

УДК 616.98:579.861.2-036.22(571.17)

ЭПИДЕМИОЛОГИЧЕСКИЕ ОСОБЕННОСТИ ИНФЕКЦИЙ, ВЫЗВАННЫХ МЕТИЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНЫМИ STAPHYLOCOCCUS AUREUS В КЕМЕРОВСКОЙ ОБЛАСТИ

Т.В. Ефимова¹, Л.С. Глазовская¹, Е.Б. Брусина¹, А.Е. Гончаров²,

¹ГОУ ВПО «Кемеровская государственная медицинская академия»,

²Санкт-Петербургская государственная медицинская академия им. И.И. Мечникова

Ефимова Татьяна Владиславовна – e-mail: baklab_kokb@mail.ru

Изучена распространенность MRSA в популяции здоровых лиц, частота инфекций, вызванных MRSA у пациентов амбулаторно-поликлинических учреждений и стационаров Кемеровской области. Определены генетические характеристики штаммов MRSA, циркулирующих в стационарах Кемеровской области.

Ключевые слова: MRSA, циркуляция, инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи.

Prevalence of MRSA in healthy population, incidence of MRSA infections in outpatients and inpatients of the Kemerovo region is studied. Genetic characteristics of MRSA isolates, circulating in hospitals of the Kemerovo region, are defined.

Key words: MRSA, circulation, healthcare-associated infections.

Актуальность

До настоящего времени золотистый стафилококк остается одним из ведущих эпидемически значимых возбудителей инфекционных процессов различной локализации. Особую озабоченность во всем мире вызывает распространение золотистого стафилококка, устойчивого к метициллину (MRSA) не только в стационарах, но и во внебольничной среде. В большинстве случаев устойчивость к метициллину сопряжена с полирезистентностью ко многим антибактериальным препаратам, что значительно увеличивает экономические затраты на лечение инфекций [1, 2]. По данным зарубежных исследований [3] при частоте носительства золотистого стафилококка 25–30% менее 2% населения являются носителями MRSA. Вместе с тем, частота внебольничных инфекций мягких тканей, вызванных MRSA, достигает 84% [4]. Результаты многоцентровых исследований в нашей стране показали, что частота внутрибольничных инфекций, вызванных MRSA, значительно варьирует в разных стационарах и составляет в среднем 33,6% [1]. Несмотря на большое количество публикаций, посвященных этой проблеме, эпидемический процесс при инфекциях, вызванных MRSA, остается недостаточно изученным.

Цель исследования – изучение особенностей циркуляции метициллинрезистентных золотистых стафилококков на территории Кемеровской области.

Материалы и методы

Материалами для микробиологического исследования служили раневое отделяемое и тканевые биоптаты, мазки со слизистой оболочки полости носа. За период наблюдения выделено 109 213 штаммов золотистого стафилококка. Идентификация стафилококков проводилась в соответствии с приказом МЗ СССР № 535 от 22.04.85 г. «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследований, применяемых в клинико-диагностических лабораториях ЛПУ». Оценивались морфологические и фенотипические характеристики: морфология колоний на кровяном агаре, наличие способности к плазмокоагуляции и лецитиназной активности. Биохимическая идентификация проводилась с помощью тест-систем Стафитест-16 (Лахема, Чехия) на анализаторе Multiscan-Ascent (Labcistems, Финляндия).

Определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводилось диско-диффузионным методом на Мюллера-Хинтон агаре (НИЦФ, г. Санкт-Петербург) с использованием дисков ФГУН НИИЭМ им. Пастера Роспотребнадзора в соответствии с методическими указаниями МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». Инокулированные чашки инкубировались при $t=35\pm 2^\circ$ в течение 24 часов. Для интерпретации результатов руководствовались критериями МУК 4.2.1890-04. Всего было исследовано 26 331 штамм MRSA.

Выявление и количественное определение ДНК метициллинрезистентного *Staphylococcus aureus* в клиническом материале проводилось методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс - MRSA (производитель ООО «ИнтерЛабСервис» ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, г. Москва) на приборе RotorGene 6000 (Corbett Research).

ПЦР для идентификации энтеротоксинов А, В, С (sea, seb, sec) и белка токсического шока (tst) проводили по методике

Mehrotra M. et al. [5], идентификацию гена токсина Пантона Валлентайна – по методике Lina G. et al. [6].

Определение структурного гена mec A, детерминирующего пенициллинсвязывающие белки (ПСБ), проводилось методом секвенирования на автоматическом секвенаторе AbiPrism 3100 (Applied Biosystems, USA).

Различия между группами оценивались по критерию хи-квадрат при уровне значимости $p=0,05$. Для исключения влияния эффекта множественных сравнений применялась поправка Бонферрони.

Результаты и их обсуждение

В Кемеровской области на протяжении 6 лет (2005-2010 г.г.) осуществляется мониторинг за циркуляцией MRSA. Доля MRSA составила $24,11\pm 0,63\%$ от общего количества штаммов золотистого стафилококка. Отмечена неоднородность распространения штаммов по отдельным территориям области от $6,96\pm 1,11$ до $66,59\pm 2,77\%$.

