

© Колектив авторів, 2011
УДК 579.61:616-093/-098

**І.А. Воронкіна, С.А. Деркач, І.А. Крилова, Л.С. Габишева, М.І. Краснов,
Т.Л. Піддубна**

АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ПОЗАГОСПІТАЛЬНИХ ІЗОЛЯТІВ *S. AUREUS*, ВИЛУЧЕНИХ ІЗ КИШЕЧНИКУ

ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України»,
Київська районна санітарно-епідеміологічна станція м. Харкова

*Визначено антибіотикорезистентність позагоспітальних ізолятів *S. aureus*, циркулюючих у Харківському регіоні. Встановлено, що половина всіх виділених з кишечника *S. aureus* є MRSA. Визначення чутливості до антибіотиків MRSA та MSSA штамів показало достовірно вищу кількість резистентних штамів до різних груп антибіотиків серед MRSA. Третина позагоспітальних ізолятів MRSA підозрілі на генетично детерміновану стійкість до оксациліну (наявність гену *tesA*). У решти штамів стійкість до оксациліну обумовлена гіперпродукцією *b*-лактамаз.*

Ключові слова: *S. aureus*, метицилінорезистентність, чутливість до антибіотиків.

Останнім часом все більшою проблемою медицини стає зростаюча резистентність мікроорганізмів до антибактерійних препаратів [1, 2]. Це пов'язано з нераціональним використанням антибіотиків широкого спектру дії, які все частіше застосовують починаючи з реанімаційних відділень, пологових будинків, дитячих поліклінік та закінчуючи самостійним лікуванням населення, без призначення лікарем, без визначення чутливості і дотримання доз та схеми терапії. Основна небезпека такого лікування полягає в тому, що воно сприяє штучній селекції умовно патогенних мікроорганізмів із множинною антибіотикорезистентністю. Антибіотики пригнічують ріст нормальної мікрофлори кишечника, що сприяє розмноженню бактерій, які здобули стійкість до цих препаратів. Таким чином, зміна спектру чутливості до антибіотиків має місце як у стаціонарах, де формуються госпітальні штами, так і взагалі на конкретній території за певний період часу.

На сьогодні спостерігається збільшення частоти виділення штамів *S. aureus*, резистентних до сучасних антимікробних препаратів, що використовуються в клінічній практиці. Особливої уваги потребують метицилінорезистентні штами стафіло-

коку (MRSA), адже для цієї групи мікроорганізмів характерною є резистентність до всіх β -лактамних антибіотиків, досить часто спостерігається резистентність до аміноглікозидів, макролідів, хінолонів та тетрациклінів [3]. MRSA уперше описано у 60-ті роки минулого століття, що було пов'язано з широким використанням метициліну [4]. На сьогодні в Європі питома вага таких штамів близько 20 %, в Америці цей показник, за даними Національної системи контролю нозокоміальної інфекції (NNIS), складає 59 % [5], в Росії – 33,6 % [6].

З численних досліджень відомо, що MRSA є частим збудником нозокоміальних інфекцій. Та ще однією суттєвою клінічною проблемою стало активне збільшення кількості позалікарняних штамів MRSA. Реконвалесценти з підвищеною проліферацією антибіотикорезистентних бактерій виносять їх у зовнішнє середовище, перетворюючись при цьому у потенційне джерело інфекції. Перші повідомлення з цього приводу опубліковано в Америці в 1982 р. [7], у 2006 р. з'явилися повідомлення про те, що позалікарняний MRSA є найбільш частим збудником інфекцій шкіри та м'яких тканин [8]. Проведені у Росії у 2009 р. дослідження показали, що частка позагоспітальних MRSA, виділених від дітей раннього віку з інфекціями м'яких тканин та шкіри, складала 16 % [9]. Дослідники з Великобританії виявили, що частка таких бактерій серед всіх збудників інфекцій в області хірургічного втручання складала 54 %, при цьому впровадження програми зі скринінгу всіх поступаючих до відділення пацієнтів на носійство MRSA та призначення мупіроцину всім госпіталізованим пацієнтам знизило цей показник на 93 % [10].

