

Коробков Н.А.

Антибиотикорезистентность грамположительной микрофлоры, выделенной из метроаспирата у родильниц с послеродовым эндометритом

Кафедра репродуктивного здоровья женщин Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург

Korobkov N.A.

Antibiotic resistance of gram-positive microflora isolated from metrospirata in parturients with postpartum endometritis

Резюме

Проведено микробиологическое исследование лохий у родильниц с послеродовым эндометритом с целью определения этиологической структуры и антибиотикорезистентности наиболее клинически значимой аэробной флоры. На основании полученных результатов даны рекомендации по изменению подходов к эмпирической терапии послеродовых инфекций. Единственным препаратом, который был активен в отношении всех исследованных штаммов, включая полирезистентные *Enterococcus* spp. и MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), явился гликопептидный антибиотик ванкомицин, который и следует рекомендовать для эмпирической терапии тяжелых форм послеродовых инфекций.

Ключевые слова: послеродовый эндометрит, этиологическая структура, метроаспира́т, микробиологическое исследование лохий, антибиотикорезистентность грамположительной микрофлоры, аэробная микрофлора

Summary

A microbiological examination of lochia in parturients with postpartum endometritis in order to determine the etiological structure and antibiotic most clinically significant aerobic flora. Based on these results recommendations on changing approaches to empirical treatment of post-partum infections. The only drug that was active against all strains tested, including multidrug-resistant *Enterococcus* spp. and MRSA (Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*), was a glycopeptide antibiotic vancomycin, which should be recommended for empirical treatment of severe postpartum infections.

Keywords: postpartum endometritis, etiological structure, metrospirat, microbiological research lochia, antibiotic resistance of Gram-positive microflora, aerobic microflora

Введение

Антибактериальная терапия послеродовой инфекции проводится эмпирически и должна основываться на локальных данных о структуре и антибиотикорезистентности возбудителей. В настоящее время у родильниц, пuerперальный период которых осложнился развитием послеродового эндометрита (ПЭ), увеличивается доля грамположительных аэробных бактерий как возбудителей инфекции [1, 2, 3, 4]. Если до недавнего времени ведущими возбудителями ПЭ были: *E. coli* и другие колиформные бактерии и облигатные анаэробы, то в последние годы более широкое распространение получила аэробная грамположительная кокковая флора [5]. Эти изменения являются следствием лечебного и профилактического применения антибиотиков, активных против анаэробов и грамтрицательных бактерий [5, 6].

Грамположительные аэробные кокки, как правило, обладают способностью приобретать резистентность в

процессе лечения, что представляет существенные проблемы при проведении антибактериальной терапии.

По данным ранее проведенных исследований [1, 2], было показано, что *Enterococcus* spp. и *S. aureus* являются основными возбудителями ПЭ из группы грамположительных аэробных кокков. На основании этих данных особое значение приобретает изучение антибиотикорезистентности к наиболее часто применяемым препаратам именно этих микроорганизмов, что и явилось целью настоящего исследования.

Материалы и методы

На базе кафедры репродуктивного здоровья женщин Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова в СПбГУЗ «Родильный дом №6 им. проф. В. Ф. Снегирева» были подвергнуты анализу результаты бактериологического исследования метроаспирата у 130 родильниц с ПЭ.

Взятие метроаспирата проводилось при появлении первых симптомов заболевания, до начала антибактериальной терапии. Забор отделяемого из полости матки осуществляли при помощи специального аспирационного устройства, исключающего контаминацию образцов микрофлорой влагалища и цервикального канала. Посев материала проводили на питательную среду в момент взятия.

В лаборатории раневой инфекции Российского НИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена проведена окончательная идентификация полученного материала. Время полного микробиологического анализа с углубленным исследованием по классическим методам аэробной и анаэробной бактериологии составляло около 7 дней.

Идентификацию стафилококков проводили на основе: тинкториальных свойств (окраска по Граму), специфической морфологии колоний при росте на маннитол-солевом агаре (США), положительного теста плазмокоагуляции в пробирке. Идентификацию энтерококков проводили на основе микроскопии, морфологии колоний на желчно-эскулиновом агаре (Becton Dickinson, США), и с использованием систем биохимической идентификации API 20 STREP (bioMerieux, Франция).

Определение чувствительности *S. aureus* и энтерококков проводили методом микроразведений в агаре Мюллер-Хинтона II (Becton Dickinson, США).