При оценке циркуляции MRSA в закрытых коллективах частота выделения возбудителя составила $9,91\pm 2,97$ на 1000. Наиболее интенсивная циркуляция MRSA выявлена в психиатрическом стационаре – $16,12\pm 9,24$ на 1000 госпитализированных. Не выявлено случаев носительства MRSA у детей домов ребенка.

Распространенность метициллинрезистентных золотистых стафилококков в популяции у здоровых субъектов составила 13,89 на 1000, тогда как у пациентов стационаров Кемеровской области частота выделения данного возбудителя была 298,99 на 1000 ($\chi^2=0,168$; $p<0,0001$). Установлены значительные различия в распространенности метициллинрезистентных золотистых стафилококков у пациентов, госпитализированных в стационары различного профиля. В офтальмологическом стационаре частота выделения MRSA составила 40,82 на 1000, в онкологическом стационаре – 276,6 на 1000 ($\chi^2=8,406$; $p=0,0037$). Практически в 3 раза чаще, чем в онкологическом стационаре метициллинрезистентные золотистые стафилококки выделялись у пациентов хирургических стационаров – 793,10 на 1000 ($\chi^2=17,175$; $p<0,0001$).

Выявлена более низкая по сравнению с хирургическими отделениями распространенность эпидемически значимого возбудителя у пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии – 275,39 и 793,10 на 1000 соответственно ($\chi^2=34,390$; $p<0,0001$). Частота выделения метициллинрезистентных золотистых стафилококков в акушерских стационарах Кемеровской области составила 106,67 на 1000 ($\chi^2=63,229$; $p<0,0001$).

Пациенты с инфекциями, вызванными MRSA, поступали в стационары с частотой $155,69\pm 14,03$ на 1000 госпитализированных, что характеризует циркуляцию эпидемически значимых возбудителей и риск инфицирования пациентов как в условиях лечебно-профилактических учреждений, так и во внебольничной среде. По результатам исследования циркуляции метициллинрезистентных золотистых стафилококков установлено, что доля внутрибольничных MRSA составила $61,64\pm 1,37\%$ от общего количества выделенных штаммов. Удельный вес хирургических больных в структуре инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), вызванных MRSA, составил $28,33\pm 1,62\%$.

Третья часть инфекций, вызванных MRSA (38,36%), была выявлена у пациентов в амбулаторно-поликлинических учреждениях (таблица).

ТАБЛИЦА.
Заболеемость инфекциями, вызванными MRSA пациентов амбулаторно-поликлинических учреждений в Кемеровской области (2010 г.)

Группы пациентов	Обследовано всего (абс.)	Выделено культур MRSA	Частота инфекций, вызванных MRSA на 1000 пациентов
Пациенты с патологией ЛОР-органов	9491	209	22,02±1,51
Пациенты с заболеваниями органов дыхания	9870	257	26,04±1,6
Пациенты с инфекциями глаз	3365	74	21,99±2,53
Пациенты с инфекциями кожи и мягких тканей	9166	285	31,09±1,81
Всего:	31892	825	25,87±0,89

Максимальная распространенность MRSA установлена у пациентов с инфекциями кожи и мягких тканей (фурункулез, гидраденит, панариций) – 31,08±1,72 на 1000. Частота заболеваний органов дыхания, вызванных MRSA, составила 26,02±1,26 на 1000. У пациентов с патологией ЛОР-органов MRSA был этиологическим фактором с частотой 22,02±1,51 на 1000, несколько реже в 21,99±2,53 случаях на 1000 у пациентов с инфекциями глаз ($\chi^2=17,524$ $p=0,0006$).

На протяжении 10 лет проводится эпидемиологический надзор за ИСМП в стационаре сосудистой хирургии и стационаре абдоминальной хирургии Кемеровской областной клинической больницы.

Эпидемический процесс внутрибольничных инфекций в изучаемых стационарах имел неравномерную динамику. Среднегодовалые показатели заболеваемости ИСМП составили 39,16±2,1 на 1000 оперативных вмешательств в стационаре сосудистой хирургии и 28,76±1,47 на 1000 в стационаре абдоминальной хирургии ($\chi^2=754,211$; $p<0,0001$). За период наблюдения в стационаре сосудистой хирургии частота ИСМП варьировала от 19,56±4,7 до 54,52±8,60 на 1000 ($\chi^2=14,718$; $p=0,0001$). В стационаре абдоминальной хирургии минимальный показатель заболеваемости ИСМП составил 13,08±3,15, максимальный уровень заболеваемости - 43,82±6,46 на 1000 операций ($\chi^2=19,603$; $p<0,0001$).

