

Коняев Игорь Сергеевич

канд. биол. наук, старший научный сотрудник, доцент Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова» г. Ульяновск, Ульяновская область

Бутовичева Анна Александровна

бакалавр, студентка

ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова» лаборант-исследователь

Научно-исследовательский центр фундаментальных и прикладных проблем биоэкологии и биотехнологии ФГБОУ ВО «Ульяновский государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова» г. Ульяновск, Ульяновская область

ВИДОВАЯ ИДЕНТИФИКАЦИЯ И АНАЛИЗ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЙ ХИРУРГИЧЕСКОГО СТАЦИОНАРА

Аннотация: проведен микробиологический анализ биоматериала пациентов хирургического стационара с раневыми инфекциями, развившимися в послеоперационный период. Для видовой идентификации применяли метод прямого профилирования бактериальных белков на масс-спектрометре. Выявлены наиболее часто встречающиеся возбудители нозокомиальных инфекций. Проведены исследования всех выявленных штаммов микроорганизмов диско-диффузионным методом на чувствительность к антибиотикам бактерицидного и

бактериостатического действия. Обнаружены штаммы с частичной или полной резистентностью к ряду препаратов антибиотического действия.

Ключевые слова: видовая идентификация, нозокомиальные инфекции, послеоперационные инфекционные осложнения, метод прямого профилирования бактериальных белков, антибиотикорезистентность.

По данным официальной статистики, ежегодно в РФ регистрируется около 30 тыс. случаев внутрибольничного инфицирования [3; 4]. Считается, что за неделю пребывания в стационаре почти 10% пациентов приобретают штаммы, циркулирующие в среде стационара, выделяемые медперсоналом и длительно находящимися на лечении больными [2]. Основным фактором, ограничивающим эффективность антибиотиков, является распространение устойчивой микрофлоры в медицинских учреждениях, в т.ч. стационарах различного профиля [1]. Поэтому современные медицинские технологии выдвигают повышенные требования к антибактериальной терапии. Своевременная диагностика раневых инфекций и адекватность последующих схем антибиотикотерапии представляется важным и актуальным направлением для лечебно-диагностического процесса в любом хирургическом стационаре [8; 9].

В нашей работе был исследован видовой состав патогенных и условно-патогенных возбудителей нозокомиальных инфекций, выделенных из биоматериала пациентов хирургического стационара ГУЗ «Ульяновский областной клинический центр специализированных видов медицинской помощи» имени заслуженного врача России Е.М. Чучкалова. Методика отбора биоматериала осуществлялась согласно изданию методических указаний МУ 4.2.2039—05[5]. Микробиологическая идентификация биоматериала проводилась согласно Приказу №535 от 22.04.1985 «Об унификации микробиологических исследований (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» [7].

Микробиологические исследования проводились в лаборатории молекулярной биологии (микробиологии) НИЦ ФППББ ФГБОУ ВО «Ульяновский

государственный педагогический университет им. И.Н. Ульянова». Видовую идентификацию осуществляли с помощью метода прямого профилирования бактериальных белков на масс-спектрометре «Maldi Toff (Brucker Daltonics)». Антибиотикочувствительность определяли диско-диффузионным методом на основании Клинических рекомендаций EUCAST 2018 [6]. В исследованиях использовали антибиотические препараты бактерицидного действия из групп бета-лактамов (цефепим, азтреонам, цефтазидим, цефотаксим, ампициллин, имипинем, эртапенем, цефтриаксон, меропенем, бензилпенициллин, амоксициллин), хинолонов (левофлоксацин, ципрофлоксацин, норфлоксацин), аминогликозидов (амикацин, гентамицин), гликопептидов (ванкомицин) и препараты бактериостатического действия (эритромицин, клиндамицин, линезолид, фурадонин, триметоприм/сульфаметоксазол, клотримазол, кетоконазол, полимиксин В.).

