



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

Н.А. Коробков

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

Проведено микробиологическое исследование лохий у 130 родильниц с послеродовым эндометритом с целью определения этиологической структуры и антибиотикорезистентности наиболее клинически значимой аэробной флоры. Материалом для исследования был метроаспират (130 образцов). Наиболее часто (86,2%) микроорганизмы высевались в виде ассоциаций, при этом чаще наблюдались аэробно-анаэробные (55,4%).

В структуре выделенной аэробной микрофлоры преобладала (61,7%) грамположительная аэробная кокковая флора (*Enterococcus* spp. – 43,2% и *S. aureus* – 15,3%). Основными выявленными проблемами антибиотикорезистентности были высокая устойчивость выделенных энтерококков к аминогликозидам (47,1%) и метициллинорезистентность у *S. aureus*.

На основании полученных результатов, в исследуемом стационаре, 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, явился гликопептидный антибиотик ванкомицин, который и следует рекомендовать для эмпирической терапии тяжёлых форм послеродовых инфекций в данном акушерском стационаре.

Ключевые слова: послеродовый эндометрит, метроаспират, лохий, антибиотикорезистентность грамположительной микрофлоры, резистентность энтерококков к аминогликозидам, MRSA

Введение. Антибактериальная терапия послеродовой инфекции проводится эмпирически и должна основываться на локальных данных о структуре и антибиотикорезистентности возбудителей. В настоящее время у родильниц, пуэрперальный период которых осложнился развитием послеродового эндометрита (ПЭ), увеличивается доля грамположительных аэробных бактерий как возбудителей инфекции [1-4]. 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 резистент-

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

По данным ранее проведённых 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.

Материал 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. Снегирёва» 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 имени Р.Р. Вредена проведена окончательная идентификация полученного материала. Время полного микробиологического анализа с углублённым 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 жёлчно-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/клавуланату, 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/клавуланату, 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) [7]. 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 включённые 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) [3].

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

Результаты и их обсуждение. Из исследованных метроаспиратов 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 высевались 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).

Чувствительность к антибиотикам *Enterococcus* spp. 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 (ампициллин и амоксициллин). Наименьшая частота резистентности была выявлена к ингибиторзащищённым пенициллинам: амоксициллину/клавуланату (АМО/КК) и пиперациллину/тазобактаму (ПИП/ТАЗ) – 9,8% и 15,7% резистентных штаммов, соответственно.

Из исследованных карбапенемов наибольшей активностью обладал имипенем, к которому нечувствительными 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.

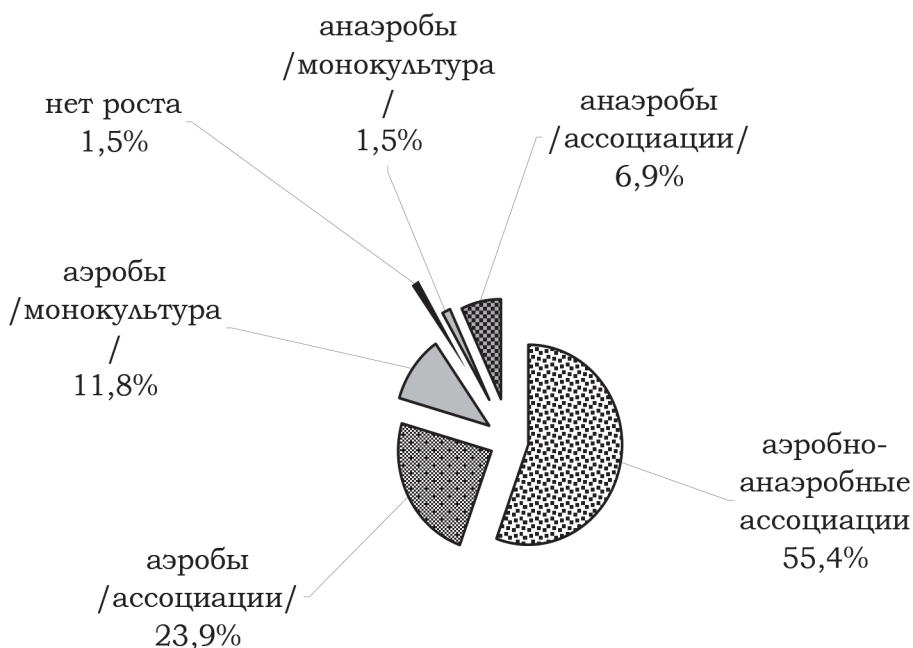


РИС. 1. СТРУКТУРА МИКРОФЛОРЫ ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ ПОЛОСТИ МАТКИ У РОДИЛЬНИЦ С ПОСЛЕРодОВЫМ ЭНДОМЕТРИТОМ (N=130)

