

УДК 616.98-022.1-036.614.21-085-053.31

РЕТРОСПЕКТИВНЫЙ АНАЛИЗ КОЛОНИЗАЦИИ ВАНКОМИЦИНРЕЗИСТЕНТНЫМИ ЭНТЕРОКОККАМИ ПАЦИЕНТОВ ОТДЕЛЕНИЯ РЕАНИМАЦИИ НОВОРОЖДЕННЫХ

А.В. Любимова, Н.А. Шалыпина, С.Р. Еремин,

ГБОУ ВПО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова», г. Санкт-Петербург

Любимова Анна Викторовна – e-mail: Lubimova@gmail.com

В статье представлены результаты ретроспективного исследования распространения ванкомицинрезистентных энтерококков (VRE) в отделении реанимации новорожденных (ОРН) с января 2001 по июль 2014 года. Выявлено, что впервые VRE были выделены из клинического материала пациентов в 2004 году и до 2011 года имели место преимущественно спорадические случаи колонизации VRE. Генетическое типирование показало циркуляцию 3 клонов VRE. Факторами риска в этот период являлись применение ванкомицина и длительность госпитализации. С 2011 года VRE получили эпидемическое распространение, когда происходило быстрое распространение одного и того же клона VRE. Необходима организация микробиологического мониторинга за распространением VRE в отделениях данного профиля и разработки эффективных мероприятий по сдерживанию роста ванкомицинрезистентности среди данных микроорганизмов.

Ключевые слова: ванкомицинрезистентные энтерококки, отделение реанимации новорожденных, колонизация, факторы риска.

The article presents the results of a retrospective study of colonization of neonatal intensive care unit patients with vancomycin-resistant enterococci (VRE) from January 2001 to July 2014. VRE were isolated from clinical specimens for the first time in 2004 and until 2011 cases of VRE colonization were mainly sporadic. RAPD-PCR typing showed circulation of three clones of VRE. Risk factors during this period were the use of vancomycin and duration of hospitalization. Since 2011, VRE were spreading epidemically, with a rapid spread of the same clone of VRE. Effective control of VRE requires microbiological monitoring of VRE in the high risk facilities, such as intensive care units, and developing effective measures of infection control to decrease transmission of VRE.

Key words: vancomycin-resistant enterococci, colonization, neonatal intensive care unit, risk factors.

Введение

Ванкомицинрезистентные энтерококки (VRE) являются актуальной проблемой современного здравоохранения. Особенно широкое распространение VRE получили среди пациентов отделений риска по развитию инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, одним из которых является отделение реанимации новорожденных (ОРН). Помимо эндемичных случаев инфекций, вызванных VRE, появляются сообщения о вспышечном распространении данного микроорганизма. Первая вспышка в ОРН, вызванная *E. faecium*, устойчивым к ванкомицину и тейкопланину, возникла в Южной Корее в апреле-мае 1997 года. Все штаммы имели *vanA* ген и были одинаковыми при ПЦР типировании [1]. За последние 15 лет описано еще 7 вспышек в ОРН, вызванных VRE [2–8]. С учетом того, что VRE может передавать резистентность другим грамположительным микроорганизмам с помощью мобильных генетических элементов, изучение их распространения в стационарах является чрезвычайно актуальным.

Цель исследования: изучить распространение VRE в отделении реанимации новорожденных.

Материал и методы

Нами был проведен ретроспективный анализ колонизации/инфекции VRE в отделении реанимации новорожденных на 24 койки с января 2001 по июль 2014 г. Весь

период наблюдения пациенты микробиологически обследовались по следующей схеме: желудочное содержимое, кал, смыв из трахеобронхального дерева забирались при поступлении, на 4-е и 7-е сутки госпитализации в отделение и далее через каждые 7 дней в течение всего периода пребывания в отделении реанимации. Кровь, ликвор, посев отделяемого из глаз, пупочной ранки брались по клиническим показаниям. При удалении центральных катетеров проводился посев с катетера. За этот период времени было выполнено 62 841 микробиологическое исследование клинического материала от 1961 пациента.