В Україні проблема розповсюдженості позалікарняних штамів MRSA вивчена недостатньо. Багатоцентрові дослідження, які б охоплювали більшість регіонів, не проводяться, лише з'являються окремі повідомлення, які не розкривають істинного масштабу даної проблеми [11, 12].

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

У зв'язку з цим нами проведено дослідження, метою якого було визначення антибіотикорезистентності позагоспітальних ізолятів *S. aureus*, циркулюючих в Харківському регіоні.

Матеріали і методи

Об'єктом досліджень були 120 ізолятів бактерій роду *Staphylococcus*, виділених при дослідженні випадків дисбактеріозу амбулаторних хворих з гнійно-запальними захворюваннями різної локалізації та після перенесеної ГКІ. У всіх пацієнтів виявлено супутній синдром дисбактеріозу кишечника, зумовлений як перенесеною кишковою інфекцією, так і іншими соматичними хворобами (захворювання верхніх дихальних шляхів (ВДШ), піодермії, цистити та ін.), при лікуванні яких призначалась антибактерійна терапія.

Відбір матеріалу для досліджень здійснювали згідно з діючими нормативними документами [13]. Ідентифікацію мікроорганізмів проводили за загальноприйнятими методами.

Резистентність мікроорганізмів до антибіотиків визначали диско-дифузійним методом на середовищі Мюллера-Хінтона з використанням стандартних комерційних дисків (HiMedia, Індія) з оксациліном, пеніциліном, амоксициліном, лінкоміцином, азитроміцином, гентаміцином, ванкоміцином, лінезолідом, цефоперазоном,

цефтриаксоном, цефтазидимом, цефепімом, цефуроксимом, ципрофлоксацином, ломефлоксацином, моксифлоксацином [14].

З метою виявлення стафілококів з гіперпродукцією β-лактамаз визначали їх чутливість до ампіциліна/сульбактама та амоксиклава, згідно методики [3].

Внутрішній контроль якості визначення чутливості здійснювали з використанням референс-штаму мікроорганізмів *S. aureus* ATCC 25923.

Інтерпретацію результатів визначення чутливості *S. aureus* до антибіотиків проводили згідно діючого Наказу МОЗ України №167 [14].

Отримані результати піддавали статистичній обробці з використанням методів варіаційної статистики. Визначали середню арифметичну (M), середньоквадратичне відхилення (y), помилки середньої арифметичної (m). Оцінку достовірності розбіжностей проводили за критерієм Ст'юдента (t) з урахуванням рівня значущості (p).

Результати досліджень та їх обговорення

При визначенні антибіотикочутливості виділених з кишечника золотистих стафілококів встановлено, що до оксациліну чутливими були (50,0±4,6) % досліджених штамів. Така ж кількість штамів виявилась і резистентними до цього антибіотика (табл. 1).

Таблиця 1

Результати визначення чутливості до антибіотиків *S. aureus* (n=120)

Антибіотик	Чутливі, %	Помірно чутливі, %	Резистентні, %
Оксацилін	50,0±4,6	0	50,0±4,6
Пеніцилін	31,7±4,3	0	68,3±4,3
Амоксицилін	29,2±4,2	0	70,8±4,2
Ампіцилін/сульбактам	42,5±4,5	7,5±2,4	50,0±4,6
Амоксиклав	45,0±4,6	5,0±1,9	50,0±4,6
Лінкоміцин	73,3±4,1	1,7±1,2	25,0±3,9
Азитроміцин	93,3±2,3	0	6,7±2,3
Гентаміцин	95,0±2,0	2,5±1,4	2,5±1,4
Ванкоміцин	94,2±2,1	0	5,8±2,1
Лінезолід	100,0±0,0	0	0
Цефоперазон	58,3±4,5	0,8±0,8	40,9±4,5
Цефтриаксон	58,3±4,5	0,8±0,8	40,9±4,5
Цефтазидим	45,0±4,6	5,0±1,9	50,0±4,6
Цефепім	42,5±4,5	7,5±2,4	50,0±4,6
Цефуроксим	45,0±4,6	5,0±1,9	50,0±4,6
Ципрофлоксацин	94,2±2,1	0	5,8±2,1
Ломефлоксацин	99,2±0,8	0,8±0,8	0
Моксифлоксацин	99,2±0,8	0,8±0,8	0

Чутливість до пеніциліну та амоксициліну складала (31,7±4,3) та (29,2±4,2) % відповідно, натомість більша кількість *S. aureus* (а це близько 70,0 %) були стійкими до цих антибіотиків. Помірно-

чутливих золотистих стафілококів до препаратів пеніцилінового ряду не виявлено.

