



Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

www.iacsmc.ru

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

Подписные индексы

По каталогу «Журналы России» на 2020 г. агентства «Роспечать»:

82125 – единый подписной индекс;

T6708 – для юридических лиц.

Подписка на сайте издателя

<https://service.iacsmc.ru>

Адрес для корреспонденции

214019, г. Смоленск, а/я 5.
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:
cmac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:
www.cmac-journal.ru

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук. Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2020.

Содержание

252 От редакции

Болезни и возбудители

- Козлов Р.С., Андреева И.В., Стецюк О.У., Муравьев А.А.
254 Вакцинация против пневмококковой инфекции взрослых пациентов с сопутствующими заболеваниями: взгляд через призму клинических рекомендаций
 Кожушная О.С., Солопова Г.Г., Воропаев А.Д., Маркова Ж.В., Сацук А.В., Баламожнова А.О., Новичкова Г.А.
266 Эпидемиологическое расследование вспышки кандидемий, вызванной *S. parapsilosis*, в центре детской гематологии/онкологии

Антибиотикорезистентность

- Гординская Н.А., Беляева Е.В., Борискина Е.В., Кряжев Д.В.
272 Проблема антибиотикорезистентности стафилококков в педиатрических стационарах
 Карпов О.Э., Гусаров В.Г., Замятин М.Н., Орлова О.А., Петрова Л.В., Камышова Д.А., Демантиенко М.В., Габоян Я.С., Пивкина А.И., Гриценко Е.А.
277 Управление антибиотикорезистентностью в стационаре: современные реалии и перспективы
 Шедько Е.Д., Тимошина О.Ю., Азизов И.С.
287 Молекулярная эпидемиология генов группы *trc*

Опыт работы

- Гороховский В.С., Слободенюк Е.В., Бобровникова М.Ю., Дьяченко С.В.
302 Влияние сотовых телефонов медицинского персонала на распространение проблемных резистентных микроорганизмов
 Иванова О.В., Эйдельштейн И.А., Ромашов О.И., Козлов Р.С.
306 Оценка влияния мутаций в гене 23S рРНК *Mycoplasma pneumoniae*, обуславливающих устойчивость к макролидам, на тяжесть течения внебольничной пневмонии у лиц молодого возраста, находившихся на лечении в Смоленском военном госпитале
 Егорова С.А., Кафтырева Л.А.
314 Методологические подходы к определению чувствительности штаммов *Salmonella* к фторхинолонам

Проблема антибиотикорезистентности стафилококков в педиатрических стационарах

Гординская Н.А., Беляева Е.В., Борискина Е.В., Кряжев Д.В.

ФБУН «Нижегородский НИИ эпидемиологии и микробиологии им. акад. И.Н. Блохиной» Роспотребнадзора, Нижний Новгород, Россия

Контактный адрес:

Наталья Александровна Гординская
Эл. почта: Gordinskaya.nata@yandex.ru

Ключевые слова: стафилококки, *S. aureus*, антибиотикорезистентность, MRSA, ванкомицин, линезолид.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Определение частоты выделения стафилококков и анализ антибиотикорезистентности при инфекциях различной локализации в детских стационарах.

Материалы и методы. Видовую идентификацию и определение антибиотикорезистентности стафилококков проводили на анализаторе WalkAway 96, используя планшеты Pos Combo Type 20; детекцию гена *mecA* осуществляли на амплификаторе RotorGene 6000 с набором АмплиСенс MRSA-скрин FL.

Результаты. Проанализированы 876 штаммов стафилококков, выделенных в детских стационарах. Изучена видовая принадлежность и антибиотикорезистентность *Staphylococcus aureus* и коагулазонегативных стафилококков. Наиболее часто выделялись следующие виды стафилококков: *S. aureus* – 36,1%, *S. epidermidis* – 23,1%, *S. haemolyticus* – 19,7%, *S. hominis* – 14,0%. Фенотип метициллинорезистентных штаммов в среднем имели 35,3% изолятов, при этом метициллинорезистентных *S. aureus* было выявлено 32,9%, а метициллинорезистентных штаммов среди наиболее часто выделяемых коагулазонегативных стафилококков – 65,6%. Ген *mecA* выявлен у 97,1% фенотипически метициллинорезистентных штаммов. Выделено 2 штамма *S. aureus* с промежуточной устойчивостью к ванкомицину (МПК = 4 мкг/мл) и 1 штамм *S. aureus* с устойчивостью к линезолиду (МПК = 8 мкг/мл). Среди коагулазонегативных стафилококков выделены 2 штамма с промежуточной устойчивостью к ванкомицину (МПК = 8 мкг/мл), 2 штамма, устойчивых к ванкомицину (МПК = 16 мкг/мл), а также 6 штаммов, устойчивых к линезолиду (МПК от 8 до 32 мкг/мл).

