



Л. Г. Мироненко

ГУ «Институт
микробиологии и иммунологии
им. И. И. Мечникова НАМН
Украины», г. Харьков

© Мироненко Л. Г.

ФАКТОРЫ ВИРУЛЕНТНОСТИ И АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ENTEROCOCCUS FAECIUM, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ С НЕЙРОХИРУРГИЧЕСКОЙ ПАТОЛОГИЕЙ

Резюме. В статье представлены результаты изучения желатинозной, гемолитической активностей и антибиотикорезистентности *E. faecium*, выделенных от 34 больных с нейрохирургической патологией. Из патологического материала больных изолировано 37 энтерококков, из них 19 штаммов – *E. faecium*. Установлено, что количество штаммов *E. faecium*, обладающих желатинозной и гемолитической активностью, составило 14 (73,7 %) и 9 (47,4 %) соответственно. Выявлена высокая резистентность к Ампициллину (98,5 %), высоким уровням Гентамицина (78,9 %), к Моксифлоксацину (100 %), Гатифлоксацину (72,7 %). Обнаружен один штамм (5,3 %), резистентный к Ванкомицину и Тейкопланину. Все штаммы были чувствительными к Линезолиду.

Ключевые слова: *E. faecium*, факторы вирулентности, желатинозная и гемолитическая активность, антибиотикорезистентность, больные с нейрохирургической патологией.

Введение

Энтерококки являются представителями нормофлоры кишечника людей и животных, однако в последнее время их роль в возникновении энтерококковых инфекций значительно возросла. Чаще всего энтерококки вызывают инфекции мочеполовой системы, эндокардит, бактериемии, интраабдоминальные и раневые инфекции [3, 4, 7]. Значительно реже их выделяют при инфекциях легких, костной системы, инфекциях центральной нервной системы (ЦНС). Не так много публикаций, свидетельствующих о роли энтерококков в возникновении инфекций ЦНС. По данным Rodriguez G. et al., микроорганизмы рода *Enterococcus* вызывают госпитальный менингит, возникающий после хирургического вмешательства при острых нарушениях мозгового кровообращения у 55 % больных, опухолей мозга – 25 %, черепно-мозговых травм – 15 %, гидроцефалии – 5 %, из них почти половина пациентов принимали в предоперационный и послеоперационный период антибиотики [6]. В работе установлено, что в 15,4 % случаев возбудителем инфекций ЦНС явился ванкомицинрезистентные энтерококки (VRE) [5].

Известно, что до начала 90-х годов XX века среди клинических изолятов энтерококков, выделенных при нозокомиальных и гнойно-септических заболеваниях, на долю *E. faecalis* приходилось 90 – 95 %, а на долю *E. faecium* только около 5 %. За последние 15-20 лет отмечают возрастание этиопатогенетической роли *E. faecium* и одной из при-

чин этого явления ученые называют распространенность большого количества штаммов этого вида, резистентных к Ампициллину и Ванкомицину [7]. По данным европейского мониторинга антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций – European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net), проводимой с 1999 г., уровень распространенности резистентных к ампициллину штаммов (ARE) *E. faecium* в 2009 г. составлял 92,9 %, в 2010 г. – 95,4 %; *E. faecalis* – 2,1 и 2,0 % соответственно. За последнее десятилетие в Европе количество VRE вида *faecium* выросло с 11,1 % в 2002 г. до 39,2 % в 2010 г. Следует отметить, что уровень распространенности VRE вида *faecalis* был значительно меньше и достигал 0,7 % в 2009 г. и 0,3 % в 2010 г. [2]. Несмотря на большое количество научных публикаций об этиологической роли энтерококков, остаются недостаточно изученными факторы патогенности энтерококков. В связи с ростом этиопатогенетической роли *E. faecium* в общей структуре энтерококковых инфекций, актуальным становится изучение патогенного потенциала этого вида возбудителя.

Работа выполнена в рамках запланированной НИР ГУ «Институт микробиологии и иммунологии им. И. И. Мечникова Национальной академии медицинских наук Украины» «Вивчення біологічних властивостей мікроорганізмів роду *Enterococcus* різного походження та удосконалення методів лабораторної діагностики ентерококових інфекцій».

Цель работы

Изучение желатиназной, гемолитической активностей и антибиотикорезистентности *E. faecium*, выделенных от больных с нейрохирургической патологией (НХП).