Кількість чутливих штамів до цефалоспоринів (цефоперазону, цефтриаксону, цефтазидиму, це-

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

фепіму, цефуроскиму) коливалась від (42,5±4,5) до (58,3±4,5)%. До цефтазидиму і цефуроскиму помірно-чутливими були (5,0±1,9) %, цефепіму (7,5±2,4) %, цефоперазону та цефтриаксону помірно-чутливим виявився один ізолят *S. aureus*. Половина всіх виділених *S. aureus* проявили резистентність відносно цефтазидиму, цефепіму та цефуроскиму – (50,0±4,6) %. Нечутливими до цефоперазону та цефтриаксону виявились (40,9±4,5) % бактерій.

Лінкоміцин виявився активним стосовно (73,3±4,1) % *S. aureus*. (25,0±3,9) % штамів проявили резистентні властивості стосовно даного препарату.

Досить висока чутливість спостерігалась до фторхінолонів (ципрофлоксацину, ломефлоксацину та моксифлоксацину). Чутливими були від (94,2±2,1) до (99,2±0,8) % усіх виділених золотистих стафілококів. До ломефлоксацину та моксифлоксацину стійких штамів не знайдено, але один штам виявив помірну стійкість. Ципрофлоксацин виявився неактивним стосовно (5,8±2,1) % *S. aureus*.

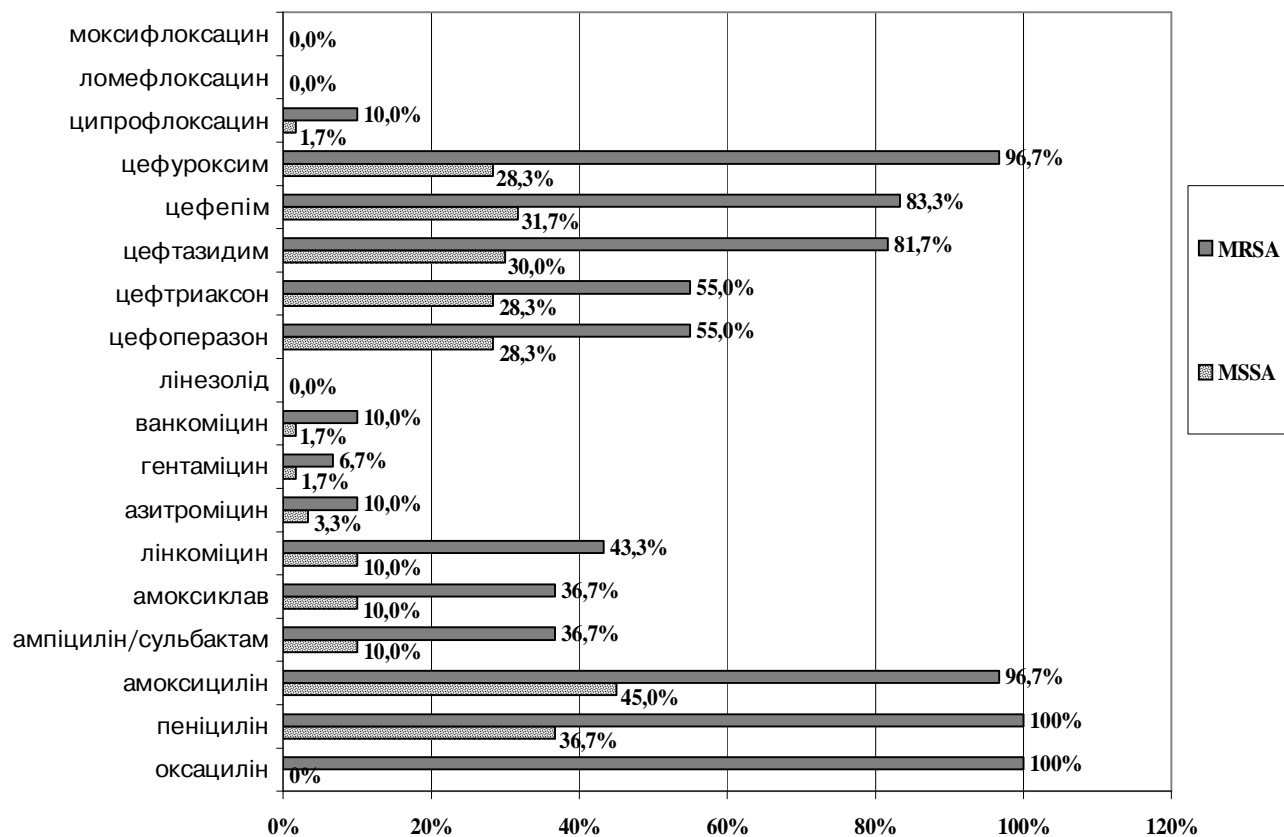
До ванкоміцину кількість чутливих штамів складала (94,2±2,1) %, резистентних – (5,8±2,1) %. Усі досліджені штами були чутливими до лінезоліду.

