



Особенности резистентности к антибиотикам штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных при внутрибольничных инфекциях

Садраддин Абдулла оглы Атакишизаде*

Азербайджанский медицинский университет,
г. Баку, Азербайджан

Реферат

Цель. Изучение особенностей устойчивости к антибиотикам штаммов *S. aureus*, выделенных при внутрибольничных инфекциях (пневмонии, инфекции области хирургического вмешательства и сепсисе) в многопрофильной хирургической клинике.

Методы. Было проведено микробиологическое исследование мокроты 41 пациента с симптомами пневмонии, материалов (содержимого раны, дренажа и абсцесса), полученных от 40 больных с инфекциями области хирургического вмешательства, крови 46 пациентов с признаками сепсиса. Полученные культуры были идентифицированы общепринятыми методами (включая морфологические, культуральные, биохимические и т.д.). Чувствительность к метициллину определяли методом диск-диффузии, выявляя штаммы *S. aureus*, устойчивые к метициллину. Индуцибельную резистентность к клиндамицину у штаммов *S. aureus* определяли фенотипическим тестом (D-тестом).

Результаты. Среди штаммов *S. aureus* метициллин-резистентные обнаружены в 14,3% случаев (в 2 из 14) при инфекциях области хирургического вмешательства, в 27,3% (в 3 из 11) образцов мокроты пациентов с признаками пневмонии и в 50,0% случаев (в 7 из 14) при исследовании крови пациентов с сепсисом. Частота индуцибельной резистентности к клиндамицину у выделенных штаммов *S. aureus* при инфекциях области хирургического вмешательства (2 из 14 случаев, 14,3%) и пневмонии (2 из 11 случаев, 18,2%) мало отличалась от частоты устойчивости к метициллину ($p > 0,05$), а при септических инфекциях была ниже — 7,1% против 50,0% ($p = 0,0328$).

Вывод. Среди штаммов *S. aureus*, выделенных при внутрибольничных инфекциях, частота метициллин-резистентных штаммов не зависит от клинической формы госпитальной инфекции; а частота индуцибельной резистентности к клиндамицину при септических инфекциях ниже, чем устойчивости к метициллину.

Ключевые слова: внутрибольничные инфекции, *Staphylococcus aureus*, метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus* (MRSA), индуцибельная резистентность к клиндамицину (ICR).

Для цитирования: Атакишизаде С.А. Особенности резистентности к антибиотикам штаммов *Staphylococcus aureus*, выделенных при внутрибольничных инфекциях. *Казанский мед. ж.* 2020; 101 (3): 325–329. DOI: 10.17816/KMJ2020-325.

Peculiarities of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* strains isolated from nosocomial infections

S.A. Atakishizade
Azerbaijan Medical University, Baku, Azerbaijan

Abstract

Aim. To study of the antibiotic resistance of *S. aureus* strains isolated from nosocomial infections (pneumonia, surgical site infections and sepsis) in a multidisciplinary surgical clinic.

Methods. Microbiological testing of sputum in 41 patients with pneumonia, of samples (wound, abscess, drainage) obtained from 40 patients with surgical site infections (SSI) and of blood from 46 patients with signs of sepsis was performed. The obtaining cultures were identified by conventional methods (including morphological, cultural, biochemical features, etc.). Disc diffusion method was used to detect methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA) strains. Inducible clindamycin resistance (ICR) of *S. aureus* strains was determined by double disk approximation test (D-test).

Results. Methicillin-resistant *S. aureus* was found in 14.3% (2 of 14) of the patients with surgical site infections, in the sputum 27.3% (3 of 11) of the patients with pneumonia, and in the blood 50.0% (7 of 14) of the patients with sepsis ($p > 0.05$). The rate of inducible clindamycin resistance of isolated *S. aureus* strains in patients with surgical site infections (2 of 14 cases, 14.3%) and with pneumonia (2 of 11 cases, 18.2%) did not statistically significant difference with the rate of methicillin resistance ($p > 0.05$). However the rate was significantly lower septic infections — 7.1% and 50.0% respectively ($p = 0.0328$).