Материалы и методы исследований

Для достижения поставленной цели нами были обследованы 34 человека, из них 15 детей: 6 пациентов с диагнозами спинномозговая грыжа, 5 – с опухолями мозга, 4 – с гидроцефалией; 19 взрослых: 9 больных – с опухолями мозга, 10 – с острыми нарушениями мозгового кровообращения. Больные находились в нейрохирургических клиниках и отделении реанимации и интенсивной терапии ГУ «Институт нейрохирургии им. Ромоданова НАМН Украины». В качестве материала для исследований использовали ликвор, кровь, мочу, отделяемое из ран вышеперечисленных больных.

Выделение и идентификацию энтерококков проводили согласно действующим нормативным и методическим документам. Идентификация к виду была проведена с использованием тест-системы EN-COCCUS-тест (Lachema, Чешская республика). Желатиназную активность определяли на триптиказо-соевом агаре с добавлением 1,5 % обезжиренного молока путем посева бляшками 0,3-0,5 мм суточной культуры энтерококка, гемолитические свойства – на 5 % кровяном агаре. Чувствительность к антибиотикам: Пеницилину, Ампицилину, Ципрофлоксацину, Гатифлоксацину, Левофлоксацину, Моксифлоксацину, Норфлоксацину, Доксциклину, Фосфомицину, Нитрофурантоину определяли диско-диффузионным методом Bauer-Kirby. Для определения чувствительности к высоким дозам аминогликозидов использовали набор № 27 (ФГУН НИИЕМ им. Пастера, Санкт-Петербург). Скрининг чувствительности энтерококков к Ванкомицину и Тейкопланину определяли методом серийных разведений на сердечно-мозговом агаре [1]. Анализ проведен с использованием программы WHONET 5.6.

Статистическая обработка полученных результатов проведена с использованием методов непараметрической статистики. Достоверность различий определяли при помощи U-критерия Манна-Уитни.

Результаты исследований и их обсуждение

Распределение энтерококков по видовому составу представлено на рис. 1. Анализ результатов свидетельствует, что у больных с НХП почти с одинаковой частотой выделяются *E. faecium* и *E. faecalis*, другие виды встречаются редко.

При анализе результатов изучения протолитической активности установлено, что ко-

личество штаммов с желатиназной активностью среди энтерококков, выделенных от больных, почти в 2 раза превышает аналогичный показатель штаммов, изолированных из кишечника здоровых людей ($p < 0,05$) (табл.).

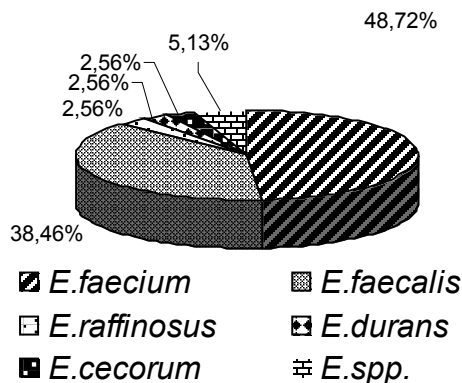


Рис. 1. Видовой состав энтерококков, выделенных от больных с заболеваниями ЦНС после оперативного вмешательства

Таблица

Пенетрантность желатиназной и гемолитической активностей энтерококков, выделенных от больных с НХП и здоровых лиц

Происхождение штаммов	Количество штаммов	Количество штаммов с желатиназной активностью		Количество гемолитически активных штаммов	
		абс.	М±m, %	абс.	М±m, %
Больные ЦНС	37	27	73,0±7,3*	19	51,4±8,2'
Здоровые	21	7	35,0±10,7	2	9,5±6,4

Примечание: * достоверность результатов при $p < 0,05$.

Следует отметить, что желатиназоактивные штаммы энтерококков, изолированных от больных, представлены видами: *E. faecalis* – 9 (33,3±9,1) %, *E. faecium* – 14 (51,9±9,6) %, *E. spp.* – 4 (14,8±6,8) %; от здоровых лиц – *E. faecalis* – 4 (66,6±19,2) %, *E. faecium* – 1 (16,7±15,2) %, *E. spp.* – 1 (16,7±15,2) %. Достоверных различий между пенетрантностью желатиназной активности у энтерококков видов *faecium* и *faecalis* не выявлено ($p \geq 0,05$). Так, среди 15 штаммов *E. faecalis* желатиназоактивными были 9 (60,0) % штаммов, среди 19 штаммов *E. faecium* – 14 (73,7) %. Экспрессивность желатиназной активности была достоверно выше у штаммов *E. faecalis*, выделенных от больных с НХП, чем у штаммов этого вида, изолированных от здоровых лиц ($p < 0,05$). У штаммов *E. faecium* достоверных различий не выявлено.

