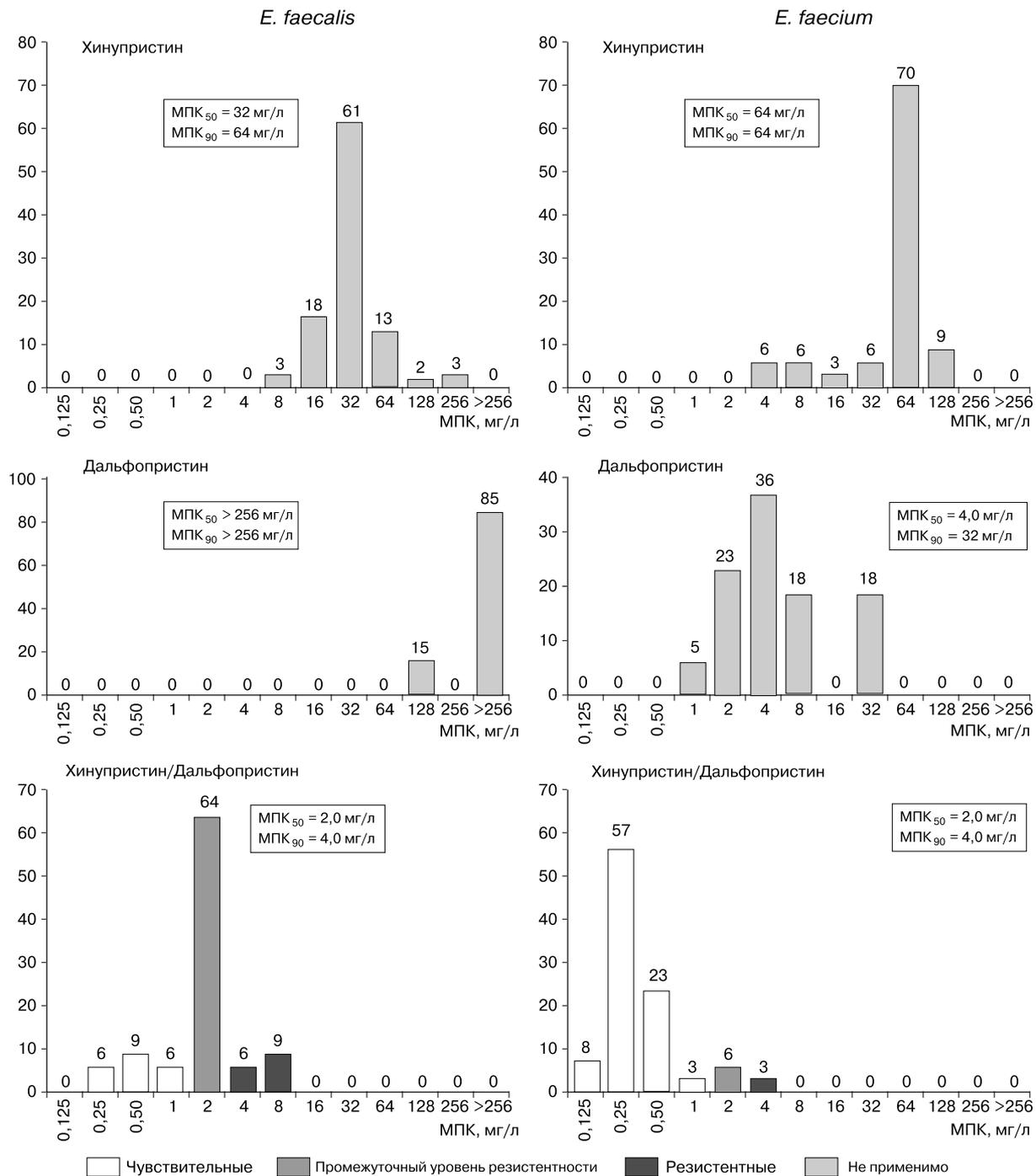


Рис. 13. Чувствительность к хинупристину, дальфопристину и хинупристину/дальфопристину *Enterococcus* spp., выделенных у недоношенных новорожденных, % штаммов

резистентны к гентамицину и стрептомицину соответственно. Однако при этом следует учитывать различные источники получения штаммов.

В ходе исследования не было обнаружено штаммов, резистентных к гликопептидным антибиотикам – ванкомицину и тейкопланину. По-видимому, это связано с редким применением данных препа-

ратов в России в целом и в исследованном стационаре в частности. Необходимо отметить, что ранее в России также не обнаруживались штаммы энтерококков, резистентных к ванкомицину [14]. В то же время во многих стационарах стран Европы и Америки ванкомицинорезистентные штаммы энтерококков (особенно *E. faecium*) уже давно являются

10. Christie C., Hammond J., Reising S., Patterson J.E. Clinical and molecular epidemiology of enterococcal bacteremia in pediatric teaching hospital. *J Pediatr* 1994; 125:392-9.
11. Dobson S.R., Baker C.J. Enterococcal sepsis in neonates: features by age at onset and occurrence of focal infection. *Pediatrics* 1990; 85:165-71.
12. Wells C.L., Juni B.A., Cameron S.B., Mason K.R., Dunn D.L., Ferrieri P., Rhame F. Stool carriage, clinical isolation, and mortality during an outbreak of vancomycin-resistant enterococci in hospitalized medical and/or surgical patients. *Clin Infect Dis* 1995; 21:45-50.
13. Pallares R., Pujol M., Pena C., Ariza J., Martin R., Gudiol F. Cephalosporins as risk factor for nosocomial *Enterococcus faecalis* bacteremia. *Arch Intern Med* 1993; 153:1581 - 6.
14. Сидоренко С.В., Резван С.П., Грудинина С.А., Кротова Л.А., Стерхова Г.В. Результаты многоцентрового исследования антибиотикочувствительности энтерококков. *Антибиотики и химиотер.* 1998; 43(9):9 - 17.
15. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; approved standard - fifth edition M7-A5. MIC testing supplemental tables. NCCLS, Villanova, PA; 2000. p. 26 - 9.
16. Bonten M.J., Gaillard C.A., Van Tiell F.H., van der Gest S., Stobberingh E.E. Colonisation and infection with *Enterococcus faecalis* in intensive care units: the role of antimicrobial agents. *Antimicrob Agents Chemother* 1995;12:2783 - 6.
17. Schouten M.A., Voss A., Hoogkamp-Korstanje J.A.A., The European VRE Study Group. Antimicrobial susceptibility patterns of enterococci causing infections in Europe. *Antimicrob Agent Chemother* 1999; 43:2542 - 6.
18. Martines-Martinez L., Joyanes P., Pascual A., Terrero E., Perea E.J. Activity of eight fluoroquinolones against enterococci. *Clin Microbiol Infect* 1997; 3:497 - 9.
19. Tankovic J. Development of fluoroquinolone resistance in *Enterococcus faecalis* and role of mutations in the DNA gyrase *gyrA* gene. *Antimicrob Agents Chemother* 1996;11:2558 - 61
20. Williams J.D., Maskell J.P., Whiley A.C., Sefton A.M. Comparative in-vitro activity of quinupristin/dalfopristin against *Enterococcus* spp. *J Antimicrob Chemother* 1997; 39:41 - 6.