

Н.И. Михеева^{1, 2}, С.В. Ионущене^{1, 3}, В.В. Долгих¹, С.В. Молева², А.Д. Апостолова²,
А.С. Ваняркина²

МИКРОБИОЛОГИЧЕСКИЙ МОНИТОРИНГ У НОВОРОЖДЕННЫХ, НАХОДЯЩИХСЯ В ОТДЕЛЕНИИ РЕАНИМАЦИИ И ИЗМЕНЕНИЯ ЕГО РЕЗУЛЬТАТОВ ПОД ВОЗДЕЙСТВИЕМ ВНЕШНИХ УСЛОВИЙ

¹ Учреждение Российской академии медицинских наук Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека Сибирского отделения РАМН (Иркутск)

² МУЗ «Городской перинатальный центр» (Иркутск)

³ ГБОУ ДПО «Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования» (Иркутск)

В статье представлен анализ микробного пейзажа у детей в отделении реанимации для новорожденных и его изменения под действием внешних условий. С 2007 по 2010 гг. было выполнено 5237 бактериологических исследований различных биологических сред новорожденных. Идентификация микрофлоры выполнялась согласно рекомендациям NCCLS. При оценке результатов учитывались сроки и виды изменений внешних условий, питания и антибактериальной терапии. Средние сроки контаминации детей составили $4 \pm 0,7$ суток нахождения в отделении. Большинство возбудителей были грамположительными, чувствительными к химиопрепаратам. Массовое применение антибиотиков широкого спектра действия привело к значительному повышению доли неферментирующих грамотрицательных бактерий и появлению устойчивых штаммов. Под воздействием принятых мер количество положительных высевов уменьшилось с 468 в 2007 г. до 87 в 2010 г. Соотношения между патогенами приблизились к нормальному межвидовым. Выживаемость детей с экстремально низкой массой тела увеличилась с 65,7 % до 85,9 % ($\chi^2 = 13,64$; $p = 0,0002$), произошло сокращение дней вентиляции легких, уменьшение частоты нозокомиальных инфекций и хронических заболеваний легких у новорожденных в отделении.

Ключевые слова: микробиологический мониторинг, нозокомиальные инфекции, новорожденные дети, недоношенные

MICROBIOLOGICAL MONITORING IN INFANTS ADMITTED IN AN INTENSIVE CARE UNIT AND EVOLUTION OF MICROBIAL ENVIRONMENT DRIVEN BY CHANGES OF EXTERNAL CONDITIONS

N.I. Mikheeva¹, S.V. Ionushene^{2, 3}, V.V. Dolgikh², S.V. Moleva¹, A.D. Apostolova¹,
A.S. Vanyarkina¹

¹ Scientific Center of Family Health Problems and Human Reproduction SB RAMS, Irkutsk

² Municipal Perinatal Center, Irkutsk

³ Irkutsk State Medical Academy of Continuing Education, Irkutsk

We present the results of microbial environment evaluation in neonatal intensive care unit (NICU) and its evolution, induced by different external conditions. Totally 5237 samples from different baby's sites were microbiologically tested from 2007 to 2010. Pathogens identification was done in accordance to NCCLS. We had regards to time and types of external environment, feeding and antibacterial protocols changes during results estimation. The mean time of contamination by hospital strains was $4 \pm 0,7$ days of NICU staying. The most of detected pathogens were gram-positive and high susceptible to antibacterial drugs. Uncontrolled usage of wide spectrum antibiotics, lead to elevation of amount of non-fermentative gram-negative bacteria and start a period of drug resistance in NICU. We generally observed positive dynamics in total bacterial count with decreasing positive microbiological tests from 468 in 2007 to 87 in 2010. It demonstrates that our attempts for inflectional controlling were effective. Under influence of inflection control reorganization, general microbial environment in NICU, pathogens relationships come to biologically normal. Survival of newborns with very low birth weight increased from 65,7 % to 85,9 % ($\chi^2 = 13,64$; $p = 0,0002$), amount of ventilator days, rate of nosocomial infection and chronic lung disease rate decreased.

