

АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ПЕРИИМПЛАНТНОЙ ИНФЕКЦИИ

Гординская Н.А.¹, Митрофанов В.Н.¹, Комаров Р.Н.¹, Сабирова Е.В.¹, Абрамова Н.В.¹

¹ФГБУ «ПФМИЦ» Минздрава России, Нижний Новгород, e-mail: info@niiito.ru

Анализ возбудителей периимпантной инфекции показал значительное многообразие и ведущую этиологическую роль стафилококков, составляющих практически 2/3 всей выделенной микрофлоры. Молекулярно-генетическими исследованиями выявлено наличие *mecA* гена у каждого третьего стафилококка. Фенотип метициллинрезистентных стафилококков обнаружен как среди золотистых, так и среди коагулазонегативных штаммов. Среди грамотрицательных бактерий выделялись ферментирующие (*Klebsiella oxitoca*, *Enterobacter cloacae*) и неферментирующие палочки (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*). Два выделенных штамма энтеробактерий продуцировали β-лактамазы расширенного спектра и были чувствительны только к карбапенемам. Ацинетобактеры (два штамма *Acinetobacter baumannii* из трех выделенных) являлись носителями гена OXA-40 подобных карбапенемаз, проявляя чувствительность только к карбапенемам и тигециклину. Псевдомонады были чувствительны к аминогликозидам, цефалоспорином и карбапенемам. Энтерококки (3 штамма) были чувствительны ко всем антибактериальным препаратам.

Ключевые слова: периимпантная инфекция, антибиотикорезистентность, *mecA* ген, β-лактамазы расширенного спектра, OXA-40 карбапенемазы.

ANTIBIOTIC RESISTANCE OF PERIIMPLANT INFECTION AGENTS

Gordinskaya N.A., Mitrofanov V.N., Komarov R.N., Sabirova E.V., Abramova N.V.

Federal State Budgetary Institution «Privolzhsky Federal Research Medical Centre» of the Ministry of Health of the Russian Federation, e-mail: info@niiito.ru

The analysis of periimplant infection agents showed a leading etiological role of staphylococci, accounting for 2/3 of all isolated microflora. Molecular genetic research revealed the presence of *mecA* gene in every third staphylococcus. The phenotype of methicillin-resistant staphylococci was found both in aureus and coagulase-negative strains. Among the Gram-negative bacteria the fermenting (*Klebsiella oxitoca*, *Enterobacter cloacae*) and non-fermentative bacillus (*Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*) were separated (isolated). Two isolated enterobacteria strains produced extended-spectrum β-lactamases and were susceptible to carbapenems only. Acinetobacters (two strains of *Acinetobacter baumannii* in three isolated strains) were carriers of OXA-40-like carbapenemase gene. *Pseudomonas* were sensitive to aminoglycosides, cephalosporins and carbapenems. Enterococci (3 strains) were susceptible to all antimicrobial drugs.

Keywords: paraendoprosthetic infection, antibiotic resistance, *mecA* gene, extended-spectrum β-lactamases, OXA-40 carbapenemases.

Актуальность. На протяжении последних десятилетий операции эндопротезирования тазобедренного и коленного суставов занимают ведущее место в лечении дегенеративных заболеваний и последствий травматических повреждений суставов [1; 9]. В то же время многочисленные научные исследования последних лет свидетельствуют о том, что проблема инфекционных осложнений при эндопротезировании крупных суставов сохраняет высокую актуальность. Эти осложнения требуют многоэтапного лечения с выполнением хирургических вмешательств, что сопровождается длительностью госпитализации больных и делает их лечение дорогостоящим [4, 6].

Частота выявления возбудителей периимпантной инфекции у пациентов с эндопротезированием тазобедренного сустава по данным литературы составляет 1-4% [3, 5,

8]. После ревизионных операций частота обнаружения возбудителей инфекционных процессов достигает 7,8% [7].