Выводы. Более половины изученных педиатрических изолятов *Staphylococcus* spp. являлись метициллинорезистентными. За исследованный период выделены стафилококки, устойчивые к ванкомицину и линезолиду, что требует определения механизмов их резистентности для назначения рациональной антибактериальной терапии.

Original Article

Antimicrobial resistance of staphylococci in pediatric hospitals

Gordinskaya N.A., Belyaeva E.V., Boriskina E.V., Kryazhev D.V.

Academician I.N. Blokhina Nizhny Novgorod Scientific Research Institute of Epidemiology and Microbiology, Nizhny Novgorod, Russia

Contacts:

Natalia A. Gordinskaya
E-mail: Gordinskaya.nata@yandex.ru

Key words: staphylococci, *S. aureus*, antimicrobial resistance, MRSA, vancomycin, linezolid.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding source: no external funding received.

Objective. To determine frequency of *Staphylococcus* isolation and antimicrobial resistance in hospitalized children with different types of infections.

Materials and methods. Species identification and antimicrobial susceptibility testing in staphylococci were performed on a WalkAway 96 analyzer using Pos Combo type 20 tablets, and *mecA* gene detection was performed on a RotorGene 6000 amplifier with a set of AmpliSens MRSA-screen FL.

Results. A total of 876 strains of staphylococci isolated in children's hospitals were tested. The species and antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* and coagulase-negative staphylococci were studied. The most common types of staphylococci were: *S. aureus* – 36.0%, *S. epidermidis* – 23.0%, *S. haemolyticus* – 19.7%, *S. hominis* – 14.0%. As many as 35.3% of isolates were methicillin-resistant, while 32.9% of methicillin-resistant *S. aureus* was detected, and 65.6% of methicillin-resistant strains were among the most frequently isolated coagulase-negative staphylococci. The *mecA* gene was detected in 97.1% of phenotypically methicillin-resistant strains. Antibiotic resistance of *S. aureus* and coagulase-negative staphylococci circulating in children's hospitals is very high. Two strains of *S. aureus* with intermediate resistance to vancomycin (MIC = 4 mcg/ml) and one *S. aureus* with resistance to linezolid (MIC = 8 mcg/ml) were isolated. Among coagulase-negative staphylococci, two strains with intermediate resistance to vancomycin (MIC = 8 mcg/ml), two resistant to vancomycin (MIC = 16 mcg/ml), and 6 strains resistant to linezolid (MIC from 8 to 32 mcg/ml) were identified.

Conclusions. Antimicrobial resistance of staphylococci in children's hospitals does not depend on the species, more than half of the isolated isolates are methicillin-resistant. During the reporting period, staphylococci resistant to vancomycin and linezolid were identified, which requires resistance mechanisms to be determined.

Гординская Н.А. и соавт.

Введение

Бактерии рода *Staphylococcus* в норме присутствуют в различных локусах человеческого организма. Однако также они способны к инвазии любых органов и тканей, инициируя поверхностные и глубокие инфекционные процессы, вызывая поражения дыхательных и мочевыводящих путей, воспалительные процессы в кишечнике, катетер-ассоциированные инфекции и инфекции кровотока, а также пищевые токсикоинфекции. Особенно часто стафилококки обнаруживают в педиатрических стационарах. Ранее считалось, что наибольшую опасность представляет *Staphylococcus aureus*, но в настоящее время известно о значительной роли коагулазонегативных стафилококков (КНС), вызывающих различные инфекционные процессы [1, 2].

Современной особенностью стафилококков, независимо от видовой принадлежности, является их высокая устойчивость к антибактериальным препаратам [3, 4]. Большинство штаммов, выделенных в стационарах, продуцируют бета-лактамазы, что обуславливает их резистентность к природным пенициллинам и аминопенициллинам. Существенной проблемой во многих стационарах являются метициллинорезистентные штаммы стафилококков [5, 6]. В последние годы в литературе все чаще встречаются сообщения о выделении стафилококков, устойчивых к гликопептидам и оксазолидинонам [7, 8]. В связи с этим нами было проведено исследование, целью которого являлось определение частоты выделения стафилококков и анализ антибиотикорезистентности при инфекциях различной локализации в детских отделениях многопрофильной клиники.