Key words: microbiological monitoring, nosocomial infections, neonates, preterm

Успехи антенатального менеджмента и неонатальной интенсивной терапии в последние 10–15 лет значительно изменили прогнозы выживания и выздоровления для недоношенных новорожденных. Более 85 % детей, рожденных на 25-й неделе гестации, сейчас выживают. В свою очередь это привело к серьезным изменениям соотношений категорий недоношенных, находящихся на лечении в отделениях интенсивной терапии для новорожденных (ОРИТН). И если средняя длительность пребывания на реанимационной койке доношенных или близких к доношенным детей, имеющих хирургические или респираторные проблемы, со-

ставляет около 15 дней, то длительность лечения недоношенных новорожденных 26-й недели гестации может составить более 2 месяцев [11].

Популяция недоношенных с экстремально низкой массой тела при рождении (ЭНМТ) и очень низкой массой тела (ОНМТ) при рождении, получающих лечение столь долгое время и подвергающихся значительному количеству инвазивных процедур, является самой подверженной нозокомиальным инфекциям.

Микробиологические исследования являются основой для доказательства клинической эффективности различных антимикробных препаратов и одним из основных инструментов госпитального

эпидемиологического мониторинга и динамического контроля распространения антибиотикорезистентных штаммов. С другой стороны, эпидемиологический контроль и профилактика внутрибольничных инфекций в отделениях реанимации для новорожденных включают в себя значительно более широкий спектр мероприятий, чем просто антибактериальная терапия. Огромную роль играют как рутинные гигиенические мероприятия, так и такие факторы, как вскармливание грудным молоком, использование неинвазивных опций респираторной поддержки и др. [3, 4, 9, 10, 15].

Нозокомиальные инфекции являются важным фактором, обуславливающим заболеваемость и смертность в отделениях реанимации для новорожденных (ОРИТН). Их наличие не только отягощает состояние новорожденных, но и является причиной удлинения сроков госпитализации, дополнительных расходов на лечение и ухудшает отдаленные результаты реабилитации новорожденных. Несмотря на то, что нозокомиальные инфекции могут иметь эндогенное и экзогенное происхождение, более 80 % из них являются эндогенными. В связи с этим контроль за динамикой высевов из биологических сред новорожденных, находящихся в ОРИТН, является важной частью общего микробиологического мониторинга в отделении. При этом одной из главных задач проведения микробного мониторинга в целом является контроль за циркуляцией штаммов нозокомиальных микроорганизмов и их резистентностью [2, 3, 6, 9, 10].

Мы представляем результаты микробиологического мониторинга у новорожденных, находящихся на лечении в ОРИТН, и его изменения под действием внешних условий и адаптируемых алгоритмов антимикробной терапии.

МЕТОДИКА

За период с 2007 – 2010 гг. в отделении были обследованы 1027 пациентов, из них 266 доношенных и 761 недоношенный ребенок. Среди недоношенных детей было 150 пациентов с экстремально низкой массой тела при рождении (ЭНМТ). Детей, нуждавшихся с рождения в искусственной вентиляции легких (ИВЛ), было 437, из которых в течение более трех суток вентилировались 193 ребенка (табл. 1).

Таблица 1
Основные характеристики обследованной когорты новорожденных детей

	2007 г.	2008 г.	2009 г.	2010 г.
Всего	285	239	260	243
Доношенных	86	57	52	71
Недоношенных	199	182	208	172
из них ЭНМТ*	35	44	37	34
На ИВЛ^	94	97	103	143
из них более 3 сут.	48	51	54	40

Примечание: * ЭНМТ – экстремально низкая масса тела при рождении; ^ ИВЛ – искусственная вентиляция легких.

В связи с тяжелым состоянием, требующим проведения интенсивных и реанимационных меропри-

ятий, при поступлении у всех детей в асептических условиях с использованием одноразовых наборов была выполнена катетеризация либо периферической, либо центральной вены через периферическую. Также у всех детей в течение первых трех суток были установлены орогастральные зонды.