У энтерококков определяли чувствительность к следующим, принятым в акушерстве, антибактериальным препаратам: ампициллину, амоксициллин/клавулату, гентамицину, ванкомицину, моксифлоксацину, имипенему, меропенему, азитромицину, клиндамицину, ципрофлоксацину. У *S. aureus* проводили определение чувствительности к ванкомицину, гентамицину, клиндамицину, цефазолину, цефамандолу, цефтриаксону, линкомицину, левофлоксацину, линкомицину, оксациллину, амоксициллин/клавулат, имипенему, меропенему, азитромицину, ципрофлоксацину, эритромицину.

Полученные данные интерпретировали в соответствии со стандартами Национального комитета по

клиническим лабораторным стандартам США (National Committee for Clinical Laboratory Standards – NCCLS) [8]. Внутренний контроль качества при определении чувствительности *S. aureus* – проводили с использованием референтного штамма *S. aureus* ATCC 29213, энтерококков – с использованием штамма *E. faecalis* ATCC 29212.

Для фенотипической детекции бета-лактамаз все включенные в исследование культуры энтерококков были скринированы при помощи теста с нитроцефином.

При характеристике микроорганизмов использовались общепринятые категории: чувствительные (ч), умеренно резистентные (ур) и резистентные (р). Для интегральной характеристики лекарственной устойчивости резистентные и умеренно-резистентные микроорганизмы были объединены в группу нечувствительных штаммов, как рекомендуется Европейской системой по контролю за антибиотикорезистентностью (EARSS) [9].

Полученные данные анализировались с помощью программы мониторинга за антибиотикорезистентностью, представленной Всемирной организацией здравоохранения WHONET 5.1.

Результаты и обсуждение

Из исследованных метроаспираатов было выделено и идентифицировано 282 штамма. Отсутствие роста микроорганизмов в содержимом полости матки отмечено у 2 (1,5%) родильниц (рис. 1).

Наиболее часто (86,2%) микроорганизмы высеивались в виде ассоциаций, при этом чаще наблюдались аэробно-анаэробные (55,4%). В структуре выделенной аэробной микрофлоры преобладала (61,7%) грамположительная кокковая флора (*Enterococcus* spp. – 43,2% и *S. aureus* – 15,3%) (рис. 2).

Среди 51 протестированного изолята *Enterococcus* spp. не было ни одного штамма, резистентного к ванкомицину (рис.3).

Из представленных данных видно, что наибольшей активностью в отношении исследованных штаммов *Enterococcus* spp. обладали аминопенициллины

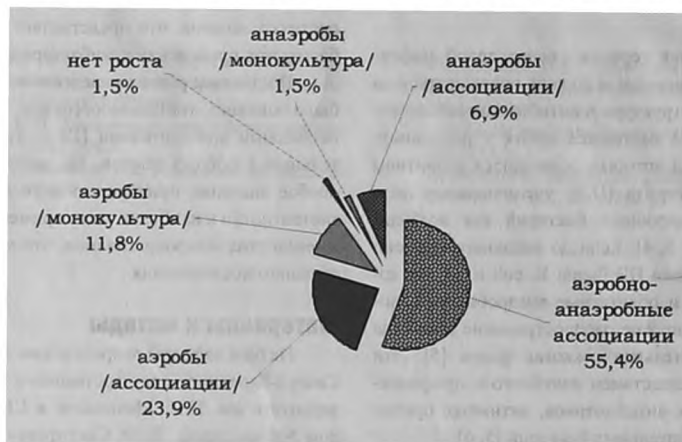


Рис. 1. Структура микрофлоры выделенной из полости матки у родильниц с послеродовым эндометритом (n=130)

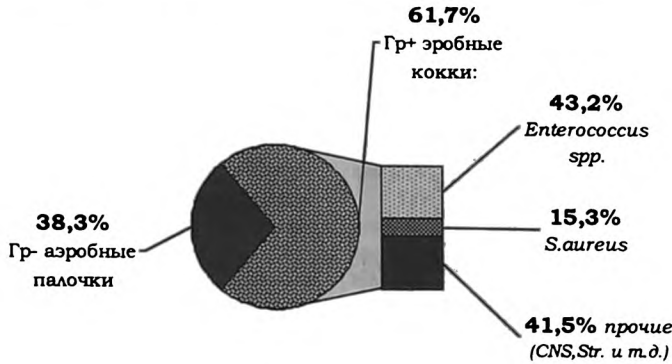


Рис. 2. Структура выделенной из метроаспирата аэробной микрофлоры у родильниц с послеродовым эндометритом (n=118)