Conclusion. Among *S. aureus* strains isolated from nosocomial infections, the rate of methicillin-resistant *S. aureus* had not depended on the type of nosocomial infection; the rate of inducible clindamycin resistance in septic infections was lower than resistance to methicillin.

Keywords: nosocomial infections, *Staphylococcus aureus*, methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA), inducible clindamycin resistance (ICR).

For citation: Atakishizade S.A. Peculiarities of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* strains isolated from nosocomial infections. *Kazan medical journal*. 2020; 101 (3): 325–329. DOI: 10.17816/KMJ2020-325.

Актуальность. *Staphylococcus aureus*, будучи наиболее широко распространённым среди всех известных видов стафилококков, играет важную роль в развитии различных патологических состояний человека. Проникая практически во все органы и системы организма, *S. aureus* преимущественно вызывает гнойно-воспалительные процессы. Обитая на коже и слизистых оболочках, эти бактерии способны вызывать не только местные, но также и системные инфекции (например, сепсис). Это связано с наличием у *S. aureus* многочисленных факторов патогенности — клеточных компонентов, вызывающих воспалительную реакцию, токсинов, повреждающих ткани, и агрессивных ферментов, способствующих распространению возбудителя и ограждающих его от действия факторов защиты организма. В последнее время возросла роль этой бактерии в развитии внутрибольничных инфекций (ВБИ) [1–3].

По чувствительности к метициллину *S. aureus* подразделяют на две группы: чувствительные к метициллину (MSSA — от англ. methicillin-sensitive *Staphylococcus aureus*) и устойчивые к метициллину (MRSA — от англ. methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*) штаммы. В основном ВБИ вызывают бактерии последней группы. Известно, что устойчивость к метициллину связана с изменениями в структуре пенициллин-связывающего белка (фермента транспептидазы) в штаммах *S. aureus*. Так, в отличие от природных штаммов, в штаммах MRSA вместо пенициллин-связывающего белка (PBP1) происходит синтез PBP2, который имеет слабое сродство к пенициллинам. Синтез PBP2 кодируется геном *MecA* [4, 5].

Резистентность стафилококков к макролидам и линкозамидам также имеет клиническое значение. Устойчивость стафилококков к макролидам, линкозамидам и стрептограмину В (MLSB-резистентность) может быть конститу-

тивной и индуцибельной. Эритромицин — антибиотик из группы макролидов, а клиндамицин — из группы линкозамидов. Антибиотики, присоединяясь к 50s-субъединице рибосом в бактериальной клетке, нарушают синтез белка, таким образом оказывая противомикробное действие.

Область рибосомы (рибосомная рибонуклеиновая кислота), которая связывается с антибиотиком, метилируется, и из-за неспособности антибиотика взаимодействовать с этой областью он остаётся неактивным. При конститутивной резистентности вследствие наличия постоянной метилированной области рибосомы возникает устойчивость к клиндамицину и эритромицину. Эта устойчивость обеспечивается геном *erm* в бактериальном геноме. Если MLSB-резистентность вызвана индуцирующим фактором (эритромицин является эффективным фактором индукции устойчивости типа MLSB), то развивается индуцибельная резистентность. Несмотря на наличие устойчивости изолятов к эритромицину, в тестах *in vitro* они проявляют чувствительность к клиндамицину. Однако при стафилококковых инфекциях, особенно вызванных MRSA, лечение клиндамицином оказывается безуспешным, хотя *in vitro* эти штаммы проявляют чувствительность к клиндамицину. Причина отсутствия эффекта от лечения связана с наличием у стафилококка индуцибельной резистентности к клиндамицину (ICR — от англ. inducible clindamycin resistance) [6, 7].

Цель. Изучение особенностей резистентности к антибиотикам у штаммов *S. aureus*, выделенных при ВБИ [пневмонии, инфекции области хирургического вмешательства (ИОХВ) и сепсисе] у больных, находившихся в учебно-хирургической клинике Азербайджанского медицинского университета в 2014–2018 гг.

