

РАЗРАБОТКА И ПРОИЗВОДСТВО НАБОРОВ

для диагностики заболеваний человека методами:

Иммуноферментного анализа
Real-time ПЦР
Клинической биохимии



Точная диагностика-
эффективное лечение

ЗАО «Вектор-Бест»
630117, Новосибирск, а/я 492
т/ф: (383) 227-73-60, 332-81-34
e-mail: vbmarket@vector-best.ru
www.vector-best.ru

АНАЛИЗ МИКРОБНОГО ПЕЙЗАЖА В СОВРЕМЕННОМ СТАЦИОНАРЕ

С.В. Поликарпова¹, И.М. Чепурная², С.В. Жилина¹, Н.В. Пивкина¹, Л.З. Скала¹

¹ГКБ №15 им. О.М. Филатова, Москва

²Представительство ЭРБА Лахема в РФ, Москва

В статье обсуждается проблема внутрибольничных инфекций (этиология, эпидемиология, структура, заболеваемость), а также необходимость проведения мониторинга микробного пейзажа и выявления уровня антибиотикорезистентности с целью определения госпитальных штаммов, ведущей микрофлоры в зависимости от вида патологии и даже от конкретных диагнозов. Это ориентирует врачей на проведение адекватной антибиотикопрофилактики и рациональной терапии тяжелых больных до получения антибиотикограммы и на разработку алгоритмов рациональной терапии.

Ключевые слова: микробный пейзаж, антибиотикорезистентность, внутрибольничные инфекции, рациональное лечение.

ANALYSIS OF THE MICROFLORA IN THE MODERN HOSPITAL

S.V. Polikarpova¹, I.M. Chepurnaya², S.V. Zhilina¹, N.V. Pivkina¹, L.Z. Scala¹

¹O. M. Filatov Municipal Clinical Hospital №15, Moscow

²ERBA Lachema

The following article elucidates the problem of nosocomial infections (their aetiology, epidemiology, structure and morbidity). It also discusses the necessity of microbial monitoring implementation to expose the level of antibiotic resistance. It is done with the aim to reveal hospital strains and to identify leading microbial pathogens depending on the type of pathology and even on the particular diagnosis. These investigations are going to help doctors to hold adequate antibiotic prophylaxis and rational therapy for the serious cases before they get the results of individual microbiological analysis. The study is also going to help in developing algorithms of rational therapy.

Keywords: microflora, antibiotic resistance, nosocomial infections, rational therapy.

Микробный пейзаж каждого ЛПУ является результатом совокупности сложных процессов межвидовых взаимоотношений микро- и макроорганизмов, протекающих в особой среде стационара с учетом влияния множества агрессивных факторов внешней среды (физических и химических методов дезинфекции, антибиотиков). Бактерии, подвергаясь селективному давлению факторов внешней среды, приобретают новые свойства: устойчивость к внешним воздействиям, повышение вирулентности, резистентность к антибактериальным препаратам и т.д. Эти мутации закрепляются на генетическом уровне [7, 10, 11], и появляется экстраординарная способность микробов к адаптации. По этой же причине, вероятно, по-прежнему неразрешенной остается проблема внутрибольничных инфекций (ВБИ).

Согласно определению ВОЗ, «внутрибольничная (нозокомиальная, госпитальная) инфекция – это

«...любое клинически распознаваемое инфекционное заболевание, которое развивается у пациента в результате его обращения в больницу за лечебной помощью или пребывания в ней, а также любое инфекционное заболевание сотрудника больницы, развившееся вследствие его работы в данном учреждении, вне зависимости от времени появления симптомов (после или во время нахождения в больнице)» [13].