В общей оценке источников патогенов учитывались данные микробиологического мониторинга окружающей среды отделения, а также бактериологического обследования матери.

Бактериологический скрининг проводился при поступлении и далее посевами повторялись на 3-и, 6-е и 9-е сутки жизни, затем 1 раз в неделю. Обследование в 1-е сутки включает обязательные посевы крови, аспирата из желудка, аспирата из трахеи при наличии эндотрахеальной трубки либо мазка с задней стенки глотки у неинтубированных детей. Далее в динамике проводятся обязательные посевы трахеального аспирата или мазков с задней стенки глотки. Бактериологические посевы сред других локализаций проводились по показаниям.

Заборы крови на стерильность производились по стандартной методике из двух периферических вен в педиатрические флаконы с комбинированной средой BacT/ALERT PF (BIOMERIEUX, Франция). Заборы аспирата из желудка – при помощи стерильной одноразовой аспирационной системы с мукс-экстрактором (APEXMED International, Нидерланды). Заборы сред из других локализаций производились в стерильные пробирки с виноградно-сахарным бульоном.

Идентификация патогенной микрофлоры и определение ее чувствительности выполнялась согласно рекомендациям NCCLS с определением чувствительности диско-диффузным методом на среде Мюллера – Хинтона [7, 8]. Идентификация микроорганизма проводилась полуколичественным методом с помощью тест-систем BIOMERIEUX (Франция).

Проводилась совокупная оценка результатов бактериологических посевов в динамике по годам. При оценке влияния степени колонизации микроорганизмов на риск развития патологического процесса мы принимали во внимание любую степень их колонизации. Учитывая, что в норме при рождении ребенок является практически стерильным, мы расценивали степень колонизации микроорганизма ниже 10^3 как патологическую контаминацию, а степень колонизации микроорганизма – 10^3 и более как его патологическую колонизацию. Кроме того, в динамике отслеживалось изменение чувствительности отдельных микроорганизмов к различным группам антибактериальных препаратов.

При статистической обработке определялась частота выделения каждого микроорганизма новорожденных в течение временного промежутка равного календарному году. Данные показатели оценивались в сравнении по годам и внутри групп возбудителей. Статистический анализ проводили с помощью пакета комплексной обработки данных STATISTICA 6.0 (StatSoft Inc., США) (правообладатель лицензии – Научный Центр проблем здоровья

семьи и репродукции человека Сибирского отделения РАМН). Для оценки межгрупповых различий по качественным признакам использовался анализ таблиц сопряженности с применением критерия χ^2 с уровнем значимости, равным 5 % ($p \leq 0,05$).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Ежегодное количество выполненных бактериологических исследований отражено в таблице 2.

Таблица 2
Общее количество бактериологических исследований в исследуемые годы

	2007 г.	2008 г.	2009 г.	2010 г.
Выполненные бактериологические исследования	1253	1454	1311	1219
Количество положительных результатов	468	546	171	87

При анализе полученных данных мы видим устойчивую, ярко выраженную положительную динамику в общей бактериальной обсемененности с уменьшением количества положительных высевов с 468 за 2007 г. до 87 за 2010 г.

При этом ежегодное количество детей, получавших лечение в отделении, изменялось незначительно. Средняя длительность пребывания новорожденного на койке реанимации уменьшилась с 7,6 койко-дней в 2008 г. до 5,3 койко-дней в 2010 г., выживаемость детей с ЭНМТ увеличилась с 65,7 % до 85,9 % ($\chi^2 = 13,64$; $p = 0,0002$). В целом это свидетельствует об эффективности принятых алгоритмов противоэпидемических мероприятий, проводившихся в отделении.

