

## АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРОФЛОРЫ РАН ОТКРЫТЫХ ПЕРЕЛОМОВ (II СООБЩЕНИЕ)

В.В. Гостев, З.С. Науменко, И.И. Маргель

ФГУ «РНИЦ «ВТО» им. академика Г.А. Илизарова Росмедтехнологий»,  
и.о. директора – д. м. н. профессор А.Т. Худяев  
г. Курган

Представлены результаты анализа антибиотикорезистентности у клинически значимых штаммов микроорганизмов, выделенных из ран у больных с открытыми переломами за период 2006–2008 гг. Выявлено, что грамположительные микроорганизмы достоверно характеризуются сдержанным ростом устойчивости к основным применяемым антибактериальным препаратам. Установлено увеличение числа MRSA и MRSE штаммов. Для энтерококков характерен линейный рост появления резистентных штаммов ко многим исследованным антибиотикам. Среди грамотрицательных микроорганизмов отмечено повышение резистентности к цефалоспорином III–IV поколений. Большинство штаммов неферментирующих бактерий (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*) были чувствительны к действию амикацина и имипенема.

Ключевые слова: открытые переломы, штаммы микроорганизмов, антибиотикорезистентность.

The study demonstrates the analysis of resistance to antibiotics of clinically common strains of microorganisms that were isolated from open fracture wounds in the patients admitted to our clinic within the period of 2006–2008. It was found that gram-positive bacteria feature a significantly restrained growth of resistance to universally used antibiotics. The increase in numbers of MRSA and MRSE stains was revealed. Enterococci feature a linear growth of resistant stains to most studied antibiotics. Gram-negative bacteria showed an increase in resistance to cephalosporins of generation III–IV. Most strains of non-fermenting bacteria (*Pseudomonas*, *Acinetobacter*) were sensitive to amikacin and imipenem.

**Key words:** open fractures, strains of microorganisms, resistance to antibiotics.

### Введение

Распространение в последнее время большого количества устойчивых микроорганизмов к различным группам антибактериальных препаратов носит эпидемиологическое, медицинское и социальное значение [8, 9]. Появляются сообщения о выделении мультирезистентных [10, 14, 16, 17] и панрезистентных штаммов бактерий в медицинских стационарах различного профиля во всем мире [11, 15, 18]. Особую значимость приобретают высоковирулентные и оппортунистические госпитальные штаммы микроорганизмов с множественной устойчивостью к антибиотикам [6, 10, 12, 16]. Терапия инфекций и гнойных осложнений после травм, в том числе открытых переломов, вызванных подобными микроорганизмами, становится очень проблематичной [1]. В предыдущем нашем сообщении [3] были представлены данные о видовом составе микрофлоры ран открытых переломов, выявлены клинически значимые штаммы бактерий, в настоящей работе представлены результаты анализа антибиотикорезистентности этих возбудителей.

**Цель** исследования – анализ и выявление изменения антибиотикорезистентности у клинически значимых микроорганизмов, выделенных из ран у больных с открытыми переломами.

### Материал и методы

Были получены и проанализированы антибиотикограммы 808 штаммов бактерий, относящихся к шести таксонам (*Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *Enterococcus spp.*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Escherichia coli*), выделенных из ран у больных с открытыми переломами за три года (2006–2008). Антибиотикочувствительность определяли диско-диффузионным методом на агаре Мюллера – Хинтона [5], в сомнительных случаях использовали микрометод серийных разведений (микротест-системы «BioMerieux», Франция): для стафилококков применяли «АТВ СТАРН 5», для энтерококков – «АТВ STREP 5», для грамотрицательных бактерий – «АТВ G-5». В набор тестируемых препаратов, согласно рекомендациям [5, 6], входили антибиотики первого ряда: для стафилококков – бензилпенициллин (ПЕН), ванкомицин (ВАН), гентамицин (ГЕН),