Был проведен анализ частоты развития и структуры инфекционных осложнений у 170 пациентов за период сентябрь 2019 г. — февраль 2020 г. Возраст пациентов — от 15 до 89 лет, средний возраст $55,5\pm1,1$ лет (пациентов в возрасте более 60 лет — 40,59%, в возрасте от 41 до 60 лет — 38,8%). В исследуемом биоматериале было обнаружено 19 видов микроорганизмов (табл. 1).

Таблица 1 Распространенность микроорганизмов в биоматериале пациентов

№	Виды	Кол-во выделенных штаммов	%
1	Acinetobacter baumanii	21	9,55
2	Aeromonas veronii	2	0,91
3	Candida albicans	7	3,18
4	Cirobacter freundii	3	1,36
5	Enterobacter cloacae	7	3,18
6	Enterococcus faecalis	15	6,82
7	Escherichia coli	51	23,18
8	Klebsiella oxytoca	5	2,27
9	Klebsiella pneumonia	25	11,36
10	Morganella morganii	4	1,82
11	Proteus hauseri	2	0,91
12	Proteus mirabilis	4	1,82
13	Pseudamonas aeruginosa	12	5,45
14	Pseudomonas spp.	1	0,45

15	Staphylococcus aureus	45	20,45		
16	Staphylococcus epidermidis	4	1,82		
17	Staphylococcus haemoliticus	4	1,82		
18	Streptoccocus agalactiae	4	1,82		
19	Streptoccocus pyogenes	3	1,36		
	Всего	220	100		

Наиболее часто встречающимися видами во всех образцах являются *Escherichia coli* (23,18%), *Staphylococcus aureus* (20,45%), *Klebsiella pneumonia* (11,36%) и *Acinetobacter baumanii* (9,55%).

Исследование антибиотикорезистентности (табл. 2) показало, что наибольшей устойчивостью к антибиотикам бактерицидного действия (к 7 препаратам из 17) обладает Acinetobacter baumanii: штамм устойчив к препаратам хинолонового ряда и гентамицину, относительно устойчив к трем препаратам группы бета-лактамов (эртапенему, меропенему, амоксициллину). Pseudomonas aeruginosa относительно устойчив к четырем препаратам группы бета-лактамов (цефепиму, азтреонаму, цефтазидиму, бензилпенициллину) и амикацину. Штамм Escherichia coli относительно устойчив к препаратам группы бета-лактамов (цефепиму, цефтазидиму, цефотаксиму) и ципрофлоксацину. Proteus mirabilis устойчив к препаратам группы бета-лактамов (цефепиму, имипинему, эртапенему) и левофлоксацину. Штамм Klebsiella pneumoniae устойчив к трем препаратам из группы бета-лактамов цефотаксиму, эртапенему и цефтриаксону. Штамм Staphylococcus haemolyticus устойчив к препаратам хинолонового ряда левофлоксацину и ципрофлоксацину, а также цефтазидиму.

Наибольшей чувствительностью к антибиотикам (табл. 2) обладают штаммы Klebsiella oxytoca, Cirobacter freundii, Morganella morganii. Штамм Pseudomonas aeruginosa чувствителен препаратам группы бета-лактамов (цефепиму и цефотаксиму), препаратам группы хинолонов (левофлоксацину, ципрофлоксацину, нофрлоксацину) и ампициллину. Штамм Escherichia coli чувствителен к левофлоксацину, азтреонаму, ванкомицину, амикацину, бензилпенициллину. Штамм Klebsiella pneumoniae чувствителен к левофлоксацину, ципрофлоксацину, азтреонаму, цефтазидиму, цефотаксиму.