Известно, что вероятность развития внутрибольничных инфекций зависит от типа хирургической операции по степени контаминации раны, от сложности, инвазивности оперативного вмешательства, а также наличия у пациентов иммуносупрессии. Значимым фактором риска присоединения внутрибольничных инфекций является длительность госпитализации. У инфицированных MRSA в стационаре сосудистой хирургии за период наблюдения длительность госпитализации составляла от 10 до 148 дней, в стационаре абдоминальной хирургии – от 9 до 91 дня. В среднем длительность госпитализации до присоединения ИСМП, вызванной MRSA составила 28,5 дней. Основным внутренним фактором риска у пациентов стационара сосудистой хирургии является наличие в анамнезе заболевания сахарным диабетом.

В течение наблюдаемого периода (2004–2010 гг.) доля *S. aureus* в структуре возбудителей внутрибольничных инфекции в стационаре сосудистой хирургии варьировала от 12,11±2,18 до 32,59±2,85%, в стационаре абдоминальной хирургии – от 9,16±1,82 до 16,98±2,31%. При этом доля MRSA колеблется в широких пределах – от 10,26±4,86 до 66,67±9,02% от общего числа инфекций, вызванных *S. aureus* в стационаре сосудистой хирургии, от 11,43±5,38 до 87,5±11,65% в отделении абдоминальной хирургии. С 2007

года наблюдается значительное снижение доли как *S. aureus*, так и MRSA в структуре возбудителей ИСМП в стационаре абдоминальной хирургии.

С целью идентификации штаммов и определения генетических характеристик штаммов MRSA, циркулирующих в стационарах Кемеровской области проведено тестирование 38 изолятов метициллинрезистентных штаммов *S. aureus*, выделенных из раневого отделяемого пациентов хирургических стационаров методом ПЦР. Все изоляты несли ген *mecA* и были идентифицированы как MRSA.

Гены, кодирующие синтез факторов патогенности, обнаружены в 95,52% культур. Из общего количества исследованных штаммов 49,25% изолятов несли ген *sea*, кодирующий выработку энтеротоксина А. Ген *sec*, определяющий выработку энтеротоксина С, выявлен в 85,07% изолятов, ген *tst*, кодирующий выработку белка токсического шока определен в 13,43% культур. Не обнаружены изоляты, несущие ген *rvi*, детерминирующий синтез лейкоцидина Пантона-Валлентайна и ген *seb*, детерминирующий выработку энтеротоксина В. В числе штаммов, выделенных у пациентов отделения сосудистой хирургии, 38,81% изолятов несли гены патогенности *sea* и *sec*, в 78% изолятов MRSA, несущих ген *tst* дополнительно присутствовал ген *sec*. Штаммы *S. aureus*, выделенные в хирургических стационарах, обладают существенным патогенным потенциалом за счет генов, детерминирующих синтез факторов патогенности, обладающих иммуносупрессивными свойствами. Набор выявленных генов факторов патогенности является типичным для госпитальных популяций MRSA.

Заключение

Таким образом, циркуляция эпидемически значимых метициллинрезистентных золотистых стафилококков в популяции у лиц без патологических процессов, у пациентов амбулаторно-поликлинических учреждений и стационаров носит неравномерный характер. Установлена низкая распространенность метициллинрезистентных золотистых стафилококков в популяции у здоровых лиц, интенсивная циркуляция штаммов MRSA в условиях лечебно-профилактических учреждений различного профиля. Источниками MRSA в лечебно-профилактических учреждениях амбулаторного профиля преимущественно являются пациенты с гнойными инфекциями кожи и мягких тканей, дыхательных путей, ЛОР-органов и глаз. Максимальная циркуляция MRSA выявлена в стационарах хирургического профиля. Установлена классическая по механизму формирования (истинная, «mecA-обусловленная») резистентность штаммов к метициллину.


ЛИТЕРАТУРА

1. Дехнич А.В., Никулин А.А., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И., Сухорукова М.И., Козлов П.С. и др. Эпидемиология резистентности штаммов *S. aureus*, выделенных от пациентов в ОПТИ российских стационаров: результаты многоцентрового исследования. Клиническая микробиология антимикробная химиотерапия. 2008. Т. 10. № 4. С. 333–342.
2. Сабитова Е.В., Гординская Н.А., Абрамова Н.В., Некаева Е.С. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Staphylococcus spp.*, выделенных в ожоговом центре в 2002–2008 гг. Клиническая микробиология антимикробная химиотерапия. 2010. Т. 120. № 4. С. 77–81.
3. Gorwitz R.J. et al. Journal of Infectious Diseases. 2008. № 197. P. 1226–34.
4. James Alesana-Slater R.J. et al. EID Journal Home Volume 17, Number 6–June 2011.
5. Mehrotra M., Wang G., and Johnson W.M. et al. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1, and methicillin resistance. J. Clin Microbiol. 2000. V. 8. № 3. P. 1032–1035.
6. Lina G., Piamont Y. et al. Involvement of Pantone-Valentine leukocidin production *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. Clin Infect Dis. 1999. № 29. P. 1128–1132.