оксациллин (ОКС), клиндамицин (КЛИ), ципрофлоксацин (ЦИП), эритромицин (ЭР); для энтерококков – ПЕН, ВАН, ГЕН (120 мкг), стрептомицин 300 мкг (СТР), ЦИП; для ферментирующих бактерий – амикацин (АН), ГЕН, имипенем (ИМП), цефепим (ЦПМ), цефтазидим (ЦАЗ), ЦИП; для энтеробактерий – ампициллин (АМП), ГЕН, цефотаксим (ЦТК), ЦАЗ, ЦИП, ко-тримоксазол (Со). Все полученные результаты статистически обработаны с использованием z-критерия для сравнения долей с поправкой на непрерывность и поправкой Бонферони для множественных сравнений. Значимыми считали различия при  $p < 0,025$ , данные представлены в процентах с ошибкой доли [2]. Отдельно нами был определен условный коэффициент резистентности, который рассчитывали для каждого штамма по следующей формуле:

$$K = R / N,$$

где  $K$  – коэффициент резистентности,  $R$  – число антибиотиков, к которым исследуемый штамм резистентен,  $N$  – общее количество тестируемых антибиотиков для данного штамма.

Коэффициент варьирует от 0 до 1 и позволяет судить об относительной интегральной резистентности микроорганизма к ряду выбранных тестируемых антибиотиков (соответственно 0 будет означать отсутствие резистентности, 1 – наличие резистентности у изучаемого штамма ко всем тестируемым препаратам). В нашем исследовании представлены коэффициенты резистентности, рассчитанные для каждого исследуемого таксона. Сравнения проводили по t-критерию Стьюдента (значимыми считали различия при  $p < 0,05$ ). Данный показатель нами использовался для оценки динамики антибиотикорезистентности за трехлетний период.

## Результаты и обсуждение

Видовой состав микрофлоры ран у больных с открытыми переломами весьма разнообразен, но доминирующее положение по частоте встречаемости и клинической значимости занимают представители родов *Staphylococcus*, *Enterococcus*, *Pseudomonas*, *Acinetobacter*. Реже выделялись представители семейства Enterobacteriaceae [3]. Ниже представлены результаты анализа антибиотикограмм (табл.), а также дана оценка изменения антибиотикоустойчивости грамположительных и грамотрицательных бактерий.

Для золотистого стафилококка нами установлено достоверное повышение числа резистентных штаммов в 2007 г. к большинству антибиотиков, в 2008 г. роста числа устойчивых штаммов не наблюдалось. В частности, нами зарегистрировано увеличение количества резистентных

штаммов к действию ГЕН в 2007 г. по сравнению с 2006 г., тогда как в 2008 г. их количество снизилось и соответствовало уровню 2006 г. Аналогично наблюдался рост устойчивых изолятов к действию КЛИ (повышение приблизительно в два раза) и ЭР (в 1,4 раза).

В 2007 г. также статистически достоверно отмечен рост числа метициллинрезистентных штаммов. В 2008 г. количество MRSA снизилось и стало ниже уровня, зафиксированного в 2006 г. Ванкомицинрезистентных штаммов золотистого стафилококка за три года не обнаружено. Приблизительно на одном уровне осталось количество резистентных штаммов к ЦИП.

На рисунке 1 отображена динамика изменения резистентности штаммов *S. aureus* за три года с использованием коэффициента резистентности. Анализируя эти данные, можно отметить, что рост устойчивости к тестируемым препаратам у данного вида был незначительным, повышение наблюдалось лишь в 2007 г. и далее сохранялось на одном уровне.