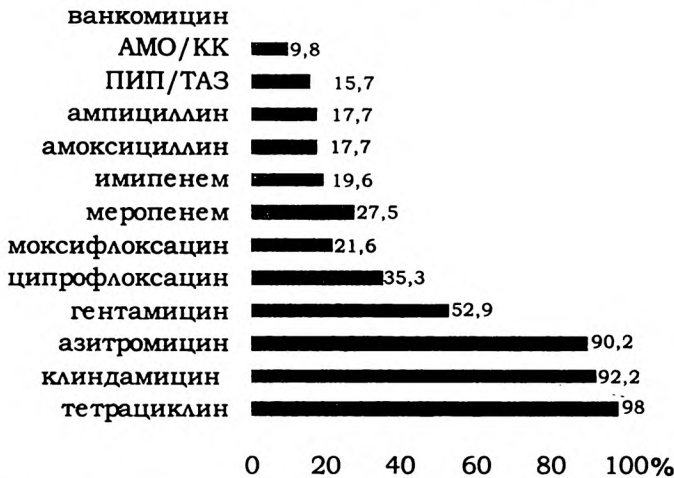


Рис. 3. Суммарная частота нечувствительности к различным антибиотикам штаммов (резистентные и промежуточно-резистентные) *Enterococcus spp.* (n=51)

(ампициллин и амоксициллин). Наименьшая частота резистентности была выявлена к ингибиторзащищенным пенициллинам: амоксициллин/клавуланат (АМО/КК) и пиперациллин/тазобактам (ПИП/ТАЗ) – 9,8 и 15,7% резистентных штаммов соответственно.

Из исследованных карбапенемов наибольшей активностью обладал имипенем, к которому нечувствительны были 19,6% энтерококков. Меропенем обладал более низкой активностью в отношении нозокомиальных штаммов *Enterococcus spp.* (нечувствительные штаммы составили 27,5%).

Антимикробная активность аминогликозидов была слабая. Большинство исследуемых штаммов энтерококков (52,9%) обладали высоким уровнем резистентности к гентамицину.

Все протестированные фторхинолоны обладали умеренной *in vitro* активностью в отношении *Enterococcus spp.* Моксифлоксацин проявлял несколько более высокую активность по сравнению с ранними фторхинолонами:

21,6 и 35,3% нечувствительных штаммов соответственно.

Учитывая высокую природную устойчивость энтерококков к цефалоспоринам данные бета-лактамы в исследование не входили.

Из всех протестированных штаммов *Enterococcus spp.* 19 (37,3%) обладали полирезистентностью к антибиотикам. Наиболее частым фенотипом была резистентность одновременно к клиндамицину, азитромицину, гентамицину и ципрофлоксацину которая была выявлена у 17,7% (9 из 51) штаммов *Enterococcus spp.* Нечувствительность к 3 антибиотикам – клиндамицину, азитромицину и тетрациклину была определена у 13,7% исследуемых штаммов (7 из 51).

Таким образом, наибольшей клинически значимой активностью против штаммов *Enterococcus spp.* обладали только три из всех используемых в акушерстве антибиотиков (класс В по FDA): ванкомицин, пенициллины и имипенем.

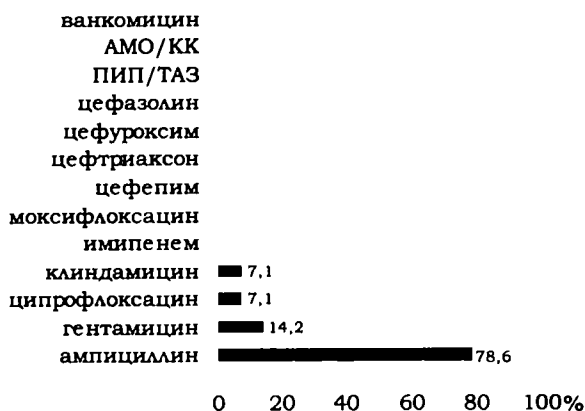


Рис. 4. Частота нечувствительности к различным антибиотикам штаммов (резистентные и промежуточно-резистентные) *MSSA* (n=14)

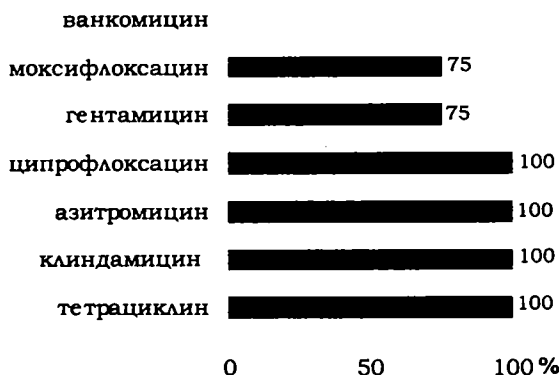


Рис. 5. Частота нечувствительности к различным антибиотикам штаммов (резистентные и промежуточно-резистентные) *MRSA* (n=4)

S. aureus

На практике (в настоящем исследовании, в частности) при оценке антибиотикочувствительности стафилококков вместо метициллина используют оксациллин, так как последний отличается большей стабильностью при хранении, в этом случае термин оксациллинорезистентность является полным синонимом метициллинорезистентности.