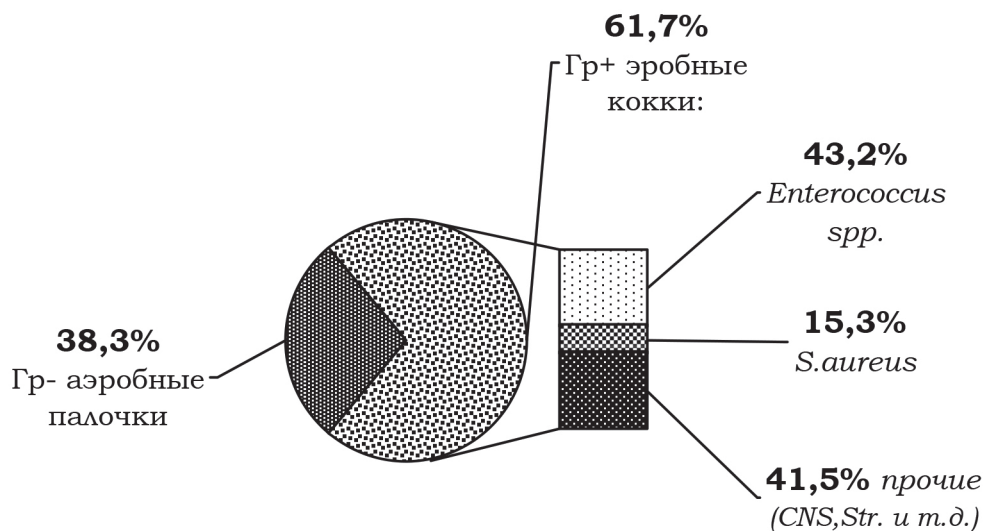


РИС. 2. СТРУКТУРА ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ МЕТРОАСПИРАТА АЭРОБНОЙ МИКРОФЛОРЫ У РОДИЛЬНИЦ С ПОСЛЕРодОВЫМ ЭНДОМЕТРИТОМ (N=118)

Учитывая высокую природную устойчивость энтерококков к цефалоспорином данным 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, пенициллин и имипенем.



РИС. 3. СУММАРНАЯ ЧАСТОТА НЕЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К РАЗЛИЧНЫМ АНТИБИОТИКАМ ШТАММОВ (РЕЗИСТЕНТНЫЕ И ПРОМЕЖУТОЧНО-РЕЗИСТЕНТНЫЕ) *Enterococcus spp.* (n=51)

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-лактамных 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* представлены на рисунках 4 и 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-пенициллинам, 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 аминоглизидным, 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 осложняется.

Результаты определения чувствительности *Enterococcus spp.* к аминопенициллинам – бета-лактамным 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.

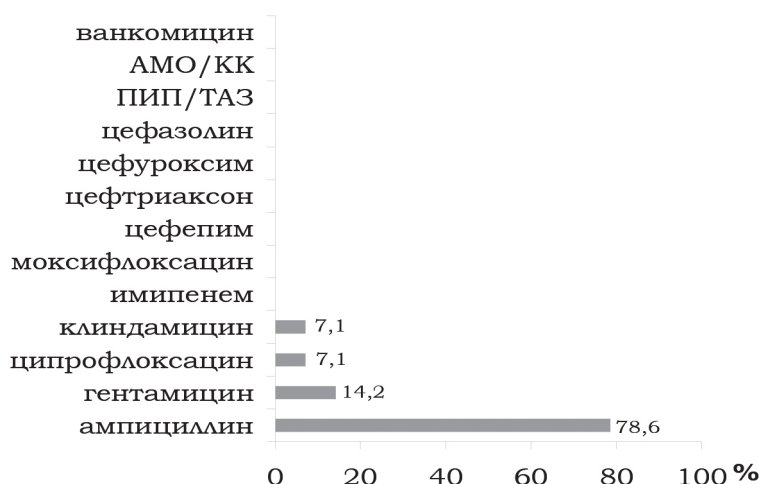


РИС. 4. ЧАСТОТА НЕЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К РАЗЛИЧНЫМ АНТИБИОТИКАМ ШТАММОВ (РЕЗИСТЕНТНЫЕ И ПРОМЕЖУТОЧНО-РЕЗИСТЕНТНЫЕ) *MSSA* (n=14)



РИС. 5. ЧАСТОТА НЕЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К РАЗЛИЧНЫМ АНТИБИОТИКАМ ШТАММОВ (РЕЗИСТЕНТНЫЕ И ПРОМЕЖУТОЧНО-РЕЗИСТЕНТНЫЕ) *MRSA* (n=4)

Ни у одного из пенициллинорезистентных штаммов *Enterococcus spp.* в ходе исследования продукции бета-лактамаз выявлено не было. Исходя из этого можно сделать вывод, что ингибиторозащищённые 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).