До середины 2008 г. в отделении широко применялись антибактериальные препараты широкого и ультраширокого спектра действия, включая пены. Ориентируясь на полученные данные микробного мониторинга, с середины 2008 г. тактика антибактериальной терапии, в том числе и эмпирической, изменилась в сторону применения препаратов более направленного спектра действия. Пенены, фторхинолоны, а также цефалоспорины были исключены из стартовых схем терапии, что нашло отражение в разработанных протоколах. Кроме того, с конца 2008 — первой половины 2009 г. в отделении устоялось крайне принципиальное отношение к таким важным опциям выхаживания новорожденных, как раннее начало энтеральной нагрузки, максимальное использование в кормлении грудного молока, более широкое внедрение неинвазивных опций респираторной поддержки. На территории отделения практически не используются многоразовые расходные материалы, требования к общей гигиене очень высокие, количество проводимых манипуляций с детьми сокращено и по времени их выполнения они максимально совмещены.

Средние сроки контаминации госпитальными штаммами составили $4 \pm 0,7$ суток нахождения в ОРИТН. При этом отмечено преимущество грамположительной (Гр(+)) флоры в первые две недели

жизни и преобладание грамотрицательной (Гр(-)) флоры после второй недели жизни детей.

В структуре полученных положительных результатов за период мы видим устойчивое лидерство Гр(+) флоры (72–79%), основными представителями которой явились стафилококки и энтерококки (рис. 1). При этом наибольшая частота высевов в течение всех лет приходится на *St. epidermidis*, имевшего хорошую чувствительность к антимикробным препаратам (рис. 2), которая в динамике изменилась в сторону появления резистентных штаммов к традиционным препаратам к 2009 г. В последние годы увеличилась также частота высевов *St. haemolyticus* до 25% от всех стафилококков. Другие штаммы стафилококков, в том числе и MRSA, встречаются в результатах бактериологических посевов, но в частоте, не превышающей 8%.

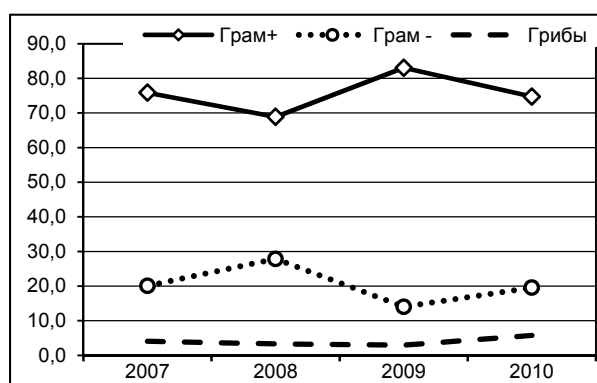


Рис. 1. Ежегодные соотношения количества выделенных штаммов Гр(+), Гр(-) бактерий и грибов.

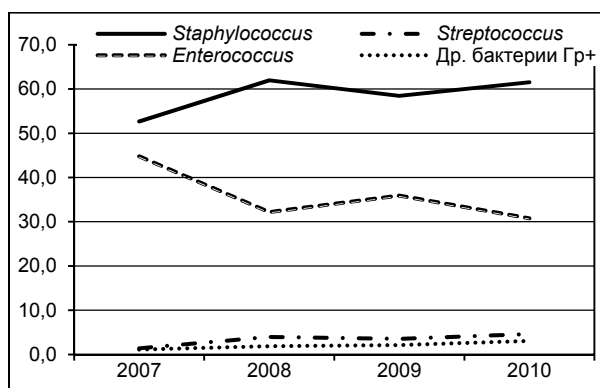


Рис. 2. Соотношения долей высевов в группе Гр(+) бактерий.

Представленные диаграммы иллюстрируют то, что динамика изменений общей доли стафилококков имеет сходную картину с динамикой изменений доли Гр(-) флоры в целом, что соответствует естественной картине межвидовых взаимодействий бактерий.