Частота выделения штаммов *S. aureus*, резистентных к оксациллину, соответствует частоте выделения метициллинорезистентных штаммов *S. aureus* (MRSA) и составляет 22,2%. Микроорганизмы, проявляющие устойчивость к оксациллину, следует считать устойчивыми к действию всех бета-лактамовых антибиотиков, доступных в клинической практике. Соответственно, при изучении MRSA бета-лактамы антибиотики не использовали. При изучении оксациллиночувствительных штаммов *S. aureus* (MSSA) сравнивали активность нескольких бета-лактамов.

Результаты определения чувствительности к антибиотикам исследованных штаммов *S. aureus* представле-

ны на рис. 4-5. MSSA характеризовались высоким уровнем чувствительности к подавляющему большинству исследуемых антибактериальных препаратов (рис. 4).

Среди всех антимикробных препаратов бета-лактамы характеризовались наибольшим уровнем активности. Все штаммы оксациллиночувствительных *S. aureus* были полностью чувствительны к ИЗ-пеницилинам, цефалоспорином и карбапенемам. Анализируя полученные данные, прежде всего следует отметить высокую частоту продукции бета-лактамаз (78,6%). Частота продукции бета-лактамаз коррелировала с устойчивостью к ампициллину. В то же время следует признать, что прямая детекция продукции бета-лактамаз является более информативным показателем, чем оценка чувствительности к ампициллину.

Результаты оценки чувствительности оксациллинорезистентных *S. aureus* к изученным антибиотикам представлены на рис. 5.

Очевидно, что единственным антибиотиком, активным в отношении всех штаммов, является ванкомицин.

Наличие у MRSA ассоциированной устойчивости

к аминогликозидным, макролидным и линкозамидным антибиотикам является характерным признаком этих микроорганизмов. Штаммы MRSA с ассоциированной резистентностью к гентамицину, азитромицину и клиндамицину составляли 75% от общего количества.

Таким образом, если этиологическим агентом послеродовой инфекции является MSSA, то выработка рекомендаций по лечению не вызывает особых затруднений, в случае же выявления MRSA задача существенно усложняется.

Результаты определения чувствительности *Enterococcus* spp. к аминопеницилинам – бета-лактамам антибиотикам, наиболее часто применяемым для эмпирической терапии энтерококковых инфекций, – в целом были сопоставимы с литературными данными [8, 9]. Только 9 штаммов (17,7%) *Enterococcus* spp. были резистентны к ампициллину и оксациллину, 8 (15,7%) к ПИП/ТАЗ и 5 (9,8%) к АМО/КК.

Ни у одного из пенициллинорезистентных штаммов *Enterococcus* spp. в ходе исследования продукции бета-лактамазы выявлено не было. Исходя из этого можно сделать вывод, что ингибиторозащищенные пенициллины, как, например, АМО/КК, не будут иметь значимых преимуществ перед ампициллином.

Исследование показало неожиданно высокую устойчивость к другим важным для терапии энтерококковых инфекций препаратам – аминогликозидам, так к гентамицину было чувствительно лишь 24 (47,1%) штамма *Enterococcus* spp. Необходимо отметить, что данные о чувствительности к гентамицину, полученные в ходе нашего исследования, несколько отличались от данных некоторых зарубежных и отечественных источников [5, 8, 9]. Однако при этом следует учитывать различные источники получения штаммов, специфический контингент больных и эпидемиологическую ситуацию в конкретный временной промежуток, проявляющуюся в превалировании той или иной госпитальной микрофлоры.

Безусловно, что фторхинолоны не являются препаратами выбора для терапии энтерококковых инфекций в акушерских стационарах. Однако возрастающая частота выделения полирезистентных штаммов энтерококков и появление новых препаратов этой группы с улучшенной активностью в отношении грамположительных микроорганизмов позволяет рассматривать фторхинолоны как одни из альтернативных препаратов для терапии послеродовых инфекций энтерококковой этиологии.