Визначення чутливості до оксациліну *S. aureus* показало, що 50,0 % усіх виділених штамів від хворих з синдромом дисбактеріозу кишечника є метицилінорезистентними.

Відомо, що існує три механізми формування стафілококами резистентності: перший – це продукція додаткового пеніцилінозв'язуючого білка (ПЗБ), який кодується хромосомним геном «*mec A*» – класична, або істинна, резистентність; другий – інактивація внаслідок гіперпродукції β-лактамаз; третій – наявність модифікованих (внаслідок мутацій) нормальних пеніцилінозв'язуючих білків.

Найбільш небезпечними є штами стафілококів, які володіють істинною резистентністю, тому що при зумовлених ними інфекціях терапія β-лактамами антибіотиками, а саме пеніцилінами, цефалоспоринами, карбапенемами та монобактамами, буде неефективною [14, 15]. До того ж, більшість штамів з геном *mec A* є полірезистентними практично до всіх інших класів антибіотиків.

Нами проведено аналіз резистентності до антибіотиків окремо метицилінорезистентних та метициліночутливих *S. aureus* (MSSA) (мал. 1).



Мал. 1. Кількість антибіотикорезистентних штамів *S. aureus* (n=120), %.

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Виявлено достовірно вищу кількість нечутливих штамів серед MRSA до різних груп антибіотиків, ніж серед MSSA ($P \leq 0,1$). Так, до цефуроксиму кількість резистентних штамів серед MRSA складала ($96,7 \pm 1,7$) %, серед MSSA – ($28,3 \pm 4,1$) %, до цефепіму – ($83,3 \pm 3,4$) та ($31,7 \pm 4,2$) % відповідно. До цефтриаксону та цефоперазону стійкість виявили ($55,0 \pm 4,6$) % метицилінорезистентних стафілококів та ($28,3 \pm 4,1$) % метициліночутливих.

Усі метицилінорезистентні штами були резистентними і до пеніциліну. Серед MSSA кількість нечутливих до цього антибіотика штамів склала ($36,7 \pm 4,4$) %.

Встановлено, що ($36,7 \pm 4,4$) % MRSA стійкі до ампіциліна/сульбактаму та амоксицилаву. У цих штамів можна передбачати наявність істинної резистентності або обумовленої модифікацією нормального ПЗБ. У решти штамів ($63,3$ %) стійкість до оксациліну скоріш усього обумовлена гіперпродукцією β -лактамаз.

($10,0 \pm 2,8$) % MRSA проявили резистентність до ципрофлоксацину. До моксифлоксацину та ломефлоксацину резистентних *S. aureus* не виявлено. Ломефлоксацин та моксифлоксацин є досить сучасними фторхінолонами останнього покоління, тому і досить ефективними. Але слід звернути увагу на те, що з'являються помірно стійкі штами до цих препаратів, отже в майбутньому можна прогнозувати появу резистентних штамів і до цих антибіотиків.