Определение чувствительности к ванкомицину проводилось в рутинном порядке диско-диффузионным методом и методом минимальных ингибирующих концентраций (согласно МУК 4.2.1890-04 Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам). В 2010 и 2013–2014 годах выделенные штаммы VRE подвергались молекулярно-генетическому типированию. Генотипы резистентности VRE определяли амплификацией фрагментов генов устойчивости энтерококков к ванкомицину (*vanA*, *vanB*), согласно методике, предложенной Dutka-Malen S. et al. [9]. Молекулярно-генетическое типирование энтерококков методом ПЦР со «случайными» праймерами (RAPD-ПЦР) проводилось с применением универсального праймера R5 в концентрации 50 пмоль/мкл

согласно условиям реакции, предложенным с небольшими модификациями [10]. Реакции проводили в амплификаторах CFX96 (Bio-Rad, США) и «Терцик» («ДНК-Технология», РФ).

Обработка данных проводилась с использованием программы EpiInfo.

Результаты и их обсуждение

За исследуемый период времени частота выделения энтерококков из клинического материала составила 4,1% и колебалась от 1,6% в 2014 году до 5,0% в 2011 году, в этиологической структуре данный показатель составлял 14,6% и варьировал от 7,4% в 2014 году до 22,8% в 2011 году. Среди энтерококков лидировал вид *E. faecium*, его доля составила 69,5% (от 49,4% в 2005 году до 80,5% в 2003 году). Резистентность к ванкомицину выявлялась только у *E. faecium*.

Впервые VRE был выделен из клинического материала в 2004 году. С января 2004 по июль 2014 года VRE были выделены от 104 пациентов (130 культур), ванкомицинчувствительные (VSE) – от 542 пациентов (810 культур).

В период с 2004 по 2011 год VRE обнаруживался в клиническом материале лишь в отдельные месяцы. Интенсивное распространение VRE началось с 2011 года (рис. 1). В период с 2004 по 2011 год удельный вес VRE составил 8,97%, частота колонизации – 1,21 на 100 пациентов, а с января 2011 по июль 2014 – 35,92% ($p << 0,001$), частота колонизации – 6,17 на 100 пациентов ($p << 0,001$).

Результаты молекулярно-генетического типирования на носительство каскет ванкомицинрезистентности VanA и VanB показали, что большинство протипированных штаммов (15 из 20) имели каскету Van A (рис. 2).

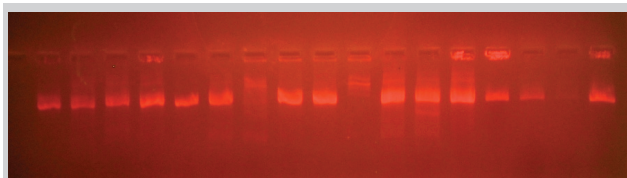


РИС. 2.
Электрофореграмма на наличие гена VanA.

Дальнейший генетический анализ был направлен на оценку клональной структуры изучаемых культур методом RAPD-ПЦР. В результате RAPD-ПЦР-генотипирования установлено, что изоляты VanA VRE имеют одинаковые или близкие паттерны типирования, т. е. могут быть отнесены к одной клональной линии (рис. 3).

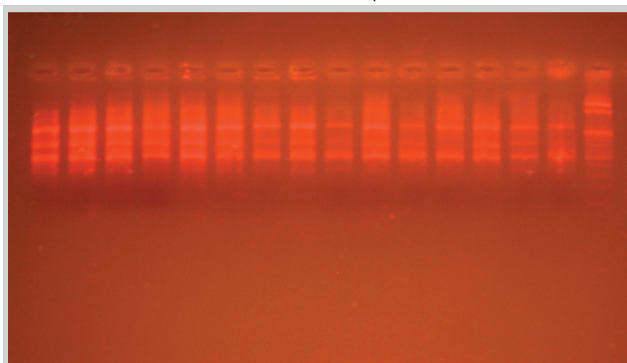


РИС. 3.
Электрофореграмма RAPD-ПЦР.