По данным доклада Главного государственного санитарного врача РФ «О санитарно-эпидемиологической обстановке в РФ в 2008 году», в России зарегистрировано 25456 случаев ВБИ или 0,8 на 1000 пациентов, хотя их предполагаемое число составляет 2-2,5 млн, а ежегодные экономические потери – более 5 млрд рублей [5]. Большинство всех ВБИ имеет бактериальное происхождение, а вирусные, грибковые возбудители и простейшие встречаются значительно реже [5, 6, 13]. Структура ВБИ зависит от профиля ста-

ционара, политики применения антибактериальных препаратов, контингента пациентов [5, 6, 7]. Существует мнение, что в условиях экологического дисбаланса, социального неблагополучия, изменившейся иммунологической сопротивляемости организма человека, нерационального использования имеющегося арсенала антибактериальных и антисептических средств происходит эволюция этиологической структуры возбудителей гнойно-воспалительных заболеваний, в том числе внутрибольничных [1, 5, 11]. Кроме того, все исследователи указывают на распространение и нарастание количества штаммов, устойчивых к одной или нескольким группам антибактериальных препаратов. Таким образом, мониторинг патогенов ВБИ и уровня их антибиотикорезистентности, а также наблюдение за динамикой различных форм ВБИ являются актуальными задачами. Базовым элементом эпидемиологического надзора в современных ЛПУ служит локальный микробиологический мониторинг [3, 6, 8].

Нами предпринята попытка выработать основные принципы и определить приоритетные направления локального микробиологического мониторинга ЛПУ с использованием Системы микробиологического мониторинга «Микроб-2».

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В 2000-2009 гг. исследовано 12 923 клинических образца биоматериала от 9180 пациентов из отделения гнойной хирургии. Исследовали кровь, пунктаты и биоптаты ран от больных с гнойно-воспалительными (ГВЗ) и гнойно-септическими заболеваниями (ГСЗ) различного генеза и локализации: трофические язвы, флегмоны, абсцессы, гангрены, остеомиелит, сепсис в стадии гнойных осложнений, осложнения термических травм и др. Сбор биоматериала осуществляли в одноразовые стерильные системы с транспортной средой «Amies», производства «COPAN innovation» (Италия) и доставляли его в микробиологическую лабораторию не позднее, чем через 2 часа с момента сбора.

Посев на питательные среды и все дальнейшие исследования по выделению и идентификации проводились с использованием общепринятых отечественных и зарубежных методик (Приказ Минздрава СССР № 535, 1985 г.; Manual of Clinical Microbiology, 7th ed., 1999). Для идентификации применяли коммерческие тест-системы «Микро-Ла-Тест» (ERBA Lachema, Чешская Республика), в том числе ЭНТЕРОтест 16, НЕФЕРМтест 24, СТРЕПТОтест 24, СТАФИтест 24, а также идентификационные полоски и диски [9]. Для учёта результатов использовали «Автоматизированное рабочее место микробиолога, эпидемиолога и химиотерапевта» на базе планшетного фотометра iEMS-Reader («Термофишер Сайентифик», Финляндия) [7, 8].

Определение чувствительности к антибактериальным препаратам, а также контроль качества проводили в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.1890-04 и с учётом международных стандартов Clinical and Laboratory Standards Institute – CLSI (ранее – NCCLS, США). При определении чувствительности использовали стандартизированные коммерческие диски. Ввод, статистическую обработку и анализ данных проводили с помощью Системы микробиологического мониторинга «Микроб-2» (СМММ-2), разработанной в 1995 г. коллективом российских авторов (Л.З. Скала и др.), которая позволяет осуществлять постоянный мониторинг микробного пейзажа и чувствительности выделенной микрофлоры как в стационаре в целом, так и в каждом структурном подразделении [7, 8, 9, 10]. Имеется большой опыт применения СМММ-2 в ЛПУ многих регионов РФ и стран СНГ. Бактериологическая лаборатория ГКБ №15 им. О.М. Филатова является клинической базой по ее разработке и модернизации. Дополнительно данные обрабатывали и анализировали с помощью программного пакета WHONET 5.2 (ВОЗ) и пакета программ Microsoft Office Excel 2007 для Windows 7. Поскольку данное исследование не носило сравнительного характера, для анализа его результатов использованы методы описательной статистики: частоты, проценты, частотные распределения и т. п.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Продолжительный анализ микробного пейзажа в ГКБ №15 им. О.М. Филатова позволил выявить наиболее актуальные направления локального микробиологического мониторинга. Это, в первую очередь, наблюдение за динамикой микробного пейзажа в отделениях с высоким риском формирования, циркуляции и эпидемического распространения штаммов, к которым относят отделения реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ), а также отделения гнойной хирургии многопрофильных ЛПУ.