Отримані дані стосовно резистентності MRSA, циркулюючого в Харківському регіоні, показали, що такі мікроорганізми дійсно володіють множиною резистентністю до антибактерійних препаратів, що не суперечить результатам досліджень інших науковців [2, 16].

Відомо, що препаратами вибору для лікування інфекцій, спричинених MRSA штамми, можуть бути лінезолід та ванкоміцин. Нами резистентних до лінезоліду штамів не виявлено ні серед MRSA, ні серед MSSA. Але лінезолід досить дорогий, що ускладнює його використання в амбулаторних умовах. Крім цього, він володіє лише бактеріостатичною дією. Ванкоміцин може використовуватись тільки внутрішньовенно і є нефротоксичним. Крім цього, нами виявлено ($10,0 \pm 2,8$) % резистентних до ванкоміцину MRSA (мал. 1). Звісно, ці штами потребують подальшого та більш ретельного вивчення. Та можна з впевненістю стверджувати, що використання ванкоміцину для лікування інфекції, спричиненої таким штамом, буде малоефективним.

Висновки

1. 50,0 % всіх виділених з кишечника ізолятів *S. aureus* є метицилінорезистентними.

2. Виявлено достовірно вищу кількість резистентних штамів серед MRSA до різних груп антибіотиків, ніж серед MSSA ($p < 0,01$).

3. У 36,7 % MRSA можна передбачити наявність істинної резистентності або обумовленої модифікацією нормального ПЗБ. Ці штами відібрані до лабораторної колекції з метою подальшого вивчення механізму резистентності за допомогою ПЛР. Дослідження механізму резистентності стафілококів повинно сприяти уникненню помилок при призначенні антибактерійної терапії.

4. Серед ізолятів *S. aureus* виявлено помірно чутливі штами до фторхінолонів останнього покоління – ломефлоксацину та моксифлоксацину, отже в майбутньому можна прогнозувати появу резистентних штамів і до цих антибіотиків.

5. Актуальним є пошук і розробка нових препаратів, які б володіли анти-MRSA активністю, або інших альтернативних етіотропних засобів лікування інфекцій, спричинених метицилінорезистентними стафілококами (використання фітопрепаратів, вакцин і відродження фаготерапії).

6. Для виявлення широти розповсюдження штамів MRSA на конкретних територіях, у закладах охорони здоров'я різного профілю і в амбулаторних хворих з різними клінічними діагнозами необхідне проведення моніторингових досліджень спільними зусиллями клініцистів, бактеріологів і науковців. Результатом такої роботи стане підвищення якості лікування хворих на стафілококову інфекцію та зменшення темпів розповсюдження резистентності.

Література

1. Власова А.В., Щедров Д.Н., Гогин В.Н. Использование результатов мониторинга бактериальной флоры в стационаре в 2008-2009 гг. для сдерживания роста резистентности уропатогенов // Клини. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 20.

2. Сидоренко С.В. Тенденции в распространении антибиотикорезистентности среди возбудителей внебольничных инфекций на территории Российской Федерации [Электронный ресурс] // Consilium medicum. – 2007. – Т. 9, № 1. Режим доступа : http://old.consiliummedicum.com/media/consilium/07_01/75.shtml.

3. Дехнич А.В. Выявление резистентности к метициллину и другим бета-лактамам антибиотикам методом скрининга // Клини. микробиол. и антимикроб. химиотер. – 1999. – Т. 1, № 1. – С. 89-91.

4. Changing staphylococci and infections: A ten-year study of bacteria and cases of bacteremia / O. Jessen, R. Rosendal, P. Bulow [et al.] // N. Engl. J. Med. – 1969. – Vol. 281. – P. 627-635.