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 незащищённых 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 тяжёлых форм послеродовых инфекций в данном акушерском стационаре.

ЛИТЕРАТУРА

1. Коробков Н.А. Обоснование применения эмпирической антибактериальной терапии у родильниц с послеродовым эндометритом на основании микробиологического исследования отделяемого из полости матки / Н.А.Коробков, Н.А.Осипова, Т.В.Новикова // Бюллетень Федерального Центра сердца, крови и эндокринологии им. В.А. Алмазова. – 2012. – №4. – С. 21-27.
2. Новиков Б.Н. Хирургическая санация полости послеродовой матки в лечении эндометрита / Б.Н.Новиков, Н.А.Коробков, И.Т.Рябцева // Ж. акушерства и женских болезней. – 2011. – Т. 60, № 6. – С. 45-50.
3. European STD Guidelines. Int. J. STD&AIDS 2011; 12 (Suppl.3).
4. Sexually Transmitted Diseases. Treatment Guidelines. CDC MMWR. – 2010; 51 (RR-6).
5. Орджоникидзе Н.В. Послеродовая инфекция / Н.В. Орджоникидзе, А.И. Емельянова, И.В. Мешалкина // – М.: Медиздат. – 2012. – 480 с.
6. Серов В.Н. Послеродовые гнойно-воспалительные заболевания: клиника, диагностика, лечение / В.Н.Серов, В.Л.Тютюнник, И.В. Шульгина // русский мед. журнал. – 2007. – Т.15. – С.1261-1265.
7. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 14 informational supplement. NCCLS document M100 S14. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA. – 2004. – 56p.
8. Moellering R.C. Enterococcus species, Streptococcus bovis, and Leuconostoc species / Moellering R.C., G.L.Mandell, J.E.Bennett, R.Dolin // Principles and Practice of Infectious Diseases. 5th ed. Philadelphia: Churchill Livingstone. – 2008. – P. 2147-56.
9. McCarthy A.E. Risk factors for acquiring ampicillin-resistant enterococci and clinical outcomes at a Canadian tertiary-care hospital / A.E.McCarthy, G.Victor, K.Ramotar, B.Toye // J. Clin. Microbiol. – 2011;11:2671-6.



Summary

Antibiotic-resistant gram-positive microflora isolated from metro aspirates in parturients with postpartum endometritis

N.A. Korobkov

Chair of reproductive health of women Northwestern State Medical University named after II Mechnikov, Saint-Petersburg, Russia

A microbiological examination of lochia in 130 postpartum women with postpartum endometritis in order to determine the etiological structure and antibiotic resistance of most clinically significant aerobic flora. Material for the study was metroaspirat (130 samples). The most frequently (86,2%) were inoculated microorganisms in the form of associations and mostly observed aerobic-anaerobic (55,4%).

In the structure of selected aerobic microflora prevailed (61,7%), gram-positive aerobic coccal flora (*Enterococcus* spp. - 43,2% and *S. aureus* - 15,3%). The main identified problems were high antibiotic resistance of enterococci to aminoglycosides isolated (47,1%) and methicillin resistance in *S. aureus*.

Based on these results obtained in the research hospital, recommendations on changing approaches to empirical treatment of post-partum infections were proposed. The only drug that was active against all tested strains, including multidrug-resistant *Enterococcus* spp. and MRSA, was glycopeptide antibiotic vancomycin, which should be recommended for empirical treatment of severe postpartum infections in this maternity hospital.

Key words: postpartum endometritis, metroaspirat, lochia, antibiotic resistance of Gram-positive microflora resistance of enterococci to aminoglycosides, MRSA

АДРЕС ДЛЯ КОРРЕСПОНДЕНЦИИ:

Коробков Николай Александрович – доцент кафедры репродуктивного здоровья женщин Северо-Западного государственного медицинского университета им. И.И. Мечникова; Российская Федерация, г. Санкт-Петербург, Пискаревский пр., д. 47
E-mail: lvs6362@gmail.com