Проведенный нами многолетний мониторинг гнойно-септических заболеваний (ГСЗ), в частности, в отделении гнойной хирургии, выявил приоритетные патогены при ГСЗ кожи и мягких тканей (см. таблицу).

Десятилетний анализ патогенов ГСЗ кожи и мягких тканей выявил ведущую роль грамположительных кокков, среди которых преимущественное значение в этиологии ГСЗ имеют *Staphylococcus spp.* и *Streptococcus spp.* Другие грамположительные кокки играют второстепенную роль. Более трети штаммов, изолированных при ГСЗ кожи и мягких тканей, представлены грамотрицательными палочками, среди которых ведущая роль принадлежит представителям семейства *Enterobacteriaceae* (преобладают бактерии родов *Proteus*, *Escherichia*, *Klebsiella* и *Enterobacter*). Среди

Родовой состав патогенов ГСЗ кожи и мягких тканей, выделенных в 2000-2009 гг.

Патоген	Количество штаммов	
	абс.	%
Грамположительные кокки	7159	60,3
В том числе:		
<i>Staphylococcus spp.</i>	5090	42,9
<i>Streptococcus spp.</i>	1588	13,4
<i>Enterococcus spp.</i>	451	3,8
Прочие	30	0,2
Грамотрицательные палочки	4391	37,0
Семейство <i>Enterobacteriaceae</i>	2758	23,2
В том числе:		
<i>Proteus spp.</i>	820	6,9
<i>Escherichia spp.</i>	751	6,3
<i>Klebsiella spp.</i>	607	5,1
<i>Enterobacter spp.</i>	351	3,0
<i>Morganella spp.</i>	74	0,6
<i>Citrobacter spp.</i>	75	0,6
<i>Serratia spp.</i>	47	0,4
Прочие	33	0,3
Неферментирующие грамотрицательные бактерии	1633	13,8
В том числе:		
<i>Pseudomonas spp.</i>	804	6,8
<i>Acinetobacter spp.</i>	762	6,4
Прочие	67	0,6
Прочие виды	317	2,7
Всего:	11867	100%

неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ) наиболее часто в ранах находили *Pseudomonas spp.* и *Acinetobacter spp.*

Анализ динамики ведущей микрофлоры в том же отделении показал достоверную тенденцию к уменьшению доли грамположительных кокков в структуре возбудителей ГСЗ кожи и мягких тканей (рис. 1).

Доля грамположительных кокков за 10 лет уменьшилась на 11,5% ($p=0,046$). Это снижение сопровождалось приростом грамотрицательных патогенов в структуре ГСЗ. Прирост доли штаммов грамотрицательных палочек за 10-летний период составил 9,4% ($p=0,0458$), особенно выражен прирост доли штаммов *Enterobacter cloacae* ($p=0,024$), за счет которого этот вид энтеробактерий вошел в десятку ведущих этиологических агентов ГСЗ кожи и мягких тканей (рис. 2).

Проблемы, связанные с увеличением доли грамотрицательных патогенов и ростом их резистентности, не

уменьшают значимости контроля над распространением резистентных грамположительных кокков, а также вопросов ограничения их резистентности. С удовлетворением можно отметить, что за период 2000-2009 гг. в отделении гнойной хирургии не выявлено нарастания доли оксациллинрезистентных штаммов *S. aureus* (MRSA). В 2009 г. их доля составила 15,4% (рис. 3).

Мониторинг резистентности грамотрицательных палочек проводится в отношении цефалоспоринов III-IV поколения, аминогликозидов, ингибиторзащищенных β -лактамов, карбапенемов, фторхинолонов. Выявлено распространение штаммов, устойчивых к некоторым классам антибактериальных препаратов (рис. 4). Например, среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* прослеживаются тенденция прироста доли штаммов, резистентных к ципрофлоксацину и практически полная перекрестная резистентность к хинолонам и фторхинолонам [4].