Более выраженными изменения антибиотикорезистентности были у штаммов *S. epidermidis*. Так, возросло количество метициллинрезистентных эпидермальных стафилококков, из 40 изученных штаммов в 2006 г. были резистентны к ОКС 47,5%, в 2007 г. – 64,5%, а к 2008 г. из 36 штаммов как резистентные диагностированы уже 80,5% культур. К действию КЛИ также увеличилось количество устойчивых изолятов – в 2,9 раза к 2008 г. по сравнению с 2006 г. Такие же результаты мы получили при оценке динамики изменения коэффициента резистентности. Можно отметить, что на протяжении 2006–2007 гг. рост устойчивости фактически не наблюдался, а к 2008 г. отмечено скачкообразное возрастание значения коэффициента до 0,55 ( $p < 0,05$ ). Резистентность *S. epidermidis* к действию других препаратов оставалась на одном уровне, устойчивых штаммов к ВАН не выявлено.

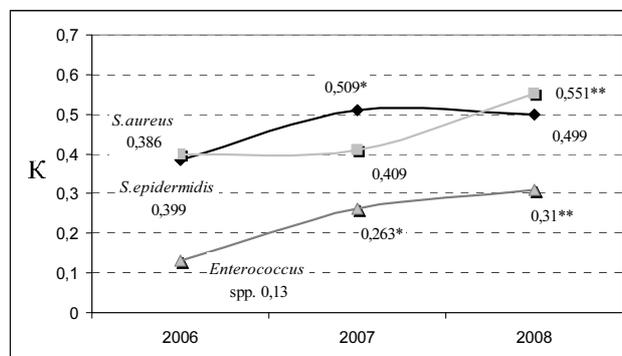


Рис. 1. Динамика резистентности к антибиотикам грамположительных бактерий (\* – достоверные различия при сравнении 2006–2007, \*\* – 2006–2008 гг.)

Таблица

Резистентность бактерий к действию антибиотиков, %

Бактерии	Антибиотик						
	ПЕН	ГЕН	КЛИ	ОКС	ЦИП	ЭР	N
<i>S. aureus</i>							
2006	98,0±1,5	42,0±5	27,2±4,5	40,4±5	24,2±4	42,4±5	99
2007	94,0±2	63,5±2*	52,6±4*	64,7±4*	23,7±3	58,3±8*	156
2008	87,4±3	31,0±4	34,0±4	32,0±4	29,0±4	39,2±4,2	135
<i>S. epidermidis</i>							
2006	90,0±4,7	45,0±8	25,0±7	47,5±8	20,0±6,3	52,5±8	40
2007	84,0±6,6	22,6±7,5	35,5±8,6	64,5±8,6	19,4±7	61,3±8,8	31
2008	75,0±7,2	50,0±8,3	72,2±7,5**	80,5±8,6**	38,8±8	72,2±7,5	36
<i>Enterococcus spp.</i>							
2006	23,0±8,2	0,0	4,0±3,5	69,2±9	н/п	н/п	26
2007	52,0±10*	26,0±9*	30,4±9,6*	13,0±7*	н/п	н/п	23
2008	87,0±7**	22,0±9**	21,7±8,6**	26,0±9**	н/п	н/п	23
<i>P. aeruginosa</i>							
2006	30,3±8	51,5±8,7	72,7±7,8	62,6±8	54,5±8,6	54,5±8,6	33
2007	26,0±6,2	56,0±7	38,0±7*	52,0±7	50,0±7	40,0±7	50
2008	16,6±6,2	61,1±8	19,4±6,6**	63,8±8	47,2±8,3	52,7±8,3	36
<i>A. baumannii</i>							
2006	30,0±7,2	72,5±7	12,5±5,2	52,5±8	57,5±8	65,0±7,5	40
2007	12,5±6,8	79,1±8,3	4,2±4	66,6±9,6	83,3±7,6*	75,0±9	24
2008	53,8±10	81,0±7,7	0,0	92,3±7,5**	85,0±7**	81,0±7,7	26
<i>E. coli</i>							
2006	77,7±14	22,2±14,2	11,1±14,2	22,2±14,2	22,2±14,2	44,4±12,5	9
2007	66,6±14	58,3±13	58,3±10,4*	58,3±13	58,3±13	75,0±16,5	12
2008	77,7±14	55,5±16,5	77,7±14**	66,6±16**	33,3±15,6	88,8±11**	9

N – количество штаммов; н/п – исследование не проводилось;

\* – статистически достоверные изменения при сравнении 2006–2007 гг. ( $p < 0,025$ );\*\* – статистически достоверные изменения при сравнении 2006–2008 гг. ( $p < 0,025$ ).

