



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, Левифлоксацину, 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.).

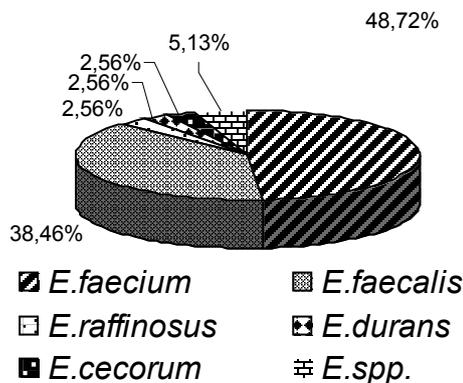


Рис. 1. Видовой состав энтерококков, выделенных от больных с заболеваниями ЦНС после оперативного вмешательства

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.

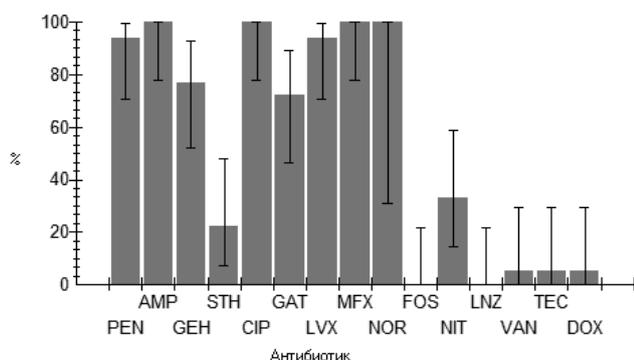


Рис. 2. Резистентность к антибиотикам *E. faecium*, выделенных от больных.

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.