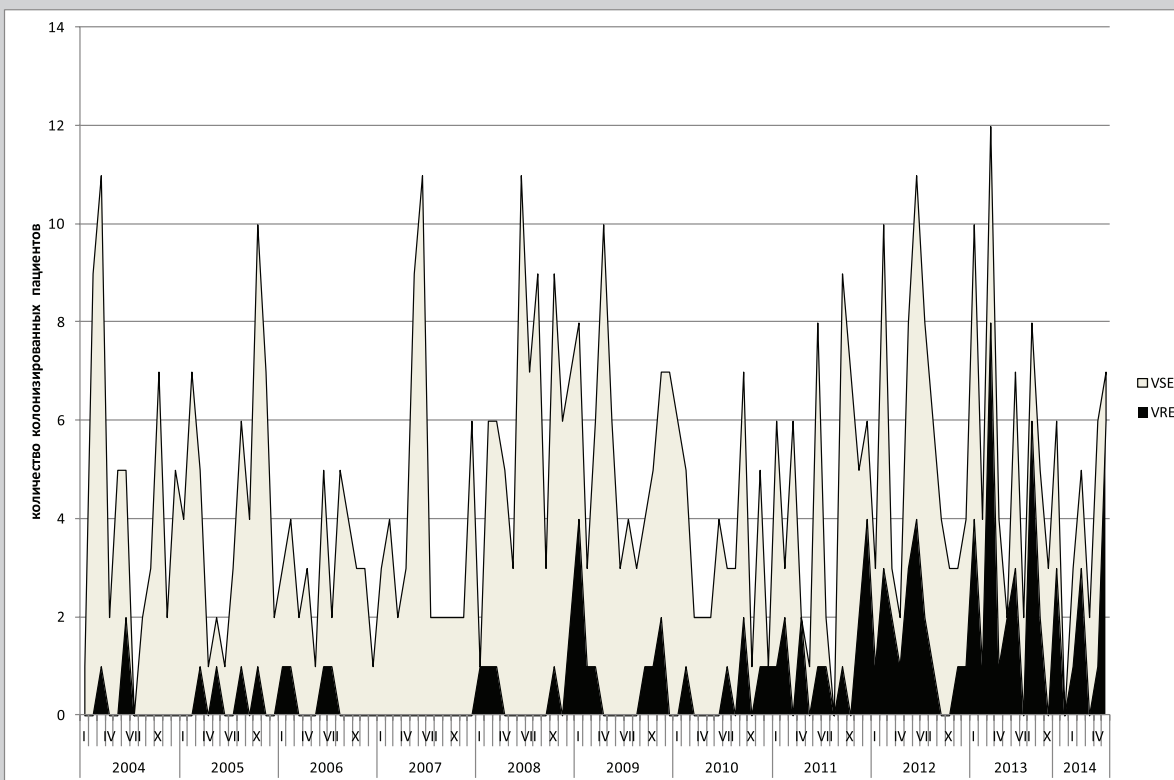


РИС. 1.
Помесячная динамика выделения VRE и VSE из клинического материала пациентов отделения реанимации новорожденных.

Таким образом, весь период наблюдения можно разделить на два:

1-й период – период спорадических случаев колонизации VRE с 2004 по 2011 год. Генетическое типирование штаммов VRE, выделенных в 2010 году, показало, что выделенные штаммы VRE принадлежали к 3 разным клонам.

2-й период – период эпидемического распространения VRE с января 2011 по июль 2014 года, когда происходило быстрое распространение одного и того же клона VRE.

В результате анализа удалось выявить значительные отличия в эпидемиологических особенностях между этими периодами.

За все время наблюдения медиана длительности госпитализации в отделении до колонизации VSE составила 12 дней, для VRE – 17 дней, средняя длительность пребывания для VSE – 17,35 дней, для VRE – 22,18 дней ($p = 0,021$). Однако если в первый период эти различия были значимыми, то во второй период не было разницы между длительностями от госпитализации до колонизации VRE и VSE (таблица 1, рис. 4).