Материалы и методы

В задачи исследования входил анализ частоты обнаружения микроорганизмов рода *Staphylococcus* spp., определение их видового спектра, изучение фенотипа антибиотикорезистентности выделенных изолятов и детекция гена *mecA* у штаммов, резистентных к цефокситину. Видовая идентификация и определение антибиотикорезистентности проводились на анализаторе WalkAway 96 (Siemens, Германия) с помощью коммерческих планшетов POS Combo Type 20 по протоколу про-

изводителя (Beckman Coulter, США). Чувствительность к цефокситину определяли диско-диффузионным методом [9], используя диски производства Pronadisa Laboratorios (CONDA, Испания). Наличие гена *mecA* у стафилококков определяли методом ПЦР. Амплификацию проводили на приборе RotorGene 6000 (Corbett Research, Австралия) в соответствии с методическими указаниями к набору «АмплиСенс MRSA-скрин-титр-FL» (ЦНИИ эпидемиологии, Россия). Детекция продуктов амплификации проводилась гибридационно-флюоресцентным методом в режиме реального времени.

Результаты исследования

Проанализированы 876 штаммов стафилококков, выделенных у детей с инфекциями верхних дыхательных путей, инфекциями мочевых путей, воспалительными заболеваниями кишечника, инфекциями в области хирургического вмешательства и инфекциями кровотока в 2020 г. Из крови в анализируемый период высевался только *S. epidermidis*, из других локусов – стафилококки разных видов. Количество и видовая принадлежность анализируемых стафилококков представлены в Таблице 1.

Таким образом, в структуре видового разнообразия стафилококков в детских стационарах количественно лидирует *S. epidermidis*, второе место занимает *S. aureus*, на третьем месте оказался *S. haemolyticus*, представители других видов встречались значительно реже.

Анализ устойчивости к антибиотикам выделенных стафилококков показал наличие большого числа метициллинорезистентных (MRS) изолятов. Количество резистентных к цефокситину стафилококков среди штаммов разных видов представлено в Таблице 2.

Количество метициллинорезистентных штаммов среди КНС составило в среднем $37,7 \pm 8,7\%$, что практически не отличается от числа метициллинорезистентных золотистых стафилококков. Однако у наиболее часто выделяемых видов КНС – *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* и *S. hominis* – фенотип метициллинорезистентных штаммов имели 65,6% изолятов, что в 2 раза больше, чем у *S. aureus*.

Таблица 1. Видовая характеристика стафилококков, выделенных из различных локусов

Вид стафилококка	Количество штаммов, n	Локус				
		Дыхательные пути	Моча	Кал	Рана	Кровь
<i>S. aureus</i>	225	162	15	14	34	0
<i>S. epidermidis</i>	269	209	16	17	21	6
<i>S. haemolyticus</i>	181	124	8	26	23	0
<i>S. hominis</i>	65	35	0	19	11	0
<i>S. sciuri</i>	48	28	0	13	11	0
<i>S. lugdunensis</i>	33	19	3	11	0	0
<i>S. warneri</i>	25	16	0	9	0	0
<i>S. simulans</i>	11	11	0	0	0	0
<i>S. capitis</i>	10	10	0	0	0	0
<i>S. intermedius</i>	9	9	0	0	0	0

Таблица 2. Частота обнаружения стафилококков, устойчивых к цефокситину

Вид	Метициллинорезистентные штаммы, %
<i>S. aureus</i>	32,9
<i>S. epidermidis</i>	60,1
<i>S. haemolyticus</i>	91,2
<i>S. hominis</i>	45,7
<i>S. sciuri</i>	25,1
<i>S. lugdunensis</i>	18,1
<i>S. warneri</i>	20,0
<i>S. simulans</i>	27,2
<i>S. capitis</i>	30,0
<i>S. intermedius</i>	22,2

У 141 фенотипически метициллинорезистентных изолятов разных видов провели молекулярные исследования на наличие гена *tesA*. Результаты ПЦР показали, что у подавляющего большинства ($n = 137$) выявлен ген *tesA*, только у 4 штаммов данный ген не был обнаружен. Один из 4 штаммов был *S. aureus*, 3 – КНС; по всей вероятности, метициллинорезистентный фенотип этих штаммов обусловлен либо гиперпродукцией бета-лактамаз, либо это штаммы с неполной SCCmec-кассетой [5].