Энтерококки представляют значительную долю в картине микробного пейзажа. Однако их доля внутри группы Гр(+) бактерий в динамике уменьшилась с 44,8% до 30,8%. Среди энтерококков привлекает внимание внутрибольничный штамм *E. faecium*, резистентность которого с течением времени повышается (рис. 3). С 2009 г. мы выде-

ляем полирезистентный штамм данного микроорганизма, чувствительный только к ванкомицину. Необходимо отметить, что часть штаммов *E. faecalis* в динамике также приобрела резистентность ко многим препаратам. По состоянию на конец 2010 г. выделяются штаммы, чувствительные только к сульперазону, ванкомицину и пенемам.

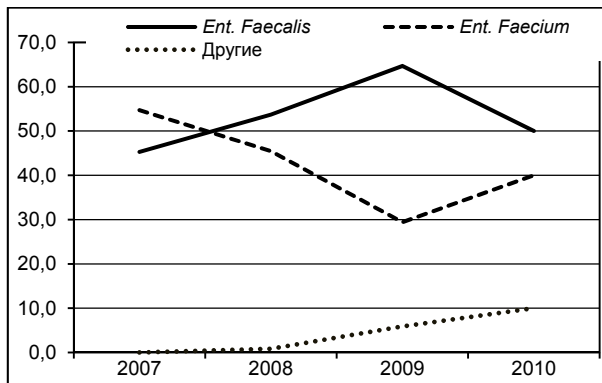


Рис. 3. Динамика изменений соотношений энтерококков внутри группы.

Доля Гр(–) флоры в общем пейзаже колеблется по годам, имея уровни повышения, совпадающие по времени с возрастанием доли детей, длительно находящихся на искусственной вентиляции легких.

В течение изучаемого периода мы отметили два перекреста в графике, иллюстрирующем соотношение долей неферментирующих Гр(–) бактерий (НГОБ) и энтерококков (рис. 4). При этом выраженное преобладание НГОБ обнаружено в 2008 г., в период, совпадающий с наибольшим количеством положительных высевов в отделении и с наивысшей долей Гр(–) флоры в общей структуре бактерий. В 2008 г. в отделении находилось наибольшее количество новорожденных с ЭНМТ, которые составили значительную долю среди детей, длительно находящихся на ИВЛ.

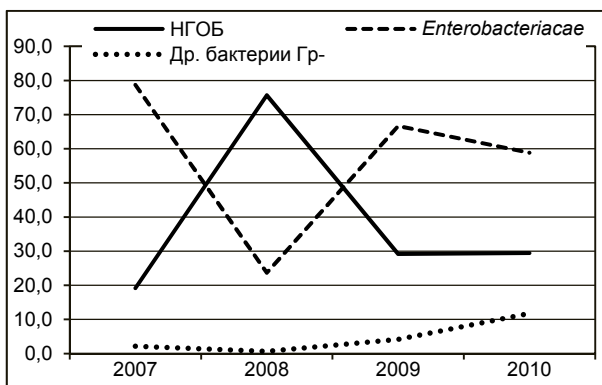


Рис. 4. Соотношения долей высевов в группе Гр(–) бактерий.

Наиболее часто среди НГОБ идентифицируется *Acinetobacter baumannii* (рис. 5), чувствительный только к пенемам. Среди энтеробактерий наибольшая доля приходится на *E. coli* и *Kl. Pneumoniae* (рис. 6), имеющих хорошую чувствительность как

к цефалоспорином 3-го и 4-го поколения, так и к аминогликозидам.

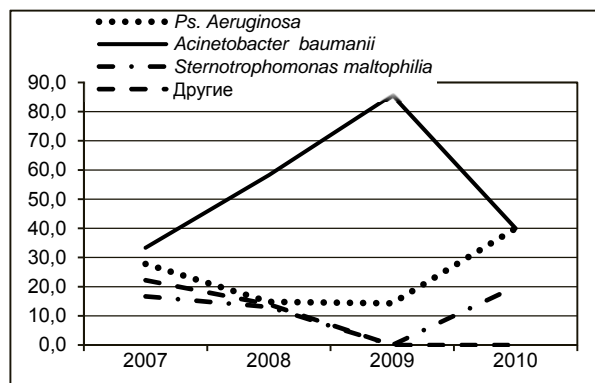


Рис. 5. Динамика изменений соотношений среди неферментирующих грамотрицательных бактерий.