5. National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System Report, data summary from January 1992 through June 2004 // *Am. J. Infect. Control.* – 2004. – Vol. 32. – P. 470-485.
6. Эпидемиология резистентности штаммов *S. aureus*, выделенных от пациентов в ОРИТ российских стационаров: результаты многоцентрового исследования / А.В. Дехнич, А. А. Никулин, Е. Л. Рябкова и др. // *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.* – 2008. – Т. 10, № 4. – С. 333–344.
7. Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*: epidemiologic observations during a community-acquired outbreak / L.D. Saravolatz, N. Markowitz, L. Arking [et al.] // *Ann. Intern. Med.* – 1982. – Vol. 96. – P.11-16.
8. Цветков Д.С., Проценко Д.Н. Антибактериальная терапия грамположительной инфекции в ОРИТ: возможности и ограничения // *Интенсивная терапия.* – 2009. – 8 с.
9. Антибиотикорезистентность штаммов *S. aureus*, выделенных у детей раннего возраста с инфекциями кожи и мягких тканей / Г.К. Решедько, Т.Г. Авдеева, О.С. Стунжас, Н.В. Иванчик // *Клин. микробиол. антимикроб. химиотер.* – 2009. – Т. 11, № 4. – С. 356-361.
10. Walsh E.E. Sustained reduction in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* wound infections after cardiothoracic surgery / E.E. Walsh, L. Greene, R. Kirshner // *Arch. Intern. Med.* – 2011. – Vol. 171, № 1. – P. 68-73.
11. Дослідження оксациліно- і ванкоміцинорезистентних позагоспітальних ізолятів стафілококів / Р.Г. Шикун, В.В. Данилейченко, О.П. Корнійчук та ін. // *Інфекційні хвороби.* – 2010. – № 4 (62). – С. 55-58.
12. Макушенко О.С., Авдеева Л.В., Мачерет Я.Ю. Видовий склад та чутливість до антибіотиків оксацилінрезистентних штамів стафілококів // *AML XIV.* – 2008. – № 1-2. – С. 50-54.
13. Методические указания по применению унифицированных микробиологических (бактериологических) методов исследования в клинико-диагностических лабораториях / Приложение № 1 к приказу МЗ СССР № 535 от 22 апреля 1985 г. – 45 с.
14. Наказ МОЗ України № 167 Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» : – [Чинний від 2007-04-05].
15. Від антибіотикограми до рецепта / Ф. Жель, М. Шома-ра, М. Уебер та ін. – К. : Логос, 2007. – 139 с.
16. Метициллинорезистентные стафилококки: распространённость, лечение / А.А. Самсон, Л.П. Титов, Т.С. Ермакова и др. // *Клин. микробиол. и антимикроб. химиотер.* – 2010. – Т. 12, № 2. – С. 47.

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF COMMUNITY-ACQUIRED *S. AUREUS* STRAINS ISOLATED FROM INTESTINAL TRACTS

I.A. Voronkina, S.A. Derkach, I.A. Krylova, L.S. Habysheva, M.I. Krasnov, T.L. Piddubna

*SUMMARY. Antibiotic resistance of community-acquired *S.aureus* isolates circulating in the Kharkiv region was determined. It was established that 50% of total amount of *S.aureus* isolated from intestinal tracts were MRSA. MRSA and MSSA strains antibiotic susceptibility tests showed the greater number of strains resistant to different groups of antibiotics among MRSA in comparison with MSSA. Genetically determined oxacillin-resistance due to a methicillin-resistant gene (*mecA*) was supposed in one-third of community-acquired MRSA isolates. Oxacillin-resistance of the rest of the strains was due to *β*-lactamases hyperproduction.*

Key words: *S. aureus*, methicillin-resistance, antibiotic susceptibility.

Отримано 11.07.2011 р.

© Бобрицька Л.А., Кучма І.Ю., 2011
УДК 615.014.21:615.281

Л.А. Бобрицька, І.Ю. Кучма

ВИВЧЕННЯ СПЕЦИФІЧНОЇ ПРОТИГЕРПЕТИЧНОЇ АКТИВНОСТІ ПРЕПАРАТУ ГЕРПЕВАЛ-500

Національний фармацевтичний університет,
ДЗ «Інститут мікробіології і імунології ім. І.І. Мечникова АМН України

Представлені матеріали вивчення специфічної протигерпетичної активності препарату «Герпевал-500». Встановлена цитопатична і противірусна дія препарату відносно штамів герпесу типів 1 і 2 у культурах клітин, що перевиваються, і на курячих ембріонах. Середня цитопатична доза для культур клітин Нер-2 і Тг, а також фібробластів курячого ембріона перебуває на рівні 0,1-0,2 мг/мл. Протигерпетична