Материал и методы исследования. Было проведено микробиологическое исследование

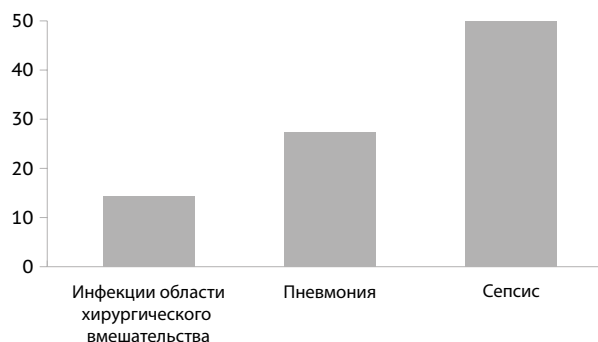


Рис. 1. Частота штаммов, устойчивых к метициллину, среди всех штаммов *S. aureus* при различных клинических формах внутрибольничных инфекций (по оси ординат указано количество штаммов в процентах), $p > 0,05$

мокроты, взятой у 41 больного с симптомами пневмонии. Для исследования использовали утреннюю мокроту. У 40 пациентов с ИОХВ, возникшей после хирургического вмешательства, было проведено микробиологическое исследование полученных материалов (содержимого раны, дренажа и абсцесса). Содержимое дренажа получали после обработки дренажной трубки антисептическим раствором, а содержимое абсцесса — путём пункции стерильным шприцем. Образцы инкубировали в течение 2 дней после посева на различных питательных средах — агаре Мюллера–Хинтона, кровяном агаре, среде Эндо или ЕМВ-агаре, среде Сабуро. Полученные культуры были идентифицированы с использованием общепринятых методов (с учётом морфологических, культуральных, биохимических и других свойств).

Было проведено микробиологическое исследование крови 46 пациентов с симптомами сепсиса. Для исследования кровь немедленно добавляли в жидкую питательную среду (мясной пептонный бульон), берут в объёме, 10-кратно превышающем объём исследуемой крови, и инкубировали в течение максимум 10 дней при 37 °С. Образцы проверяли ежедневно. При появлении мутности бульона пересеивали его на вышеуказанные питательные среды, инкубировали в течение 2 дней, после чего полученные культуры идентифицировали общепринятыми методами.

При определении штаммов MRSA использовали стандартный метод диск-диффузии на агаре с определением чувствительности *S. aureus* к метициллину. Штаммы *S. aureus*, устойчивые к метициллину, оценивали как MRSA [5]. ICR у штаммов *S. aureus* определяли фенотипическим тестом (D-тестом) с использованием двух дисков [7]. Для этого на поверхность агара Мюллера–Хинтона с инокулированным ис-



Рис. 2. Спектр штаммов, устойчивых к метициллину, выделенных при различных клинических формах внутрибольничных инфекций

следуемым штаммом *S. aureus* были помещены 2-микрограммовый диск с клиндамицином и на расстоянии 15 мм от него 15-микрограммовый диск с эритромицином. Результат оценивали после 1-дневной инкубации в термостате при 37 °С. При наличии ICR у штаммов *S. aureus* стерильная зона вокруг диска с клиндамицином на стороне диска с эритромицином ограничивается, и появляется стерильная зона в форме буквы D.

Статистическую значимость различий между долями определяли по точному методу Фишера [8] с помощью on-line калькулятора (<https://www.socscistatistics.com/tests/fisher/default2.aspx>).

Результаты. Частота *S. aureus* при различных клинических формах ВБИ существенно не варьировала. *S. aureus* был одним из основных этиологических факторов пневмонии, ИОХВ и сепсиса. Так, у 14 (35%) из 40 пациентов с ИОХВ, у 14 (30,4%) из 46 пациентов с признаками сепсиса и у 11 (26,8%) из 41 пациента с пневмонией обнаружили *S. aureus*.