Анализируя результаты изучения гемолитической активности, следует отметить, что пенетрантность этого признака у энтерококков, выделенных из патологического материала больных, была достоверно выше, чем в группе сравнения ($p < 0,05$). По видовому составу гемолитически активные штаммы распределились следующим образом: *E. faecalis* – 8 (42,1±11,3) %, *E. faecium* – 14 (73,7) %, *E. spp.* – 1 (16,7±15,2) %.



E. faecium – 9 (47,4±11,5) %, *E. spp.* – 4(10,5±7,0) %; от здоровых лиц из двух штаммов один относился к виду *E. faecalis*, другой – *E. casseliflavus* (33,3±27,2) %.

Данные изучения чувствительности к антибиотикам *E. faecium*, выделенных от больных с НХП представлены на рис. 2. Следует отметить низкую противоэнтерококковую активность Пенициллина и Ампициллина по отношению *E. faecium*. Наши результаты совпадают с данными других ученых, свидетельствующих о высокой резистентности *E. faecium* к этим антибиотикам.

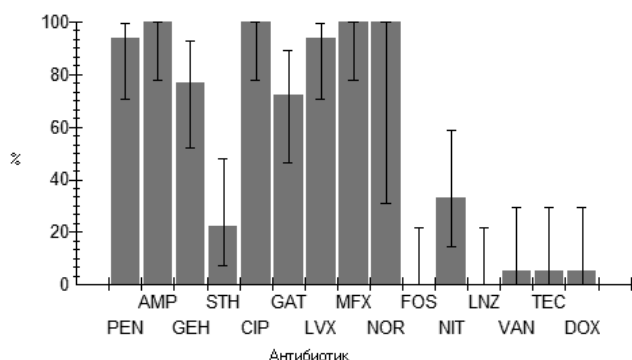


Рис. 2. Резистентность к антибиотикам *E. faecium*, выделенных от больных.

При изучении чувствительности *E. faecium* к высоким уровням аминогликозидов установлено, что количество резистентных энтерококков этого вида к Гентамицину (high-level gentamicin-resistant HLG-R) достигает 78,9 %, к Стрептомицину – 26,3 %. Следует отметить, что к обоим антибиотикам были резистентными 20,0 % штаммов.

По данным EARS-Net количество HLG-R штаммов в Европе в 2009 и 2010 гг. было 39,1 и 39,5 % соответственно, при этом в некоторых странах этот показатель был значительно выше. Так, в 2010 г. высокий уровень был зарегистрирован в Нидерландах (64,9 %), в Венгрии (61,9 %), Италии (59,4 %) [2]. Высокие показатели распространенности HLG-R штаммов, полученные при выполнении настоящих исследований, могут свидетельствовать

на наш взгляд о госпитальном происхождении штаммов.

Хотелось бы отметить высокую резистентность изучаемых энтерококков к фторхинолонам. Согласно современным рекомендациям высокого уровня доказательности клинической эффективностью к *E. faecium* обладают Моксифлоксацин и Гатифлоксацин. Результаты наших исследований показали, что к Моксифлоксацину были устойчивыми все исследуемые штаммы, к Гатифлоксацину количество резистентных составило 72,7 %, при этом остальные были умеренно устойчивыми.

При изучении чувствительности энтерококков к гликопептидным антибиотикам (Ванкомицину и Тейкопланину) выявлен один штамм (5,3 %), обладающий резистентностью к обоим антибиотикам.

Наши исследования подтвердили высокую противоэнтерококковую активность Линезолида, все штаммы обладали чувствительностью к этому препарату.

Выводы

1. В патологическом материале от больных с НХП при превалировании *E. faecium* – 19 (48,7 %) и *E. faecalis* – 15 (38,5 %) выделены энтерококки видов: *E. raffinosus* – 1 (2,6 %), *E. durans* – 1 (2,6 %) и *E. cecorum* – 1 (2,6 %).

2. Количество желатиназоактивных штаммов *E. faecium* было достоверно выше среди энтерококков, выделенных от больных с НХП, нежели от здоровых лиц и составляло 14 (73,7 %) и 1 (16,7 %) соответственно.