В последнее время особое внимание уделяется энтерококкам как микроорганизмам, часто встречающимся при различных гнойно-септических заболеваниях, характеризующимся высокой интенсивностью формирования различных механизмов резистентности [13, 19], и появлением среди них мультирезистентных госпитальных экотипов [9, 17]. В нашем исследовании штаммы *Enterococcus spp.*, выделенные из ран при открытых переломах, характеризовались ростом устойчивости к действию антибактериальных препаратов. Достоверно увеличивалось количество ( $p < 0,025$ ) резистентных штаммов к ПЕН, ГЕН, СТР как в 2007 г., так и в 2008 г. Лишь к одному из тестируемых препаратов – ЦИП – установлено снижение числа резистентных штаммов с 69,2% до 13% (2007 г.) и 26% (2008 г.). Устойчивых штаммов энтерококков к действию ВАН не выявлено. Линейный характер роста

подтверждается кривой коэффициента резистентности (см. рис. 1), видно последовательное увеличение устойчивости энтерококков к 5 тестируемым антибиотикам (с 0,13 до 0,3,  $p < 0,05$ ).

Таким образом, основываясь на полученных результатах, мы можем констатировать скачкообразный характер роста устойчивости грамположительных бактерий у обследованных больных.

Далее представлены результаты определения антибиотикорезистентности у грамотрицательных бактерий.

По результатам нашего анализа, устойчивость к антибактериальным препаратам синегнойной палочки была на достаточно высоком уровне, однако статистически достоверного роста числа резистентных штаммов за 2006–2008 гг. не обнаружено. Так, доля устойчивых штаммов к АН была в пределах 16,6–30,3%, к ГЕН 51,5–61,1%. Выявлено большое количество резистентных

штаммов к цефалоспорином: к ЦПМ 52,0–63,8% и ЦАЗ 47,2 – 54,5% штаммов. Отдельного внимания заслуживает изменение устойчивости *P. aeruginosa* к ИМП: в 2006 г. из 33 исследованных штаммов резистентными были 24 (72,7%), в 2007 доля резистентных штаммов снизилась до 38% (19 из 50 исследованных), а в 2008 г. – до 19,4% (7 из 36 штаммов). Показано, что для *P. aeruginosa* характерно снижение уровня резистентности к 2007 г., и дальнейшее отсутствие какой-либо динамики (рис. 2).

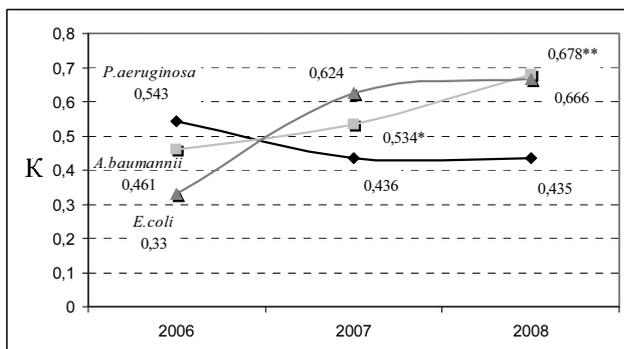


Рис. 2. Динамика резистентности к антибиотикам грамотрицательных бактерий (\* – достоверные различия при сравнении 2006–2007, \*\* – 2006–2008 гг.)

Другой представитель неферментирующих бактерий – *A. baumannii* – также характеризуется значительным количеством резистентных штаммов к действию антибиотиков. За анализируемый период отмечено увеличение числа устойчивых штаммов к действию цефалоспоринов; в то же время значимого роста устойчивости штаммов к другим группам антибиотиков не выявлено (см. табл.). Как и в случае с *P. aeruginosa*, можно отметить снижение количества резистентных штаммов к действию ИМП, но такое изменение было статистически не значимо. Для *A. baumannii* можно отметить медленный рост коэффициента резистентности в период 2006–2007 гг. и скачок в 2008 г. за счет повышения устойчивости к цефалоспорином (см. рис. 2).