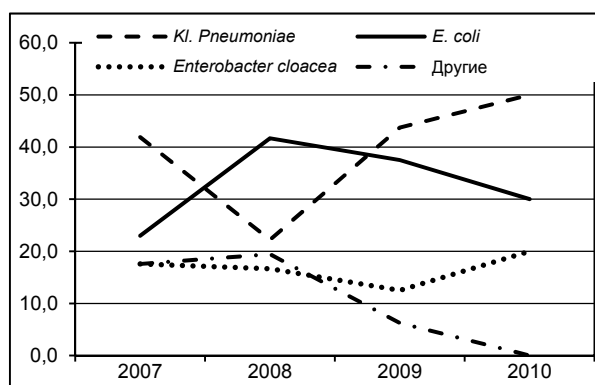


Рис. 6. Динамика изменений соотношений среди Enterobacteriaceae.

ВЫВОДЫ

Невозможно переоценить важность микробиологического мониторинга и мониторинга резистентности циркулирующих штаммов. В отделениях реанимации проблемы смены возбудителей стоят наиболее остро, и, как следствие, снижается эффективность эмпирической антибактериальной терапии, повышается риск возникновения осложнений, увеличивается срок госпитализации [2, 3, 4, 9, 10, 15].

В практическом плане результаты динамического микробиологического обследования пациентов ОРИТН свидетельствуют о том, что по существу большинство выделенных возбудителей являются Гр(+), характеризуются достаточно высокой степенью чувствительности к химиопрепаратам, что косвенно указывает на их внебольничное происхождение [1, 2, 4]. Для лечения подобных больных можно применять распространённые, неширокого спектра действия антибиотики пенициллинового ряда, усиливая их при необходимости другими в соответствии с выявленной чувствительностью штаммов [4, 6, 10, 11, 14]. Эти данные были учтены нами при разработке алгоритмов антимикробной терапии в отделении.

Также наше исследование показало, что массовое применение антибиотиков широкого спектра действия, особенно пенеменов, привело к значительному повышению доли НГОБ, таких, как *Acinetobacter baumannii*, *Sternotrophomonas*

maltophilia и др. Кроме того, широкое применение пеницимов, цефалоспоринов, аминогликозидов положило начало появлению устойчивых штаммов в отделении. Те же последствия «деэскалационных» схем наблюдали и другие авторы [5, 6, 9, 11, 13, 15].

Своеобразие микробного пейзажа в том или ином отделении реанимации, циркуляция, как правило, 2–3 видов микроорганизмов, отличающихся специфичностью биологических свойств с высокой степенью антибиотикорезистентности, что характерно для госпитальных штаммов, диктует необходимость постоянного мониторинга в каждом стационаре. Микробиологический скрининг позволил констатировать возможную смену патогенов, изменение спектра, а также уровня их антибиотикочувствительности. Эти данные легли в основу действующих протоколов отделения для проведения эмпирической и целевой антибактериальной терапии.

Проводимые в соответствии с данными микробиологического мониторинга мероприятия в отделении за короткий срок привели к выраженному снижению количества патологических высевов у детей. Свидетельством правильности выбранной нами тактики является также и то, что общий микробиологический пейзаж, соотношения между различными видами патогенов в настоящее время очень близки к нормальным биологическим межвидовым взаимоотношениям микроорганизмов [1]. Этот Status Quo не только сохраняется даже при наличии внутрибольничных антибиотикорезистентных штаммов, но и способствует контролю над их циркуляцией. Клинический результат проведенных мероприятий выразился в сокращении средней длительности пребывания на койке ОРИТН, повышении выживаемости детей с ЭНМТ с 65,7 % до 85,9 % ($\chi^2 = 13,64$; $p = 0,0002$), сокращении длительности ИВЛ в разных возрастных группах, уменьшению частоты нозокомиальных инфекций и хронических заболеваний легких у новорожденных в отделении.