⁴ https://phsreda.com

Таблица 2

Антибиотикочувствительность микроорганизмов к препаратам с бактерицидным действием (%)

								A	нтиб	иоти	ки							
Микро- орга- низмы	а/ч	Цфп	Лев	Цип	Азт	Цфт	Цефот	Amn	Ван	Нор	Ими	Эрт	Цтр	Мер	AM	Пен	Амок	Ген
Acinetob acter baumanii	R		10 0	10 0						10 0		10 0		75			75	75
	R	50																
Aeromon as veronii	S		10 0	10 0	10 0	10 0												
Candida	R				10 0				10 0									
albicans	S						10 0											
Cirobacte	R																	
r freundii	S	75	10 0	10 0							10 0		10 0	10 0	10 0			
Enteroba	R				50	50												
cter cloacae	S	10 0		10 0			10 0											
Enteroco	R																	
ccus faecalis	S							10 0	10 0	10 0								
Esche-	R	75		50		50	50											
richia coli	S		10 0		75				75						10 0	10 0		
Klebsiell	R													10 0				
a oxytoca	S	10 0	10 0	10 0		75	10 0					10 0	10 0				10 0	10 0
Klebsiell	R						10 0					10 0	10 0					
a pneu- monia	S	75	10 0	10 0	10 0	75												
Morga-	R																	
nella morganii	S	10 0	10 0								10 0	75	10 0	10 0				
Proteus	R	50	50															
hauseri	S			10 0							10 0		10 0					10 0

Proteus	R	10 0	50								10 0	10 0					50
mirabilis	S			10 0	10 0												
Pseudo- monas	R	75			75	50								75	10 0		
aeru- ginosa	S	10 0	10 0	10 0			75	10 0		75							
Pseudo-	R			50							50						
monas spp.	S				10 0							10 0				10 0	
Staphylo-	R								50								
coccus aureus	S			10 0	10 0							10 0					
Staphylo- coccus	R		10 0	50													
epider- midis	S	10 0															
Staphylo- coccus	R		10 0	50		10 0											
haemolit- icus	S				75				10 0					10 0			
Strep-	R																
toccocus agalac- tiae	S								10 0	10 0					10 0		
Strep-	R														50		
toccocus pyogenes	S																

Сокращения: a/ч — антибиотикочувствительность; R — устойчивость, S — чувствительность; $\mathcal{U}\phi n$ — цефепим, $\mathcal{N}e s$ — левофлоксацин, $\mathcal{U}u n$ — ципрофлоксацин, $\mathcal{A}s m$ — автреонам, $\mathcal{U}\phi m$ — цефтазидим, $\mathcal{U}e\phi o m$ — цефотаксим, $\mathcal{A}m n$ — ампициллин, $\mathcal{B}a n$ — ванкомицин, $\mathcal{H}o p$ — нофрлоксацин, $\mathcal{U}m u$ — имипинем, $\mathcal{H}o m$ — эртапенем, $\mathcal{U}m p$ — цефтриаксон, $\mathcal{M}e p$ — меропенем, $\mathcal{A}m$ — амикацин, $\mathcal{H}e n$ — бензилпенициллин, $\mathcal{A}m o \kappa$ — амоксициллин, $\mathcal{L}e n$ — гентамицин.

Исследование антибиотикочувствительности к препаратам с бактериостатическим действием (табл. 3) показало, что наиболее устойчивым является штамм *Acinetobacter baumanii* (полностью устойчив к клиндамицину, линезолиду,

триметоприм/сульфаметоксазолу). *Staphylococcus epidermidis* оказался устойчивым к клиндамицину и триметоприм/сульфаметоксазолу.

Чувствительными к ряду используемых антибиотиков являются *Candida albicans* (чувствителен к производным имидазола клотримазолу, кетоконазолу, а также эритромицину), *Enterococcus faecalis* (чувствителен к линезолиду, фурадонину, полимиксину В), *Escherichia coli* (чувствителен к линезолиду, фурадонину, триметоприм/сульфаметоксазолу), *Streptoccocus pyogenes* (чувствителен к клиндамицину, линезолиду, полимиксиму В).