3. Пенетрантность гемолитической активности у штаммов *E. faecium* составила 9 (47,4 %), все они были выделены от больных с НХП.

4. Установлена высокая резистентность *E. faecium* к Пенициллину, Ампициллину, к высоким уровням аминогликозидов, фторхинолонам. У гликозидов и Линезолида отмечается высокая противоэнтерококковая активность.

Наши данные подтверждают необходимость и целесообразность проведения мониторинга по антибиотикорезистентности энтерококков как важных возбудителей нозокомиальных и внебольничных инфекций.

ЛИТЕРАТУРА

1. Наказ № 167 Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» МОЗ України від 05.04.2007.
2. Antimicrobial resistance in Europe [Электронный ресурс]. – Режим доступа : //www.rivm.nl/earss.
3. Arias C. A. Management of multidrug-resistant enterococcal infections / C. A. Arias, G. A. Contreras, B. E. Murray // Clin Microbiol Infect. – 2010. – Vol. 16. – P. 555–562.
4. Fisher K. The ecology, epidemiology and virulence of *Enterococcus* / K. Fisher, C. Phillips // Microbiology. – 2009. – Vol. 155. – P. 11749 – 1757.

5. Ntziora F. Linezolid for the treatment of patients with central nervous system infection / F. Ntziora, M. E. Falagas // Ann. Pharmacother. – 2007. – № 41 (2) – P. 296-308.
6. Post-surgical enterococcal meningitis: Clinical and epidemiological study of 20 cases / R. Guardado, V. Asensi, J. Torres [et al.] // Scandinavian journal of infectious diseases. – 2006. – Vol. 38 (8). – P. 584–588.
7. Willems R. Transition of *Enterococcus faecium* from commensal organism to nosocomial pathogen / R. Willems, J. L. W. van Schaik // Future Microbiol. – 2009. – Vol. 4. – P. 1125–1135.



ФАКТОРИ ВІРУЛЕНТНОСТІ
ТА АНТИБІОТИКО
РЕЗИСТЕНТНІСТЬ
ENTEROCOCCUS FAECIUM,
ЯКІ ВИДІЛЕНІ ВІД ХВОРИХ
НА НЕЙРОХІРУРГІЧНУ
ПАТОЛОГІЮ

Л. Г. Мироненко

Резюме. У статті надано результати вивчення желатиназної, гемолітичної активностей і антибіотикорезистентності *E. faecium*, що виділені від 34 хворих на нейрохірургічну патологію. З патологічного матеріалу хворих ізольовано 37 ентерококків, з них 19 штамів – *E. faecium*. Встановлено, що кількість штамів *E. faecium*, що володіють желатиназною та гемолітичною активністю, складало 14 (73,7 %) та 9 (47,4 %) відповідно. Виявлено високу резистентність до Ампіциліну (98,5 %), до високих рівнів Гентаміцину (78,9 %), до Моксифлоксацину (100 %), до Гатіфлоксацину (72,7 %). Виявлено один штам (5,3 %), який резистентний до Ванкоміцину і Тейкопланіну. Усі штами були чутливі до Лінезоліду.

Ключові слова: *E. faecium*, фактори вірулентності, желатиназна і гемолітична активність, антибіотикорезистентність, хворі на нейрохірургічну патологію.

VIRULENCE FACTORS
AND ANTIBIOTICO
RESISTANCE OF
ENTEROCOCCUS FAECIUM,
ISOLATED FROM PATIENTS
WITH NEUROSURGICAL
PATHOLOGY

L. G. Myronenko

Summary. The article presents the results of study of gelatinase, hemolytic activity and antibiotic resistance of *E. faecium*, isolated from 34 patients with neurosurgical pathology. From the pathological material of patients isolated 37 enterococci, of them 19 strains - *E. faecium*. It has been established that the strains of *E. faecium*, having gelatinase and haemolytic activity were 14 (73.7%) and 9 (47.4%), respectively. Revealed high resistance to ampicillin (98.5%), high levels of gentamicin (78.9%), moxifloxacin (100%), gatifloxacin (72.7%). Found one strain (5.3%) resistant to vancomycin and teicoplanin. All strains were susceptible to linezolid.

Key words: *E. faecium*, virulence factors, gelatinase and hemolytic activity, antibiotic resistance. patients with neurosurgical pathology.