В ходе исследования не было обнаружено штаммов, резистентных к гликопептидному антибиотику – ванкомицину. По-видимому, это связано с редким применением данных препаратов в России в целом и в исследованном акушерском стационаре в частности. Необходимо отметить, что ранее в России также не обнаруживались

штаммы энтерококков, резистентных к ванкомицину [5, 6]. В то же время во многих стационарах стран Европы и Америки ванкомицинорезистентные штаммы энтерококков (*Vancomycin-resistant Enterococcus faecium* – VRE *faecium*) уже давно являются одной из основных проблем антимикробной химиотерапии нозокомиальных инфекций [8, 9].

Так же как и при исследовании антибиотикочувствительности выделенных энтерококков среди 18 протестированных изолятов *S. aureus* не было ни одного штамма, со сниженной резистентностью к ванкомицину (*vancomycin intermediate Staphylococcus aureus* или *glycopeptide intermediate Staphylococcus aureus* – VISA или GISA).

Заключение

Как показало данное исследование, лечение инфекций вызываемых штаммами *S. aureus* MS, не продуцирующими бета-лактамазы, не вызывает затруднений, поскольку возможности по выбору эффективных препаратов достаточно широки. В качестве стандартных антибиотиков для лечения стафилококковых инфекций, вызванных метициллинчувствительными штаммами, рассматриваются оксациллин и цефалоспорины. Однако в силу широкого распространения среди стафилококков бета-лактамаз применение незащищенных пенициллинов, цефалоспоринов I-III поколений и карбопенемов нецелесообразно.

Таким образом, в исследуемом стационаре следует изменить подход к эмпирической терапии послеродовых инфекций. Назначение считающейся «стандартной» при терапии послеродового эндометрита комбинации цефалоспориин/метронидазол, цефалоспориин/гентамицин и альтернативная терапия фторхинолонами I поколения, во многих случаях может оказаться неэффективной в связи с широким распространением резистентных к этим антибиотикам штаммов *Enterococcus* spp. и MRSA.

Единственным препаратом, который был активен в отношении всех исследованных штаммов, включая полирезистентные *Enterococcus* spp. и MRSA, явился гликопептидный антибиотик ванкомицин, который и следует рекомендовать для эмпирической терапии тяжелых форм послеродовых инфекций в данном акушерском стационаре.■

Коробков Николай Александрович, канд. мед. наук, доцент кафедры репродуктивного здоровья женщин Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова, г. Санкт-Петербург; Данные контактного лица, ответственного за ведение переписки, связанной со статьей: Гнатюк Михаил Анатасьевич. E-mail: autograf@ukr.net.

Литература:

1. Коробков Н. А., Осипова Н. А., Новикова Т. В. Обоснование применения эмпирической антибактериальной

терапии у рожениц с послеродовым эндометритом на основании микробиологического исследования

- отделяемого из полости матки. Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. В. А. Алмазова 2012; 4: 21-7.
2. Новиков Б. Н., Коробков Н. А., Рябцева И. Т. Хирургическая санация полости послеродовой матки в лечении эндометрита. Журнал акушерских и женских болезней 2011; 60 (6): 45-50.
 3. Radcliffe K. W., editor. European STD Guidelines. In: International Journal of STD&AIDS. 2001 October; 12 (Suppl 3). Access mode: <http://www.hawaii.edu/hivandaids/EuropeanSTIManagementGuidelines.pdf>.
 4. Kimberly A., Workowski M. D., Stuart Berman M. D., (prepared); Centers for Disease Control and Prevention (CDC). Sexually Transmitted Diseases. Treatment Guidelines. MMWR Recomm Rep 2010; 59 (RR12): 1-110.
 5. Орджоникидзе Н. В., Емельянова А. И., Мешалкина И. В. Послеродовая инфекция. М: Медиздат; 2012.
 6. Серов В. Н., Тютюнник В. Л., Шульгина И. В. Послеродовые гнойно-воспалительные заболевания: клиника, диагностика, лечение. Русский медицинский журнал 2007; 15: 1261-5.
 7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 14 informational supplement. Approved standard M100-S14. Wayne, PA; 2004.
 8. Moellering R. C. Enterococcus species, Streptococcus bovis, and Leuconostoc species. In: Mandell G. L., Bennett J. E., Dolin R., editors. Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone; 2008. p. 2147-56.
 9. McCarthy A. E., Victor G., Ramotar K., Teye B. Risk factors for acquiring ampicillin-resistant enterococci and clinical outcomes at a Canadian tertiary-care hospital. J Clin Microbiol 2011; 11: 2671-6.