

Фенотипические и молекулярно-генетические особенности возбудителей раневой ожоговой инфекции

Н.А. Гординская¹, Е.В. Сабирова¹, Н.В. Абрамова¹, Е.В. Дударева¹,
Е.Ю. Скленова², Е.С. Некаева¹

¹ ФГБУ ННИИТО Минздрава России, Нижний Новгород, Россия

² НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО СГМА Минздрава России, Смоленск, Россия

Результаты анализа возбудителей раневой инфекции в Ожоговом центре Института травматологии и ортопедии г. Нижнего Новгорода за 2008–2011 гг. показали ведущую роль микроорганизмов рода *Staphylococcus*. Количество стафилококков среди всех возбудителей раневой ожоговой инфекции достигло 44%. Возросла роль коагулазонегативных стафилококков, которые в 2011 г. составили 53,8% от общего числа всех выделенных стафилококков, половина из которых являются носителями *mecA* гена. Второе место в структуре возбудителей инфекции у тяжелообожженных занимают неферментирующие грамотрицательные бактерии,

из которых за период наблюдения в среднем 39,0% приходится на долю *Pseudomonas aeruginosa* и 50,8% – на *Acinetobacter* spp. Фенотипы резистентности стафилококков и неферментирующих грам(–) бактерий демонстрируют их высокую устойчивость к антибактериальным препаратам. У 40,8% псевдомонад выявлена экспрессия металло-бета-лактамаз VIM-2 типа, все эти штаммы принадлежали к одной клональной линии ST235.

Ключевые слова: нозокомиальная инфекция, антибиотикорезистентность, детерминанты резистентности.

Phenotypic and Genetic Characteristics of Pathogens Causing Burn Wound Infections

N.A. Gordinskaya¹, E.V. Sabirova¹, N.V. Abramova¹, E.V. Dudareva¹,
E.Yu. Skleenova², E.S. Nekaeva¹

¹ Nizhny Novgorod Research Institute of Traumatology and Orthopedics, Nizhny Novgorod, Russia

² Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

The analysis of the results of infectious agents present on a wound was performed and the leading role of staphylococcus was revealed in the burn centre of Nizhny Novgorod Research Institute of Traumatology and Orthopaedics during the period of 2008–2011. The quantity of staphylococcus among the other agents of wound burn infection reached 44%. The role of coagulase-negative staphylococci has increased, which was 53,8% of all *Staphylococcus* spp. isolated in 2011 and a

half of them are carriers of *mecA* gene. Non-fermenting Gram-negative rods take a second place in the structure of pathogens, 39% of them being *P. aeruginosa* and 50,8% – *Acinetobacter* spp. during the observation period. Resistance phenotypes in staphylococci and non-fermenting Gram-negative rods indicate their high resistance to antimicrobial agents. Expression of metallo-beta-lactamase VIM-2 type is revealed in 40,8% of *Pseudomonas*, all these strains belonged to one clonal line ST235.

Key words: nosocomial infection, antimicrobial resistance, resistance determinants.

Контактный адрес:

Наталья Александровна Гординская
Эл. почта: nniito@rambler.ru

Одной из основных причин летальности пациентов с термической травмой являются инфекции. Наличие раневой ожоговой поверхности, длительная катетеризация вен, многократные перевязки способствуют колонизации ран госпитальной микрофлорой, как правило высокоустойчивой к антибактериальным препаратам. При этом инфекция может развиваться в любой период ожоговой болезни, нередко определяя сроки пребывания больных в стационаре, неудовлетворительные результаты лечения, высокие показатели летальности и серьезные экономические потери. Известно, что в этиологии раневой инфекции большую роль играют стафилококки, особенно *метициллинорезистентные штаммы S. aureus* (MRSA) [1]. Частота обнаружения и антибиотикорезистентность неферментирующих грамотрицательных бактерий у тяжелообожженных также представляют серьезную проблему [2, 3]. В связи с этим изучение структуры возбудителей раневой инфекции, анализ устойчивости патогенов к антимикробным препаратам и определение их молекулярно-генетических особенностей является важнейшим этапом формирования тактики рациональной терапии и профилактики инфекционных осложнений, что входило в задачу настоящего исследования.

Материал и методы

В работе проанализированы микроорганизмы, выделенные из раневого отделяемого пациентов с термической травмой, лечившихся в Ожоговом центре Нижегородского НИИ травматологии и ортопедии в 2008–2011 гг., всего 3506 штаммов.