Анализ антибиотикорезистентности изученных штаммов показал, что устойчивость стафилококков в отношении препаратов разных классов независимо от видовой принадлежности очень высокая. Результаты исследования резистентности *S. aureus* представлены в Таблице 3.

Как видно из таблицы, большинство золотистых стафилококков устойчивы к природным пенициллинам и аминопенициллинам, 2/3 устойчивы и к ингибиторозащищенным пенициллинам, больше половины штаммов устойчивы к аминогликозидам, фторхинолонам и линкозамидам. Наиболее активными препаратами в отношении *S. aureus* были даптомицин, тигециклин, ванкомицин и линезолид, однако даже ванкомицин и линезолид не были активными в отношении 100% штаммов. Среди золотистых стафилококков выявлены 2 штамма с промежуточной резистентностью к ванкомицину (МПК = 4 мкг/мл), один из этих штаммов был устойчивым и к линезолиду (МПК = 8 мкг/мл).

Устойчивость КНС к антибиотикам в целом была такой же высокой, как и у *S. aureus* (Таблица 4). Можно отметить большее число штаммов КНС, устойчивых к аминогликозидам. Максимально активными препаратами в отношении КНС, так же как и в отношении *S. aureus*, были даптомицин, тигециклин, ванкомицин и линезолид. При анализе антибиотикорезистентности КНС было обнаружено 2 штамма с промежуточной устойчивостью к ванкомицину (МПК = 8 мкг/мл) и 2 штамма, устойчивых к ванкомицину (МПК = 16 мкг/мл). Умеренно резистентными к ванкомицину были *S. haemolyticus* и *S. hominis*, резистентными – *S. sciuri* и *S. capitis*. Кроме того, выделены 6 штаммов стафилококков, устойчивых к линезолиду, 3 из которых – *S. sciuri* с МПК от 8 до 16 мкг/мл, 1 штамм – *S. epidermidis* с МПК = 16 мкг/мл. Два изолята (*S. sciuri* и *S. capitis*) были одновременно устойчивы к ванкомицину и линезолиду, при этом МПК

Таблица 3. Резистентность *S. aureus* к антибиотикам

Антибиотик	Количество резистентных штаммов, %
Ампициллин	92,7
Пенициллин	93,9
Оксациллин	42,9
Амоксициллин/клавуланат	68,3
Ампициллин/сульбактам	72,8
Гентамицин	68,6
Даптомицин	10,1
Клиндамицин	42,3
Ципрофлоксацин	55,5
Левифлоксацин	56,5
Тетрациклин	41,3
Цефокситин	32,7
Цефтриаксон	57,4
Ванкомицин	0,9
Линезолид	0,4
Тигециклин	7,9
Рифампицин	52,6
Триметоприм/сульфаметоксазол	56,4

Таблица 4. Резистентность КНС к антибиотикам

Антибиотик	Количество резистентных штаммов, %
Ампициллин	91,2
Пенициллин	94,6
Оксациллин	63,1
Амоксициллин/клавуланат	77,9
Ампициллин/сульбактам	75,3
Гентамицин	88,4
Даптомицин	12,5
Клиндамицин	51,6
Ципрофлоксацин	66,3
Левифлоксацин	61,4
Тетрациклин	47,8
Цефокситин	37,7
Цефтриаксон	71,2
Ванкомицин	0,6
Линезолид	0,9
Тигециклин	8,3
Рифампицин	56,0
Триметоприм/сульфаметоксазол	54,7

ванкомицина у обоих штаммов составляла 16 мкг/мл, МПК линезолида у *S. sciuri* – 16 мкг/мл, у *S. capitis* – 32 мкг/мл. Устойчивость к ванкомицину и линезолиду выявлена как у метициллинорезистентных штаммов, так и у метициллиночувствительных. Следует отметить, что среди стафилококков, выделенных из крови, ванкомицинорезистентных и линезолидорезистентных штаммов не выявлено. Как известно, устойчивость к линезолиду может быть обусловлена либо наличием гена *cfr*, либо мутацией в 23S рРНК, при этом в данной работе мы не можем рассуждать о механизме устойчивости из-за отсутствия данных по чувствительности к тедизолиду.