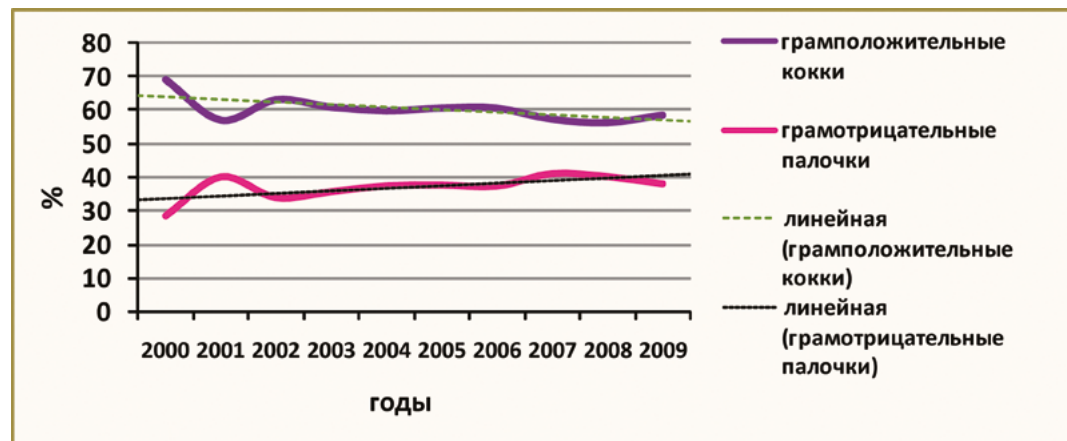


Рис. 1. Динамика грамположительных и грамотрицательных патогенов ГСЗ кожи и мягких тканей за 2000-2009 гг.