В зависимости от источника выделенные штаммы *S. aureus* также существенно не различались по частоте устойчивости к метициллину. При ИОХВ штамм MRSA был обнаружен относительно редко: только 2 (14,3%) из полученных 14 штаммов *S. aureus* были дифференцированы как MRSA. Среди штаммов *S. aureus*, выделенных из мокроты пациентов с симптомами пневмонии, MRSA также выявляли относительно редко: только 3 (27,3%) из 11 штаммов. MRSA чаще встречался среди штаммов *S. aureus*, выделенных из крови пациентов с симптомами сепсиса: 7 (50%) из 14 штаммов (рис. 1).

Таким образом, всего 12 штаммов MRSA было получено при пневмонии, ИОХВ и сепсисе. Спектр штаммов MRSA, выделенных при отдельных клинических формах ВБИ, показан на рис. 2.

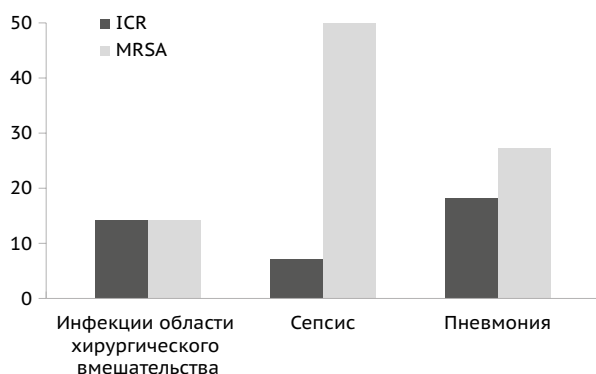


Рис. 3. Особенности индуцибельной резистентности к клиндамицину (ICR) у штаммов *Staphylococcus aureus* (по оси ординат указана доля штаммов в процентах); MRSA — метициллин-резистентный *Staphylococcus aureus*

Резюмируя вышеприведённые результаты, можно отметить, что штаммы *S. aureus* в зависимости от источника получения существенно не различались по их чувствительности и устойчивости к антибиотикам и противомикробным препаратам. Среди штаммов *S. aureus*, выделенных при ИОХВ, штаммы MRSA обнаружены в 14,3% случаев, среди штаммов *S. aureus*, выделенных при пневмонии, — в 27,3%, а среди штаммов *S. aureus*, полученных из крови во время сепсиса, — в 50,0% случаев (по сравнению со штаммами *S. aureus*, полученными при ИОХВ и при пневмонии, $p > 0,05$). Таким образом, резистентность к метициллину у штаммов *S. aureus*, выделенных при ИОХВ и пневмонии, встречалась реже, чем при сепсисе. В то же время устойчивость к метициллину чаще встречалась у штаммов *S. aureus*, полученных из крови пациентов с симптомами сепсиса.

Среди 14 штаммов *S. aureus*, выделенных при ИОХВ, была обнаружена ICR у 2 (14,3%) штаммов ($p > 0,05$ относительно MRSA), а также у 2 (18,2%) из 11 штаммов *S. aureus*, выделенных из мокроты больных с симптомами пневмонии ($p > 0,05$ относительно MRSA). Из 14 штаммов *S. aureus*, выделенных из крови пациентов с сепсисом, лишь в 1 (7,1%) случае выявлена ICR ($p = 0,0328$ относительно MRSA; рис. 3).

Таким образом, при исследовании особенностей ICR у штаммов *S. aureus*, полученных при различных клинических формах ВБИ, существенных различий в частоте не выявлено. Так, только у 2 (18,2%) из 11 штаммов *S. aureus*, выделенных при пневмонии, у 2 (14,3%) из 14 штаммов, полученных при ИОХВ, и у 1 (7,1%) из 14 штаммов, выделенных из крови при сепсисе, была обнаружена ICR ($p > 0,05$).