В этиологии периимплантной инфекции существенное значение имеют антибиотико-резистентные возбудители, являющиеся, как правило, внутрибольничными штаммами. Показано, что присутствие импланта в организме человека многократно снижает минимальную дозу микроорганизмов, необходимую для развития инфекционного процесса [10].

Целью настоящего исследования было изучение структуры микроорганизмов-возбудителей периимплантной инфекции и определение уровня их антибиотикорезистентности для оптимизации антибиотикопрофилактики при ревизионном эндопротезировании.

Материал и методы. В работе проанализирована микрофлора, выделенная у пациентов с инфекцией после первичного эндопротезирования, лечившихся в Нижегородском НИИ травматологии и ортопедии в 2011-2013 гг. Всего выделено 28 микроорганизмов.

Видовая идентификация микрофлоры проводилась на анализаторе iEMS Reader FM (Labsystems, Финляндия) с помощью набора тест-систем (Lachema, Чехия). Антибиотикорезистентность оценивалась диско-диффузионным методом на агаре Мюллера-Хинтон с помощью сенси-дисков (BioRad, Англия) в соответствии с методическими указаниями 4.2.1890-04 [2].

Детекцию бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) проводили с помощью E-тестов с цефтазидимом и цефтазидимом/клавуланатом (BioMerieux, Франция) по инструкции. Для сравнения зоны задержки роста использовали штамм E.coli ATCC 25922, не продуцирующий бета-лактамазы и штамм E.coli ATCC 700603, продуцирующий БЛРС.

Наличие *mec A* гена стафилококков определяли методом полимеразноцепной реакции. Амплификация проводилась на приборе «Rotor Gene 6000» в соответствии с методическими указаниями к набору «АмплиСенс MRSA-скрин-титр-FL» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия). Детекция продуктов амплификации проводилась в режиме реального времени. Выявление генов OXA-карбапенемаз (группы OXA-23, OXA-58 и OXA-40 подобных) и видоспецифических (ген OXA-51) β-лактамаз *Acinetobacter baumannii* осуществляли методом ПЦР с гибридационно-флюоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени».

Анализ видового состава микрофлоры и устойчивости к антибактериальным препаратам осуществляли с помощью компьютерной программы «Микроб-автомат».

Результаты и обсуждение.

Результаты анализа микрофлоры показали, что при развитии периимплантной инфекции наиболее часто выделяются стафилококки (таб.1).

Таблица 1

Видовая структура возбудителей парапротезной инфекции (число штаммов)

Название	количество
<i>S.aureus</i>	10
CoNS	9
<i>E.faecalis</i>	3
<i>A.baumannii</i>	3
<i>K.oxitoca</i>	1
<i>P.aeruginosa</i>	1
<i>E.cloacae</i>	1

Более половины, точнее 19 из 28 выделенных микроорганизма, – это стафилококки, среди которых было 10 коагулазоположительных (*S.aureus*) и 9 коагулазоотрицательных (CoNS) штаммов. Проведенные молекулярные исследования показали, что каждый третий стафилококк-возбудитель периимплантной инфекции, является носителем *mecA* гена, кодирующего продукцию дополнительного пенициллинсвязывающего белка (3 штамма метициллинрезистентных золотистых - MRSA и 3 штамма метициллинрезистентных коагулазонегативных – MRCoNS стафилококка), что фенотипически проявляется полирезистентностью к антибактериальным препаратам и требует для эрадикации возбудителя и купирования инфекции назначения особенной антибактериальной терапии.

У двух пациентов были выделены энтеробактерии – *Enterobacter cloacae* и *Klebsiella oxitoca*. Оба штамма оказались продуцентами бета-лактамаз расширенного спектра, были резистентны ко всем цефалоспорином и умеренно резистентны к ингибиторзащищенным препаратам (таб. 2).