Кишечная палочка редко встречалась в ранах открытых переломов. Поэтому мы можем сделать лишь условные выводы относительно изменения устойчивости к действию антибиотиков у данного микроорганизма. Выделенные штаммы *E. coli* характеризовались достаточно высокой устойчивостью ко многим антибиотикам, что согласуется с литературными данными [1, 4, 8]. Так, нами установлен статистически значимый рост числа резистентных штаммов к цефалоспорином и ко-тримоксазолу. К действию других препаратов роста устойчивости не обнаружено (см. табл.).

Подводя итог, следует отметить, что представители рассмотренных грамотрицательных бактерий отличались более выраженной устойчивостью к действию антибиотиков по сравнению с грамположительными бактериями.

## Выводы

На основе полученных нами данных можно отметить некоторые особенности антибиотикорезистентности и ее изменение у возбудителей, циркулирующих в отделении открытой травмы. Так, отмечено повышение резистентности стафилококков ко многим антибиотикам (ГЕН, КЛИ, ЭР), установлен рост числа штаммов MRSA, MRSE, что согласуется с результатами других исследований [10, 11, 14], нарастание уровня резистентности происходит скачкообразно, что было продемонстрировано с применением коэффициента резистентности. Иной характер развития устойчивости к действию антибиотиков отмечен у энтерококков: наблюдалось статистически достоверное линейное повышение резистентности ко всем тестируемым препаратам за исключением ЦИП, к которому в 2007–2008 гг. устойчивость снижалась.

Другая ситуация складывается по грамотрицательным бактериям. В специальной литературе растет число публикаций, посвященных резкому снижению чувствительности неферментирующих бактерий к действию антибиотиков в различных профильных стационарах [7, 8, 12, 16]. В нашем исследовании микроорганизмы данной группы проявляли достаточно умеренную устойчивость без интенсивного роста резистентности за три года.

Таким образом, устойчивость грамположительных бактерий, выделенных из ран открытых переломов, достоверно повышалась к следующим антимикробным препаратам: ГЕН, КЛИ, ЭР, ОКС. Для грамотрицательных микроорганизмов характерно повышение устойчивости к цефалоспорином (ЦПМ, ЦАЗ, ЦТК). Сохраняется чувствительность к действию ЦИП как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, отмечается значительное количество чувствительных штаммов неферментирующих бактерий к действию АН, ИМП.

## Литература

1. Борисов, И.В. Антибактериальная терапия при остеомиелите (систематизированный обзор) / И.В. Борисов, Ю.А. Амирасланов Л.А. Благун // Антибиотики и химиотерапия. – 2003. – № 9. – С. 37–40.
2. Гланц, С. Медико-биологическая статистика : пер. с англ. / С. Гланц. – М. : Практика, 1999. – 459 с.
3. Гостев, В.В. Микрофлора ран открытых переломов различной локализации (I сообщение) / В.В. Гостев,