Обсуждение. Как было отмечено, в нашем исследовании частота *S. aureus* при разных ВБИ была различной. В зависимости от источника полученные штаммы *S. aureus* различались по особенностям их устойчивости к метициллину. Среди штаммов *S. aureus*, полученных при ИОХВ, MRSA обнаружен в 14,3% случаев, среди штаммов *S. aureus*, выделенных при пневмонии, — в 27,3% случаев, среди штаммов *S. aureus*, полученных из крови при сепсисе, — в 50,0%. Таким образом, резистентность к метициллину у штаммов *S. aureus*, выделенных при ИОХВ и пневмонии, встречалась реже. Устойчивость к метициллину у штаммов *S. aureus*, выделенных из крови пациентов с симптомами сепсиса, присутствовала чаще.

Согласно литературным данным [9–11], устойчивость к метициллину у штаммов *S. aureus*, являющихся основной причиной ВБИ, колеблется в различных пределах. Из 732 штаммов микроорганизмов, выделенных при ИОХВ, 28,3% *S. aureus* было чувствительно к метициллину, а 14,6% составляли MRSA [9]. При изучении 702 штаммов микроорганизмов, выделенных при ИОХВ, выявлено, что *S. aureus* был основным возбудителем (20,4%), а штамм MRSA среди всех штаммов *S. aureus* встречался в 72,0% случаев [10]. Среди септических ВБИ и бактериемий количество бактериемий, вызванных штаммами MRSA, до 2005 г. ежегодно увеличивалось на 7,6%, а количество бактериемий, вызванных штаммами MSSA, увеличивалось на 3,4% в год [11]. В этих исследованиях частоту выявления *S. aureus*, включая штаммы MRSA, можно сравнить с результатами нашего исследования.

Будучи чувствительными к антибиотикам, не относящимся к β -лактамам, штаммы MRSA обычно не чувствительны к антибиотикам из группы макролидов. По этой причине также были проанализированы особенности ICR у штаммов *S. aureus*, выделенных при ВБИ. У выделенных штаммов *S. aureus* ICR присутствовала редко: у 2 (14,3%) из 14 штаммов, выделенных при ИОХВ, у 1 (7,1%) из 14, полученных при сепсисе, и у 2 (18,2%) из 11 штаммов, полученных из мокроты больных с симптомами пневмонии.

Согласно литературным данным, в настоящее время привлекают внимание исследования, направленные на сравнение устойчивости к метициллину и ICR у штаммов *S. aureus* [12, 13]. У 190 штаммов *S. aureus* особенности ICR были исследованы с помощью D-теста, а также была определена устойчивость к метициллину методом диск-

диффузии Кирби Бауэра с использованием антибиотиков оксациллина (1 мкг) и цефокситина (30 мкг). 20 (10%) изолятов имели ICR, 18 (9%) — конститутивную резистентность, а 16 (8%) изолятов были MSSA. Конститутивная и индуцибельная резистентность у штаммов MRSA встречалась чаще, чем у штаммов MSSA (20%, 16% и 6%, 6% соответственно) [12].

В другом исследовании [12] изучали особенности ICR у штаммов *S. aureus*, выделенных при ВБИ и внебольничных инфекциях. Из 402 изолятов *S. aureus* 52% имело ICR. У 50% штаммов MRSA и 60% штаммов MSSA была выявлена ICR. Среди штаммов *S. aureus*, выделенных при внебольничных инфекциях, ICR обнаруживали относительно редко по сравнению с больничными штаммами (33 и 55% соответственно).

Таким образом, было установлено, что среди штаммов *S. aureus*, выделенных при ВБИ, частота MRSA существенно не различается в зависимости от клинической формы госпитальной инфекции. Частота MRSA среди штаммов *S. aureus* при септических инфекциях выше (50,0%), чем при ИОХВ (14,3%) и пневмонии (27,3%) ($p > 0,05$). Частота ICR у выделенных штаммов *S. aureus* при ИОХВ (14,3%) и пневмонии (18,2%) также не отличались от частоты MRSA ($p > 0,05$), а при септических инфекциях ICR встречалась реже, чем MRSA (соответственно 7,1 и 50,0%, $p = 0,0328$).

Таким образом, изучение особенности резистентности к антибиотикам штаммов *S. aureus*, выделенных при ВБИ, представляет несомненный интерес и требует дальнейших углублённых исследований.