ЛИТЕРАТУРА

1. Поздеев О.К. Медицинская микробиология / под ред. В.И. Покровского; 2-е изд., испр. – М.: ГЭОТАР-МЕД, 2004. – 768 с.
2. Титов Л.П., Вотяков В.И., Кожемякин А.К. Эволюция микробов и ее медицинское значение // *Здравоохранение*. – 2002. – № 8. – С. 30–35.
3. 10-year prospective surveillance of nosocomial infections in neonatal intensive care units / R.C. Couto

[et al.] // *Am. J. Infect. Control*. – 2007. – N 35. – P. 183–189.

4. Brady M.T. Health care-associated infections in the neonatal intensive care unit // *Am. J. Infect. Control*. – 2005. – N 33. – P. 268–275.

5. Dancer S.J. The problem with cephalosporins // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2001. – Vol. 48, N 4. – P. 463–478.

6. Fighting bacterial resistance at the root: need for adapted EMEA guidelines / A. Andremont [et al.] // *Lancet. Inf. Dis.* – 2011. – Vol. 11, N 1. – P. 6–8.

7. NCCLS: Methods for dilution antimicrobial susceptibility tests for bacteria that grow aerobically; Approved Standard; 6th ed. // NCCLS document M7-A6. – 2003.

8. NCCLS: Performance standards antimicrobial susceptibility testing; Twelfth information supplement // NCCLS document M100-S14. – 2004.

9. Nosocomial infection surveillance in a Colombian neonatal intensive care unit / G.A. Contreras [et al.] // *Am. J. Inf. Control*. – 2006. – Vol. 34, N 5. – P. 153–154.

10. Nosocomial infections in paediatric and neonatal intensive care units / U.A. Mireya [et al.] // *J. Inf.* – 2007. – N 54. – P. 212–220.

11. Polin R.A., Saimon L. Nosocomial infections in neonatal intensive care units // *NeoReviews*. – 2003. – Vol. 4, N 5. – P. 81–88.

12. Treatment and outcome of *Staphylococcus aureus* bacteremia: a prospective study of 278 cases / A.G. Jensen [et al.] // *Arch. Intern. Med.* – 2002. – Vol. 162, N 11. – С. 25–32.

13. United States. Centres for disease control and prevention. Detection of *Enterobacteriaceae* isolates carrying metallo-beta-lactamase" // *MMWR* 59.24 (2010): 750. – 2010. – Режим доступа: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5924a5.htm>.

14. United States. Centres for disease control and prevention. Guidance for control of infections with Carbapenem-resistant or Carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in acute care facilities // *MMWR* 58.10 Mar. 20, 2009: 256–260. – 2009. – Режим доступа: <http://www.cdc.gov/mmwr/preview/mmwrhtml/mm5810a4.htm>.

15. Ventilator-associated pneumonia in extremely preterm neonates in a neonatal intensive care unit: Characteristics, risk factors, and outcomes / A. Apisarnthanarak [et al.] // *Pediatrics*. – 2003. – N 112. – P. 1283.

Сведения об авторах

Михеева Наталья Иннокентьевна – заведующая отделением реанимации и интенсивной терапии новорожденных МУЗ «Городской перинатальный центр»

Ионушен Светлана Владимировна – кандидат медицинских наук, заместитель директора Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, ассистент кафедры неотложной педиатрии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования (664003, г. Иркутск, ул. Тимирязева, 16; e-mail: ionouche@mail.ru)

Долгих Владимир Валентинович – доктор медицинских наук, профессор, заместитель директора Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН, директор Института педиатрии и репродукции человека Научного центра проблем здоровья семьи и репродукции человека СО РАМН

Молева Светлана Владимировна – врач отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных МУЗ «Городской перинатальный центр»

Апостолова Арина Дмитриевна – врач отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных МУЗ «Городской перинатальный центр»

Ваняркина Анастасия Сергеевна – врач отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных МУЗ «Городской перинатальный центр»