- 3.С. Науменко, И.И. Мартель // Травматология и ортопедия России. — 2008. — № 4. — С. 63–66.
4. Меньшиков, Д.Д. Динамика антибиотикорезистентности возбудителей гнойно-септических процессов в стационаре скорой помощи / Д.Д. Меньшиков [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. — 2002. — № 8. — С. 12–15.
  5. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам МУК 4.2.1890-04 : метод, указания от 4.03.2004 / сост. Г.Г. Онищенко. — М., 2004. — 53 с.
  6. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / под ред. Л.С. Страчунского, Ю.Б. Белоусова, С.Н. Козлова. — Смоленск : НИИАХ СГМА, 2007. — 418 с.
  7. Решедько, Г.К. Аминогликозиды: перспективы клинического использования в стационарах России / Г.К. Решедько // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2008. — Т. 10, № 3. — С. 260–269.
  8. Решедько, Г.К. Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационарах России / Г.К. Решедько [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2008. — Т. 10, № 2. — С. 163–179.
  9. Сидоренко, С.В. Результаты многоцентрового исследования антибиотикочувствительности энтерококков / С.В. Сидоренко [и др.] // Антибиотики и химиотерапия. — 1998. — № 9. — С. 9–18.
  10. Страчунский, Ю.А. Внебольничные MRSA — новая проблема антибиотикорезистентности / Ю.А. Страчунский, Л.С. Белькова, А.В. Дехнич // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2005. — Т.7, №1 — С. 32–46.
  11. Шагинян, И.А. Молекулярная эпидемиология инфекций, вызываемых метициллиноустойчивыми стафилококками / И.А. Шагинян, О.А. Дмитриенко // Журн. микробиологии. — 2003. — № 3. — С. 99–109.
  12. Bratu, S. Role of AmpD, OprF and penicillin — binding proteins in  $\beta$ -lactam resistance in clinical isolates of *Pseudomonas aeruginosa* / S. Bratu, D. Landman, J. Gupta, J. Quale // J. Med. Microbiol. — 2007. — Vol. 56. — P. 809–814.
  13. Comenge, Y. The CroRS two-component regulatory system is required for intrinsic  $\beta$ -lactam resistance in *Enterococcus faecalis* / Y. Comenge [et. al.] // J. Bacteriol. — 2003. — Vol. 24, N 185. — P. 7184–7192.
  14. Debra, A.G. Prevalence and regional variation in methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in the USA and comparative in vitro activity of tigecycline, a glycylicycline antimicrobial / A. G. Debra M. J. Dowzicky // J. Med. Microbiol. — 2007. — Vol. 56. — P. 1189–1195.
  15. Falagas, M. E. The diversity of definitions of multidrug — resistant (MDR) and pandrug — resistant (PDR) *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa* / M.E. Falagas, P.K. Koletsis, A. Bliziotis // J. Med. Microbiol. — 2006. — Vol. 55. — P. 1619–1629.
  16. Gailiene, G. The peculiarities of *Pseudomonas aeruginosa* resistance to antibiotics and prevalence of serogroups / G. Gailiene, A. Pavilionis, V. Kareiviene // Medicina (Kaunas). — 2007. — Vol. 43, N 1. — P. 36–42.
  17. Huycke, M.M. Multiple-drug resistant Enterococci: the nature of the problem and an agenda for the future / M.M. Huycke, D.F. Sahn, S.M. Gilmore // Emerg. Infect. Dis. — 1998. — Vol. 2, N 4. — P. 239–249.
  18. Nemeš, A. Long-term predominance of two pan-European clones among multi-resistant *Acinetobacter baumannii* strains in the Czech Republic / A. Nemeš, L. Dijkshoorn, J.K. Reijden // J. Med. Microbiol. — 2004. — Vol. 53. — P. 147–153.
  19. Ono, S. Mechanisms of resistance to imipenem and ampicillin in *Enterococcus faecalis* / S. Ono, T. Muratani, T. Matsumoto // Antimicrob. Agents Chemother. — 2005. — Vol. 7. — P. 2954–2958.
- Контактная информация:**  
 Науменко Зинаида Степановна — к.б.н. зав. научно-клинической лабораторией микробиологии и иммунологии  
 e-mail: zinaida\_n@inbox.ru;  
 Гостев Владимир Валерьевич — м.н.с. научно-клинической лаборатории микробиологии и иммунологии;  
 Мартель Иван Иванович — д.м.н. зав. научно-клинической лабораторией травматологии.

## OPEN FRACTURE WOUND MICROFLORA RESISTANCE TO ANTIBIOTICS (II REPORT)

V.V. Gostev, Z.S. Naumenko, I.I. Martel