ВЫВОДЫ

1. Среди штаммов *S. aureus*, выделенных при внутрибольничных инфекциях, частота метициллин-резистентных штаммов не зависит от клинической формы госпитальной инфекции.

2. Частота индуцибельной резистентности к клиндамицину при септических инфекциях ниже, чем устойчивости к метициллину.

Источник финансирования. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Автор заявляет об отсутствии конфликта интересов по представленной статье.

ЛИТЕРАТУРА

1. Kang J., Sickbert-Bennett E.E., Brown V.M. et al. Relative frequency of health care-associated pathogens by infection site at a university hospital from 1980 to 2008. *Am. J. Infect. Control.* 2012; 40 (5): 416–420. DOI: 10.1016/j.ajic.2011.06.013.

2. Li J., Yu L., Yang J. et al. Species distribution of pathogens and prognostic factors for catheter-related bloodstream infections in intensive care unit. *Zhonghua Yi Xue Za Zhi.* 2015; 95 (9): 659–662. PMID: 25976045.

3. Shahane V., Bhawal S., Lele U. Surgical site infections: A one year prospective study in a tertiary care center. *Int. J. Health Sci.* 2012; 6 (1): 79–84. DOI: 10.12816/0005976.

4. Gould I.M., Reilly J., Bunyan D., Walker A. Costs of healthcare-associated methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* and its control. *Clin. Microbiol. Infect.* 2010; 16 (12): 1721–1728. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2010.03365.x.

5. Priya Datta, Neelam Gulati, Nidhi Singla et al. Evaluation of various methods for the detection of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains and susceptibility patterns. *J. Med. Microbiol.* 2011; 60: 1613–1616. DOI: 10.1099/jmm.0.032219-0.

6. Prabhu K., Rao S., Rao V. Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. *J. Lab. Phys.* 2011; 3 (1): 25–27. DOI: 10.4103/0974-2727.78558.

7. Lewis J.S., Jorgensen J.H. Inducible clindamycin resistance in staphylococci: Should clinicians and microbiologists be concerned? *Oxford J. M. Health Clin. Infect. Dis.* 2006; 40 (2): 280–285. DOI: 10.1086/426894.

8. Гублер Е.В. *Вычислительные методы анализа и распознавания патологических процессов.* Ленинград: Медицина. 1978; 296 с. [Gubler E.V. *Vychislitel'nye metody analiza i raspoznavaniya patologicheskikh protsessov.* (Computational methods for the analysis and recognition of pathological processes.) Leningrad: Meditsina. 1978; 296 p. (In Russ.)]

9. Si D., Rajmohan M., Lakhan P. et al. Surgical site infections following coronary artery bypass graft procedures: 10 years of surveillance data. *BMC Infect. Dis.* 2014; 14: 318. DOI: 10.1186/1471-2334-14-318.

10. Takesue Y., Watanabe A., Hanaki H. et al. Nationwide surveillance of antimicrobial susceptibility patterns of pathogens isolated from surgical site infections (SSI) in Japan. *J. Infect. Chemother.* 2012; 18 (6): 816–826. DOI: 10.1007/s10156-012-0509-1.

11. De Kraker M.E., Jarlier V., Monen J.C. et al. The changing epidemiology of bacteraemias in Europe: trends from the European Antimicrobial Resistance Surveillance System. *Clin. Microbiol. Infect.* 2013; 19 (9): 860–868. DOI: 10.1111/1469-0691.12028.

12. Kavitha Prabhu, Sunil Rao, Venkatakrishna Rao. Inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* isolated from clinical samples. *J. Lab. Physicians.* 2011; 3 (1): 25–27. DOI: 10.4103/0974-2727.78558.

13. Patel M., Waites K.B., Moser S.A. Prevalence of inducible clindamycin resistance among community and hospital-associated *Staphylococcus aureus* isolates. *J. Clin. Microbiol.* 2006; 44 (7): 2481–2484. DOI: 10.1128/JCM.02582-05.