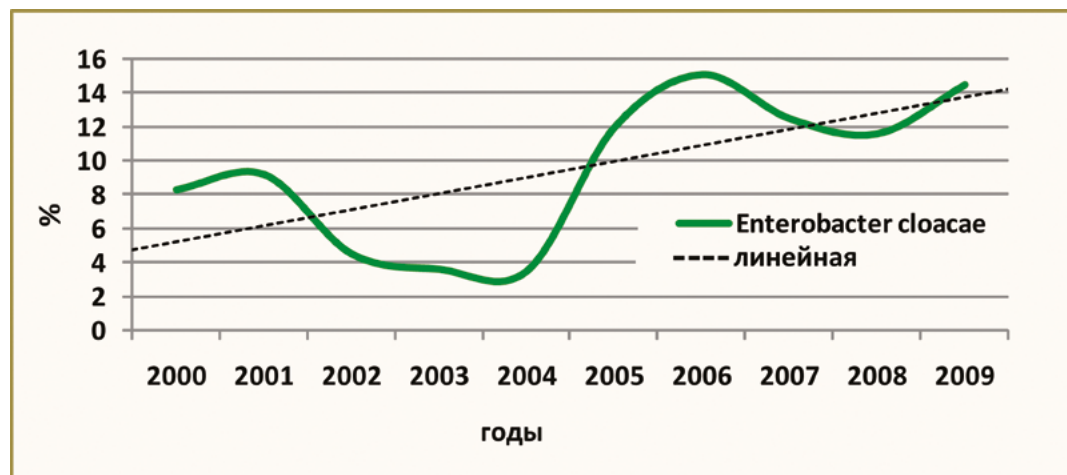
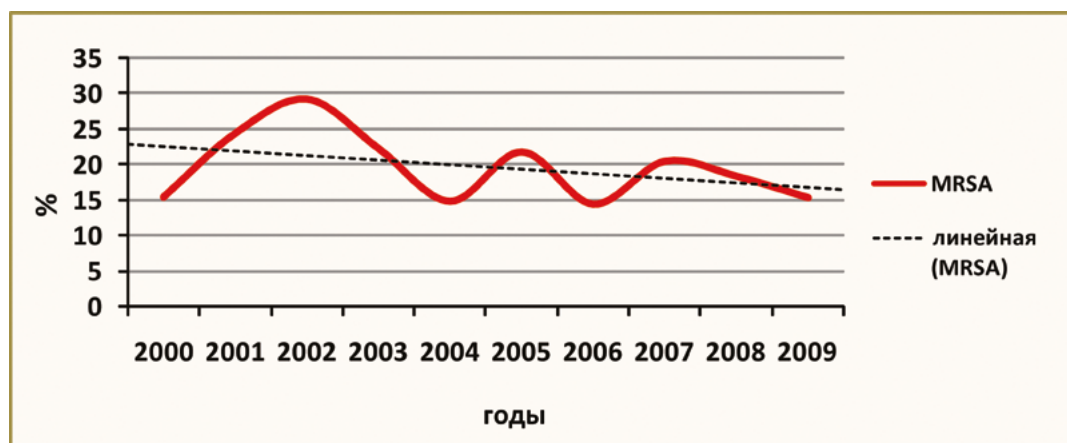
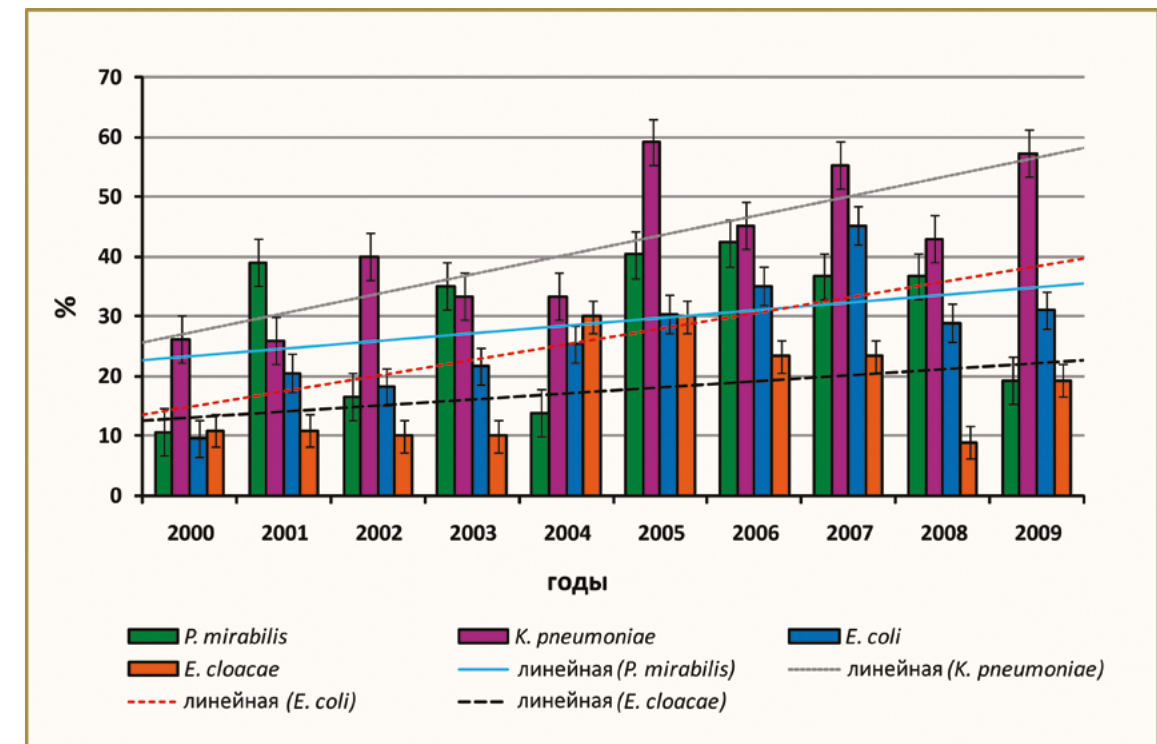
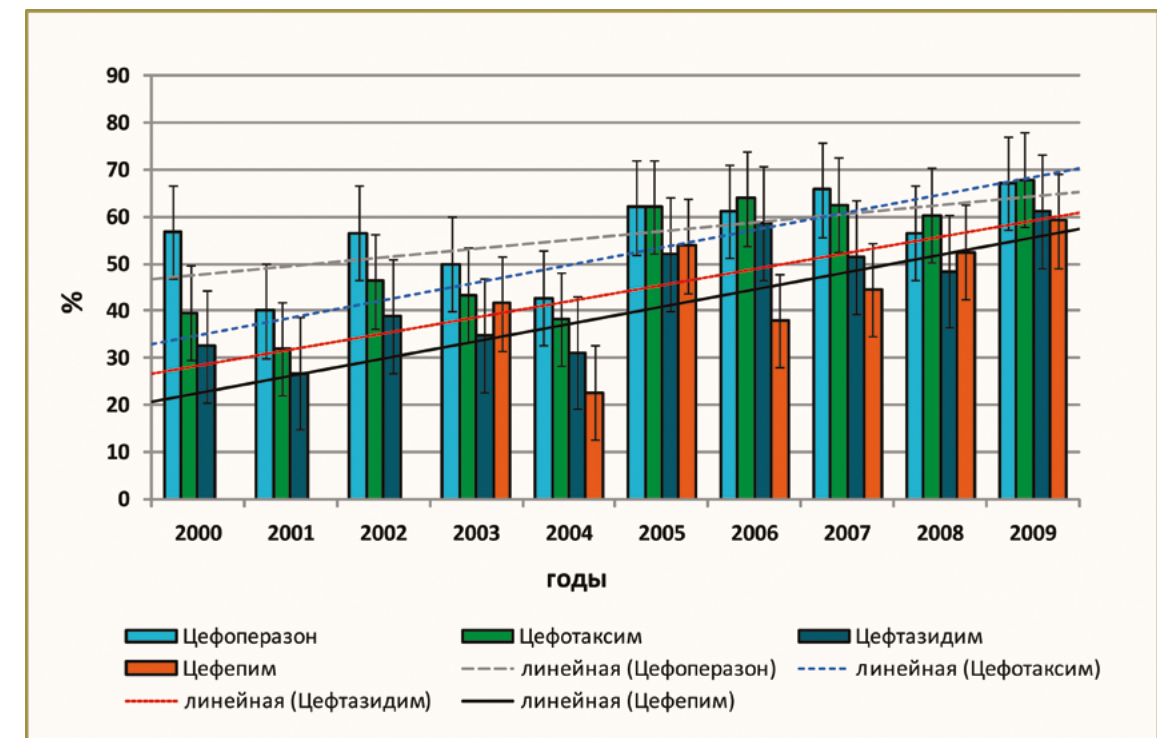
Рис. 2. Динамика высеваемости *Enterobacter cloacae* в 2000-2009 гг.Рис. 3. Динамика оксациллинрезистентных штаммов *S. aureus* в 2000-2009 гг.