ТАБЛИЦА 1.

Длительность госпитализации в отделении до колонизации VRE и VSE (дни)

	Медиана (min-max)		Средняя (95% ДИ)		p
	VSE	VRE	VSE	VRE	
1-й период	11 (0-106)	18,5 (0-72)	15,46 (13,75-17,16)	22,97 (16,41-29,53)	0,013
2-й период	15 (0-227)	16,5 (0-106)	21,42 (17,79-25,06)	21,8 (16,84-26,75)	0,91
Всего	12 (0-227)	17 (0-106)	17,35 (15,7-18,99)	22,18 (18,27-26,08)	0,021

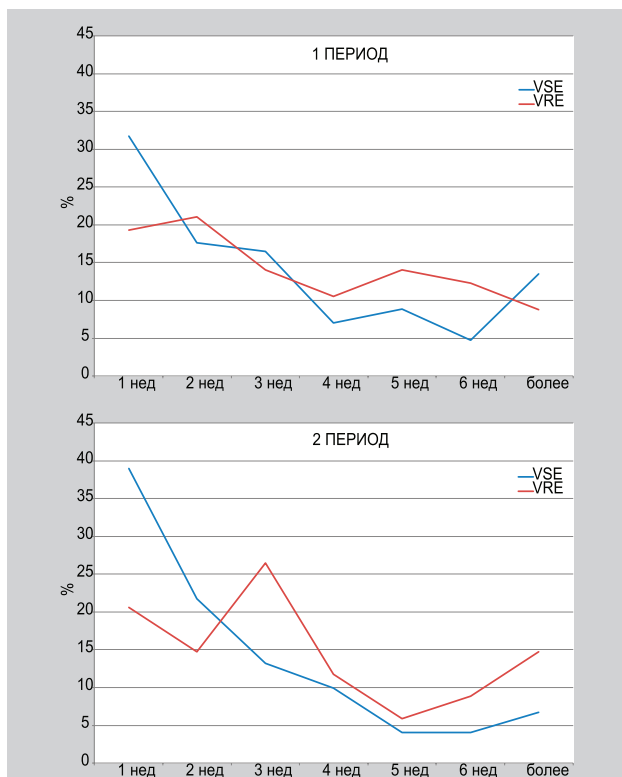


РИС. 4.

Удельный вес частоты колонизации VRE и VSE в зависимости от длительности госпитализации в ОРН.

В первый период максимальное количество положительных высевов VRE приходилось на 3 неделю госпитализации в ОРН, тогда как максимальное количество положительных высевов VSE – на первую неделю. Во второй период значительных различий по срокам колонизации VSE и VRE не наблюдалось.

При изучении вспышек, описанных в литературе, VRE был выделен от новорожденных не ранее, чем на 5-й день пребывания в реанимации в одной вспышке [1] и на 6–87-й день после поступления в реанимацию, в другой [2].

Фактором риска колонизации VRE в первый период явилось применение ванкомицина 7 дней и более ($OR = 2,72$ 95% ДИ 1,04–7,58, $p = 0,023$). В период эпидемического распространения VRE этот фактор уже не играл никакой роли (таблица 2).

ТАБЛИЦА 2.

Длительность применения ванкомицина (дни)

	Медиана (min-max)		Средняя (95% ДИ)		p
	VSE	VRE	VSE	VRE	
1-й период	7 (0-23)	8 (0-27)	6,6 (5,88-7,37)	9,0 (6,56-1,44)	0,05
2-й период	15 (0-227)	16,5 (0-106)	21,42 (17,79-25,06)	21,8 (16,84-26,75)	0,91
Всего	12 (0-227)	17 (0-106)	17,35 (15,7-18,99)	22,18 (18,27-26,08)	0,021

В одном из исследований было показано, что факторами риска для колонизации ванкомицинрезистентными энтерококками являются длительная госпитализация больных, массивная антибиотикотерапия как в стационарных, так и в амбулаторных условиях [11].