Идентификация микроорганизмов проводи-

лась на анализаторе iEMS Reader FM (Labsystems, Финляндия) с помощью набора тест-систем (Lachema, Чехия). Антибиотикорезистентность оценивалась диско-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтон (диски с антибиотиками – Becton Dickinson, США) в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.1890-04 [4].

Анализ видового состава микрофлоры и устойчивости к антибактериальным препаратам осуществляли с помощью компьютерной программы «Микроб-2».

Фенотип метициллинорезистентных *S. aureus* (MRSA) выявляли с помощью дисков с оксациллином, фенотип *метициллинорезистентных коагулазонегативных стафилококков* (MRCoNS) – по чувствительности к цефокситину.

Наличие *tesA* гена стафилококков определяли методом *полимеразной цепной реакции* (ПЦР). Выделение ДНК проводили с помощью набора «Рибо-преп» (ФГУ ЦНИИЭМ, Россия) в соответствии с инструкцией. Амплификация проводилась на приборе «Rotor Gene 6000» по схеме набора «АмплиСенс MRSA-скрин-титр-FL». Детекция продуктов амплификации осуществлялась в режиме реального времени.

Наличие IMP и VIM генов, кодирующих *металло-β-лактамазы* (МБЛ) у клинических изолятов *P. aeruginosa*, изучалось на базе НИИ антимикробной химиотерапии (Смоленск).

Результаты и обсуждение

Результаты анализа структуры раневой микрофлоры, выделенной от больных в отделениях термической травмы за четыре года, показали значи-

Сравнительные данные по структуре возбудителей раневой инфекции (в %), выделенных в 2008–2011 гг.

Микроорганизмы	2008	2009	2010	2011
Стафилококки*	34,8	37,2	45,6	44,0
из них: <i>S. aureus</i>	61,2	58,1	49,1	46,2
CoNS	38,8	41,9	50,9	53,8
Неферментирующие грамотрицательные бактерии*	30,5	33,9	31,6	28,7
из них: <i>P. aeruginosa</i>	46,2	42,4	33,3	34,4
<i>Acinetobacter</i> spp.	44,5	46,6	58,4	53,7
<i>S. maltophilia</i>	2,4	4,5	4,0	5,7
Энтеробактерии*	15,0	12,7	8,5	11,2
Стрептококки и энтерококки*	9,6	11,3	11,2	11,4
Аэробные грамположительные палочки*	8,7	1,7	2,1	2,5
Грибы*	0,35	0,25	0,7	1,9
Анаэробные микроорганизмы*	0,95	0,4	0,15	0,15

Примечание. * – отношение к общему числу выделенных микроорганизмов в соответствующие годы

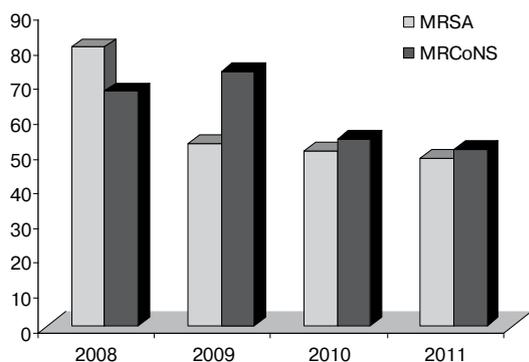


Рис. 1. Частота выделения метициллинорезистентных стафилококков, %

тельное разнообразие возбудителей и лидирующую роль стафилококков (таблица).

Стафилококки до 2010 г. составляли третью часть всей раневой микрофлоры тяжелообожженных, в последние же годы их доля значительно выросла. При этом в общей массе стафилококков ежегодно уменьшается доля *S. aureus* и увеличивается доля коагулазонегативных стафилококков (CoNS).

За период наблюдения у стафилококков выявлены как фенотипические, так и молекулярные изменения. Количество метициллинорезистентных золотистых стафилококков снизилось за период наблюдения с 80,4 до 48,5% от всех штаммов *S. aureus*, количество метициллинорезистентных коагулазонегативных стафилококков (MRCoNS) уменьшилось с 67,7 до 51,0% (рис. 1).

У всех фенотипически метициллинорезистентных стафилококков обнаружено наличие *mecA* гена.

Отделения термической травмы отличаются от других стационаров тяжестью состояния пациентов и сроками лечения в силу специфики патогенеза ожоговой болезни, что способствует распространению внутрибольничной инфекции и селекции внутрибольничных микробных штаммов.