Рис. 4. Динамика уровня нечувствительных к ципрофлоксацину приоритетных патогенов ГСЗ кожи и мягких тканей среди энтеробактерий

Одной из наиболее неблагоприятных тенденций, выявленных в результате микробиологического мониторинга, является распространение штаммов *Klebsiella pneumoniae* subsp. *pneumoniae*, являющихся

продуцентами бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) и резистентных к природным и полусинтетическим пенициллинам, цефалоспорином I-IV поколения (рис. 5).

Рис. 5. Динамика выделения нечувствительных к цефалоспорином *K. pneumoniae/pneumoniae*

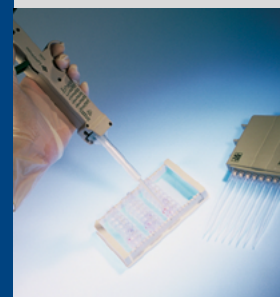
При проведении анализа эпидемиологической ситуации в стационарах по признаку полирезистентности могут быть выявлены госпитальные штаммы, представляющие наибольшую угрозу развития внутрибольничных инфекций. В частности, с учетом глобальных тенденций, острую проблему для инфекционного контроля представляют MRSA, ванкомицинрезистентные энтерококки, *Enterobacteriaceae* (продуцирующие БЛРС), полирезистентные *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* [1]. С помощью программного обеспечения можно также получить сведения о ведущей микрофлоре в зависимости от вида патологии и даже от конкретных диагнозов. Знания о ней и об уровне антибиотикочувствительности ориентируют врачей на назначение рациональной эмпирической антибиотикотерапии тяжелых больных до получения антибиотикограммы и являются базой для разработки алгоритмов рационального антибактериального лечения конкретных нозологических групп заболеваний для каждого стационара, что, в свою очередь, дает возможность предсказывать вспышки внутрибольничной заболеваемости в конкретном отделении в отношении того или иного возбудителя.