Таблица 3 Антибиотикочувствительность микроорганизмов к препаратам с бактериостатическим действием (%)

	Антибиотики													
Микроорга- низмы	а/ч	$nd\epsilon$	Клин	Лин	$\Phi_{\!$	T/c	Кот	Kem	Пол В					
Acinetobacter	R		100	100		100								
baumanii	S				100									
Aeromonas veronii	R													
Heromonus veronn	S	100				100								
Candida albicans	R								75					
	S	100					50	50						
Cirobacter freundii	R													
	S					100								
Enterobacter	R													
cloacae	S					50	100							
Enterococcus	R					100								
faecalis	S			75	75				100					
Escherichia coli	R													
Escherichia con	S			100	75	75								
Klebsiella oxytoca	R													
Kiedsieitä oxyloca	S					100								
Klebsiella pneu-	R						100							
monia	S	100				50								
Morganella mor-	R													
ganii	S					100								
Proteus hauseri	R													
rroteus nausert	S					50								
Proteus mirabilis	R													

1			1	1	1	1	1	1	1
	S								
Pseudomonas ae-	R					50			
ruginosa	S							100	
Da au dom on as ann	R								
Pseudomonas spp.	S								
Staphylococcus	R	75							
aureus	S		100	100					
Staphylococcus	R		100			100			
epidermidis	S	100		75					
Staphylococcus	R					100			
haemoliticus	S		75	100					
Streptoccocus aga-	R								
lactiae	S		100	100					
Streptoccocus	R								
Pyogenes	S		100	100					100

Сокращения: a/ч — антибиотикочувствительность; R — устойчивость, S — чувствительность; Эри — эритромицин, Kлин — клиндамицин, Лин — линезолид, Фур — фурадонин, T/c — триметоприм/сульфаметоксазол, Kom — клотримазол, Kem — кетоконазол, Πол B — полимиксин B.

Таким образом, обнаруживается тенденция резистентности у ряда возбудителей внутрибольничных инфекций к антибиотикам бактерицидного действия группы бета-лактамов — цефепиму, эртапенему, цефтазидиму, а также хинолонам. Однако имеет место видовая специфичность чувствительности и к указанным препаратам, и к другим антибиотикам. Для большинства выявленных микроорганизмов — возбудителей внутрибольничных инфекций нехарактерна устойчивость к антибиотикам бактериостатического действия.

Список литературы

- 1. Березняков И.Г. Резистентность микробов к антибиотикам / И.Г. Березняков // Клиническая антибиотикотерапия. 1999. №1. С. 27—31.
- 2. Брискин В.С. Внутрибольничная инфекция и послеоперационные осложнения с позиций хирурга / В.С. Брискин // Инфекции и антимикробная терапия. 2000. Т. 2, №4. С. 2—8.

- 3. Габриэлян Н.И. Проблема профилактики госпитальных инфекций в хирургии / Н.И. Габриэлян // Актуальные вопросы современной хирургии / под ред. Н.И. Габриэляна, Л.И. Арефьевой, Т.Б. Преображенской, Т.С. Спириной. М., 2003. С. 97.
- 4. Зуева Л.П. Обоснование необходимости мониторинга за антибиотикорезистентностью микроорганизмов / Л.П. Зуева, Е.Н. Колосовская // Terra Medica Nova. -2006. -№3. - C. 62–66.
- 5. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории: методические указания МУ 4.2.2039-05 от 23 декабря 2005 г. М., 2005.
- 6. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: методические указания МУК 4.2.1890-04. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004. 91 с.
- 7. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебнопрофилактических учреждений: Приказ Минздрава СССР №535 от 22.04.1985.
- 8. Яковлев В.П. Госпитальная инфекция в хирургическом стационаре / В.П. Яковлев // Современные проблемы эпидемиологии, диагностики и профилактики внутрибольничных инфекций / под ред. В.П. Яковлева, Н.А. Семиной, Р.П. Тереховой [и др.] СПб., 2003. С. 68–70.
- 9. Gross P.A., Antwerpen C.V. Nosocomial infections and hospital death // The American Journal of Medicine. 1983. Vol. 75. Pp. 658–662.