Циркуляция в детских стационарах большого числа метициллинорезистентных стафилококков в современных условиях дополняется появлением штаммов, устойчивых к линезолиду и ванкомицину. Безусловно, обнаружение штаммов, устойчивых к гликопептидам и оксазолидинонам, свидетельствует о необходимости тщательного мониторинга антибиотикорезистентности как *S. aureus*, так

и КНС. Кроме того, на сегодняшний день необходимо обязательное включение в тестирование стафилококков двух представителей гликопептидов (ванкомицина и тейкопланина) и двух оксазолидинонов (линезолида и тедизолида) для определения механизмов устойчивости и возможности назначения рациональной антибактериальной терапии.

Литература

1. Gordeev A.B., Lyubasovskaya L.A., Rodchenko Yu.V., Dubodelov D.V., Mukosey I.S., Kochetkova T.O., et al. Genetic polymorphism of hospital strains of *Staphylococcus epidermidis* isolated from newborns in the intensive care unit. Vestnik RGMU. 2017;(1):26-23. Russian. (Гордеев А.Б., Любасовская Л.А., Родченко Ю.В., Дубоделов Д.В., Мукозей И.С., Кочеткова Т.О. и соавт. Генетический полиморфизм госпитальных штаммов *Staphylococcus epidermidis*, выделенных у новорожденных отделения реанимации и интенсивной терапии. Вестник РГМУ. 2017;(1):26-23.)
2. Cantarero-Arevalo L., Hallas M.P., Kaee S. Parental knowledge of antibiotic use in children with respiratory infections: a systematic review Int J Pharm Pract. 2017;25(1):31-39. DOI: 10.1111/ijpp.12337
3. Zyryanov S.K., Sychev I.N., Gushchina Yu.S. Current problems of infections caused by MRSA and ways to address them. Antibiotiki i himioterapija. 2017;62(7-8):69-79. Russian. (Зырянов С.К., Сычев И.Н., Гушин Ю.М. Современные проблемы инфекций, вызванных MRSA и пути их решения. Антибиотики и химиотерапия. 2017;62(7-8):69-79.)
4. Gostev V.V., Kalinogorskaya O.S., Kruglov A.N., Sidorenko S.V. Antibiotic resistance of coagulase-negative staphylococci isolated at hospitals of St. Petersburg and Moscow. Antibiotiki i himioterapija. 2015;60(9-10):23-28. Russian. (Гостев В.В., Калиногорская О.С., Круглов А.Н., Сидоренко С.В. Антибиотикорезистентность коагулазоотрицательных стафилококков, выделенных в стационарах Москвы. Антибиотики и химиотерапия. 2015;60(9-10):23-28.)
5. Polonskaya A.V., Kornienko M.A., Manolov A.I., Kuptsov N.S., Smirnov G.B., Lyubasovskaya L.A., et al. Variability of recombinase genes and staphylococcal cassette chromosome *mecA* of *Staphylococcus haemolyticus*. Antibiotiki i himioterapija. 2018;63(7-8):33-40. Russian. (Полонская А.В., Корниенко М.А., Манолов А.И., Купцов Н.С., Смирнов Г.Б., Любасовская Л.А. и соавт. Вариабельность генов рекомбиназ и *mecA* стафилококковой кассеты *Staphylococcus haemolyticus*. Антибиотики и химиотерапия. 2018;63(7-8):33-40.)
6. Salqueiro V.C., Iorio N.L., Ferreira M.C., Chamon R.C., Don Santos K.P. Methicillin resistance and virulence genes in invasive and nasal *Staphylococcus epidermidis* isolated from neonates. BMC Microbiol. 2017;1:15. DOI: 10.1186/s12866-017-0930-9
7. Dekhnich A.V., Hachatryan N.N. New and old oxazolidinones: tedizolid vs. linezolid. Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija. 2017;19(2):121-129. Russian. (Дехнич А.В., Хачатрян Н.Н. Новые и старые оксазолидиноны – в чем их отличия? Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017;19(2):121-129.)
8. Ye Z.K., Li C., Zhai S.D. Guidelines for therapeutic drug monitoring of vancomycin: a systematic review. PLoS One. 2014;9(6):e99044. DOI: 10.1371/journal.pone.0099044
9. Clinical guidelines "Susceptibility testing of microorganisms to antimicrobial drugs" Version 2018-03, M.; 206 p. Available at: www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2018.pdf. Accessed October, 2020. Russian. (Клинические рекомендации «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» Версия 2018-03, М.; 206 с. Доступно по адресу: www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2018.pdf. Ссылка активна на октябрь 2020 г.)