ЛИТЕРАТУРА

1. Брискин Б.С. Внутрибольничная инфекция и послеоперационные осложнения с позиций хирурга // Инфекции и антимикр. тер. 2000. №4. С.124-128.
2. Нехорошева А.Г., Скала Л.З., Поликарпова С.В. и др. Использование усовершенствованных коммерческих Микро-Ла-Тестов для идентификации микроорганизмов различных групп в клинической микробиологии // Клин. лаб. диагностика. 2000. №3. С.51-54.
3. Об улучшении медицинской помощи больным с гнойными хирургическими заболеваниями и усилении мероприятий по борьбе с внутрибольничной инфекцией // Приказ Минздрава СССР № 720 от 31.07.1978. (Прил. 2)

«Инструкции по бактериологическому контролю комплекса санитарно-гигиенических мероприятий в лечебно-профилактических учреждениях (отделения хирургии, палаты и отделения реанимации и интенсивной терапии)».

4. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания 4.2.1890-04. М.: Федеральный центр госсанэпиднадзора Минздрава России, 2004.
5. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. Смоленск: МАКМАХ, 2007. 464 с.
6. Руководство по инфекционному контролю в стационаре / пер. с англ. под ред. Р. Венцеля, Т. Бревера, Ж.-П. Бутцлера. Смоленск: МАКМАХ, 2003. 272 с.
7. Рычагов И.П. Теоретические и организационные основы управления эпидемическим процессом внутрибольничных инфекций в хирургии: Автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Кемерово, 2007.
8. Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность. СанПин 2.1.3.2630-10.
9. Скала Л.З., Нехорошева А.Г., Лукин И.Н. и др. Система регистрации и анализа в работе микробиологических лабораторий // Эпидемиол. и инфекц. болезни. 2000. №5. С.36-41.
10. Скала Л.З., Сидоренко С.В., Нехорошева А.Г. и др. Практические аспекты современной клинической микробиологии. Тверь: Триада, 2004. 312 с.
11. Фадеева Т.В. Микробиологические аспекты инфицирования, реинфицирования и суперинфицирования при висцеральных гнойных процессах (в условиях многопрофильной клиники): Автореф. дис. ... д-ра биол. наук. Иркутск, 2007.
12. MacKenzie F.M., Struelens M.J., Towner K.J., Gould I.M. Report of the consensus conference on antibiotic resistance; prevention and control (ARPAC) // Clin. Microbiol. Inf. 2005. V.11, No.11. P.938-954.
13. Prevention of hospital-acquired infections: a practical guide, 2nded. URL: http://www.who.int/gpsc/country_work/summary_20100430_en.pdf.



Стандарт в
идентификации бактерий

Erba
Lachema
BLUE POINT OF QUALITY

MIKRO-LA-TEST®

1. ИНДОКСИЛтест (полоски)
Быстрое обнаружения *Moraxella catarrhalis*,
Camrylobacter sp. по их ацетатэстеразной активности.

2. ИНДОЛтест (полоски)
Быстрое определение образования индола в результате
утилизации триптофана бактериями,
обладающими триптофаназной активностью, в частности, *E.coli*.
Разделение индолположительных и индолотрицательных штаммов.
Необходимый тест для идентификации некоторых организмов.

3. ОФ-тест
Быстрое определение ферментативного
и окислительного метаболизма глюкозы
на модифицированной среде Хью-Лейфсона.
Тест предлагается в стриппированных микропланшетах.
Каждый планшет позволяет провести 96 определений.

ЗАО "Лакхем Интернэшнл"

109029, г. Москва, ул. Нижегородская, д. 32 корп. 15, офис 503
Тел./факс: (495) 755-78-51, 755-78-81, 755-78-92, 755-55-80
<http://www.lachema.ru>; E-mail: lachema@mail.ru
(Самовывоз)

142290 г. Пущино МО, пр. Науки, д. 5
Тел./факс: (4967) 33-05-30, 33-05-24
E-mail: lachema@online.stack.net
(Отправка в любой регион России)