Уменьшение количества «проблемных» стафилококков за последние годы связано, по-видимому, с широким применением в клинике ванкомицина и линезолида, а также с тщательностью эпидмероприятий, направленных на эрадикацию *mecA* ген-несущих стафилококков с оборудования и окружающих предметов. Все стафилококки, выделенные с поверхности термических ран, были в 100% чувствительны к ванкомицину и линезолиду.

С 2011 г. в клинике стал применяться тигецилин, к которому обнаружены резистентные штаммы. Фенотипы резистентности стафилококков представлены на рис. 2.

В профиле резистентности стафилококков прослеживаются разнонаправленные изменения: отме-

чается повышение чувствительности к линкозамидам, тетрациклинам, макролидам и аминогликозидам и снижение к ко-тримоксазолу и фузидиевой кислоте. В отношении фторхинолонов наблюдалось уменьшение доли резистентных золотистых стафилококков при увеличении доли резистентных коагулазонегативных штаммов.

Второе место по частоте обнаружения среди всех возбудителей ожоговой инфекции занимают неферментирующие грамотрицательные бактерии, среди которых 90% составляют *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*. В 2008 г. на первом месте среди неферментирующих бактерий была синегнойная палочка, а в последующие годы в лидеры вышли ацинетобактерии. Неферментирующие грамотрицательные бактерии как возбудители раневой ожоговой инфекции представляют серьез-

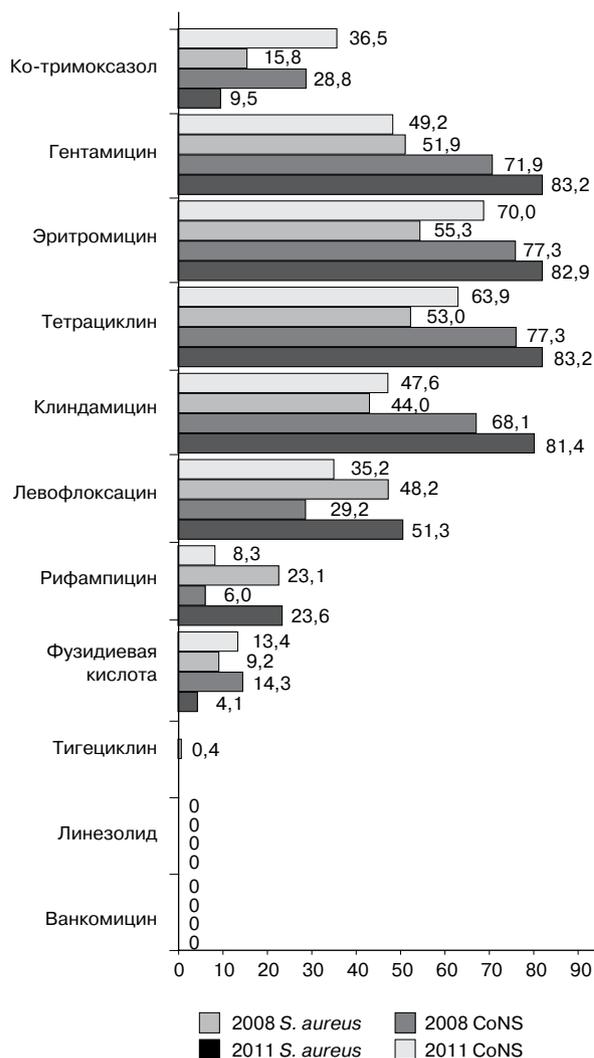


Рис. 2. Структура антибиотикорезистентности штаммов *Staphylococcus* spp. (в %), выделенных в 2008 и 2011 гг.



Рис. 3. Структура антибиотикорезистентности штаммов *P. aeruginosa* (в %), выделенных в 2008–2011 гг.

ную проблему в лечении пострадавших с ожогами, в связи с высокой устойчивостью к разным классам антибактериальных препаратов, включая карбапенемы. Фенотипы резистентности *P. aeruginosa* и *A. baumannii* представлены на рис. 3 и 4.

Устойчивость псевдомонад к антибиотикам в клинике термической травмы в целом является высокой, вместе с тем наблюдаются значительные колебания в частоте резистентности штаммов *P. aeruginosa* практически ко всем препаратам с антисинегнойной активностью: повышение в 2009 и 2010 гг. и снижение в 2011 г. При этом наименьшее количество устойчивых штаммов зарегистрировано в отношении меропенема (39,5%), который в течение последних трех лет в клинике не применяли (рис. 3).