Масса тела при рождении не являлась фактором риска колонизации VRE как в первый ($p = 0,53$), так и во второй период ($p = 0,64$).

Заключение

Таким образом, если при спорадическом выявлении VRE большую роль играли длительность госпитализации и длительность применения ванкомицина, то в период эпидемического распространения эти факторы уже не были значимыми. Это может быть связано с переносом мобильных генетических элементов внутри рода *Enterococcus* sp. от VRE к VSE, что способствовало формированию и распространению одного клона VRE. В исследованиях было установлено, что может происходить распространение транспозонов Tn1546 определенной структуры также среди генетически неродственных штаммов энтерококков [12].

В настоящий период времени VRE имеют приоритетное распространение в отделении реанимации новорожденных. Это требует организации микробиологического мониторинга за распространением VRE в отделениях данного профиля и разработки эффективных мероприятий по сдерживанию роста ванкомицинрезистентности среди данных микроорганизмов.

ЛИТЕРАТУРА

- Lee H.K., Lee W.G., Cho S.R. Clinical and molecular biological analysis of a nosocomial outbreak of vancomycin-resistant enterococci in a neonatal intensive care unit. *Acta Paediatr.* 1999. № 6 (88). P. 651-654.
- Pusch T., Kemp D., Trevino S. et al. Controlling outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* among infants caused by an endemic strain in adult inpatients. *Am J Infect Control.* 2013. № 1 (41). P. 51-56.

3. Ghirardi B., Pietrasanta C., Ciuffini F. et al. Management of outbreaks of nosocomial pathogens in neonatal intensive care unit. *Pediatr Med Chir.* 2013. № 35 (6). P. 263-268.
4. Iosifidis E., Evdoridou I., Agakidou E. et al. Vancomycin-resistant *Enterococcus* outbreak in a neonatal intensive care unit: epidemiology, molecular analysis and risk factors. *Am J Infect Control.* 2013. № 41 (10). P. 857-861.
5. Werner G., Klare I., Fleige C. et al. Vancomycin-resistant vanB-type *Enterococcus faecium* isolates expressing varying levels of vancomycin resistance and being highly prevalent among neonatal patients in a single ICU. *Antimicrob Resist Infect Control.* 2012. May, № 30 (1). P. 21.
6. Se Y.B., Chun H.J., Yi H.J., Kim D.W., Ko Y., Oh S.J. Incidence and risk factors of infection caused by vancomycin-resistant *enterococcus* colonization in neurosurgical intensive care unit patients. *J Korean Neurosurg Soc.* 2009. № 46 (2). P. 123-129.
7. Borgmann S., Niklas D.M., Klare I. et al. Two episodes of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* outbreaks caused by two genetically different clones in a newborn intensive care unit. *Int J Hyg Environ Health.* 2004. № 207 (4). P. 386-389.
8. Rupp M.E., Marion N., Fey P.D. et al. Outbreak of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in a neonatal intensive care unit. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2001. May, № 22 (5). P. 301-303.
9. Dutka-Malen S., Evers S., Courvalin P. Detection of glycopeptide resistance genotypes and identification to the species level of clinically relevant enterococci by PCR. *J Clin Microbiol.* 1995. № 33 (5). 1434 p.
10. Martin B., Garriga M., Hugas M., Aymerich T. Genetic diversity and safety aspects of enterococci from slightly fermented sausages. *J Appl Microbiol.* 2005. № 98 (5). P. 1177-1190.
11. Bradley S.J., Wilson A.L.T., Allen M.C. et al. The control of hyperendemic glycopeptide-resistant *Enterococcus* spp. on hematology unit by changing antibiotic usage. *J. Antimicrob. Chemother.* 1999. № 43. P. 261-266.
12. Stampone L., Del G. M., Boccia D., Pantosti A. Clonal spread of a vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* strain among bloodstream-infecting isolates in Italy. *J. Clin. Microbiol.* 2005. № 43. P. 1575-1580.