Результаты молекулярно-генетических исследо-

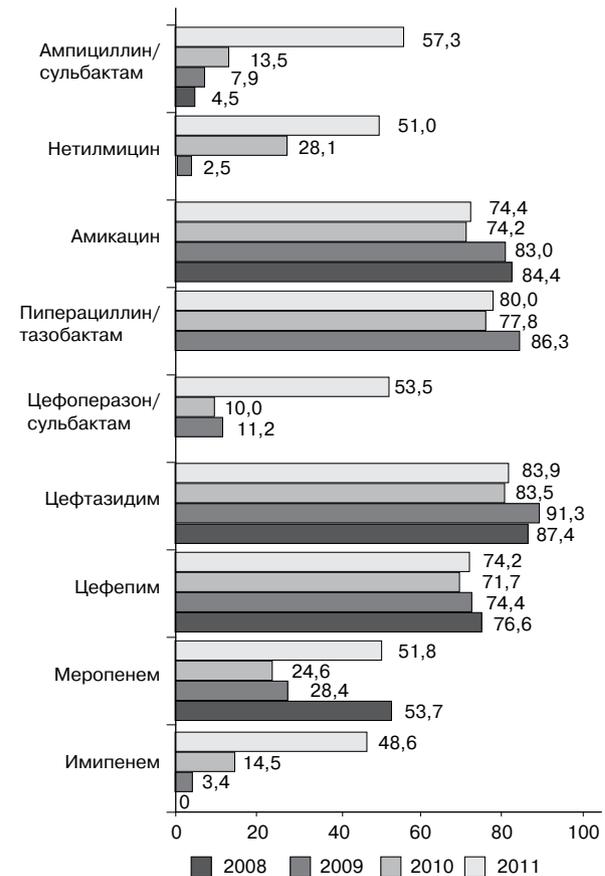


Рис. 4. Структура антибиотикорезистентности штаммов *A. baumannii* (в %), выделенных в 2008–2011 гг.

ваний карбапенеморезистентных штаммов *P. aeruginosa* показали, что у всех изолятов выявлена экспрессия металло-β-лактамаз VIM-2 типа и все эти изоляты, за исключением одного, принадлежат к одной клональной линии ST235, серовар O:11. Один изолят имел сиквенс-тип ST234, серовар O:12.

Таким образом, фенотип резистентности и молекулярные исследования подтверждают нозокомальное происхождение большинства синегнойных палочек в ожоговом стационаре.

Проанализированные штаммы *A. baumannii* в 70–80% случаев обладали резистентностью к большинству бета-лактамов, наиболее активными оставались лишь сульбактамсодержащие препараты, а также карбапенемы и нетилмицин.

В 2011 году для лечения ацинетобактерной инфекции стал применяться тигециклин с положительным клиническим эффектом, однако отсутствие официальных критериев резистентности/чувствительности к препарату на сегодняшний день делает невозможной оценку активности *in vitro*.

Таким образом, результаты работы показали, что среди ведущих возбудителей раневой ожоговой инфекции практически половина штаммов являются полирезистентными к антибиотикам.

В ожоговых стационарах необходимо обращать серьезное внимание на коагулазонегативные метициллинорезистентные стафилококки не только в плане развития катетер-ассоциированных, но и раневых инфекций.

Регулярность мониторингования в отделениях термической травмы частоты выделения возбудителей раневой инфекции, их свойств и рациональная антибактериальная терапия позволяют купировать инфекцию и осуществлять эрадикацию полирезистентных штаммов.

Литература

1. Murray C.K., Holmes R.L., Ellis M.W., et al. Twenty-five year epidemiology of invasive methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolates recovered at a burn center. *Burns* 2009; 35(8):1112-8.
2. Altoparlak U., Actas F., Celebi D., Ozkurt Z., Akcay MN. Prevalence of metallo- β -lactamase among *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from burn wounds and *in vitro* activities of antibiotic combinations against these isolates. *Burns* 2005; 31(6):707-10.
3. Altoparlak U., Erol S., Aksay MN., Celebi F., Kadanali A. The time-related changes of antimicrobial resistance patterns and predominant bacterial profiles of burn wounds and body flora of burned patients. *Burns* 2004; 30(7):660-4.
4. Методические указания МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» (2004).