Таблица 2

Резистентность энтеробактерий (S-чувствительный, R-резистентный)

Антибиотик\микроорганизм	<i>Enterobacter cloacae</i>	<i>Klebsiella oxitoca</i>
Цефокситин	R	R
Цефотаксим	R	R
Цефтазидим	R	R
Цефтриаксон	R	R
Цефуроксим	R	R

Цефепим	R	R
Цефоперазон/сульбактам	I	I
Нетилмицин	S	S
Имипенем	S	S
Меропенем	S	S
Дорипенем	S	S
Пиперациллин/тазобактам	I	I

Карбапенемы были активны в отношении энтеробактера и клебсиеллы.

Кроме энтеробактерий среди грамотрицательных палочек было три штамма ацинетобактерий. Молекулярно-генетические исследования подтвердили видовую принадлежность выделенных ацинетобактеров, все три штамма обладали видоспецифическим геном OXA-51, следовательно, принадлежали к виду *Acinetobacter baumannii*. Два штамма проявили наличие гена OXA-40 подобных карбапенемаз, фенотип резистентности *Acinetobacter baumannii* представлен в таблице 3.

Таблица 3

Резистентность ацинетобактеров

Антибиотик\микроорганизм	<i>A. baumannii</i> OXA-40 (+)	<i>A. baumannii</i> OXA-40 (-)
Ампициллин/сульбактам	R	I
Цефоперазон/сульбактам	R	R
Тикарциллин/клавуланат	R	R
Цефтазидим	R	R
Цефепим	R	R
Пиперациллин/тазобактам	R	R
Нетилмицин	R	S
Имипенем	S	S
Меропенем	S	S
Дорипенем	I	S
Тигециклин	S	S

В целом выделенные ацинетобактеры являются полирезистентными и чувствительны только к карбапенемам и тигециклину. Однако, штаммы, продуцирующие карбапенем

гидролизующие ОХА-40 подобные β -лактамазы отличаются максимальной резистентностью, проявляя устойчивость к нетилмицину и дорипенему.

Небольшое количество микроорганизмов не дает возможности определить истинное соотношение числа резистентных и чувствительных штаммов в этиологии периимплантной инфекции, вместе с тем, результаты детекции генов, кодирующих продукцию тех или иных ферментов, обуславливающих устойчивость микроорганизмов к антибактериальным препаратам, свидетельствует о необходимости «особых» протоколов антибиотикотерапии при ревизионном эндопротезировании.

Выводы:

1. Возбудители периимплантной инфекции нередко обладают фенотипом полирезистентных госпитальных микроорганизмов. Из 28 проанализированных микроорганизмов у 10 штаммов выявлены различные гены антибиотикорезистентности.

2. Полирезистентность к антибактериальным препаратам характерна как для грамположительных, так и для грамотрицательных бактерий. Метициллинрезистентные стафилококки с равной частотой обнаружены среди золотистых и среди коагулазонегативных видов.

3. Выделенные энтеробактерии и ацинетобактерии продуцируют различные β -лактамазы.

4. Для лечения периимплантной инфекции необходимо тщательное микробиологическое обследование с привлечением молекулярно-генетических методов для назначения адекватной антибактериальной терапии.

Список литературы

1. Ахтямов И.Ф., Гарифуллов Г.Г. Новые способы профилактики интраоперационных и ранних послеоперационных осложнений при эндопротезировании тазобедренного сустава // Вестн. травматологии и ортопедии им. Н.Н. Приорова. 2010. №1. С. 25-28.
2. Методические указания МУК 4.2.1890-04 «Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам». М., 2004. 92с.
3. Муконин А.А., Петроченков В.И. Инфекционные осложнения после эндопротезирования крупных суставов как актуальная проблема современной ортопедии. Часть 1. Этиология, патогенез, клиника и диагностика // Проблемы клинич. медицины. 2007. №2. С. 98-102.

4. Павлов В.В. Прогнозирование, диагностика, профилактика и лечение инфекции области хирургического вмешательства при эндопротезировании тазобедренного сустава: автореф. дис. ... д-ра мед. наук. Новосибирск, 2008. 47 с.
5. Пичхадзе И.М., Кузьменков К.А., Жадин А.В. Лечение больных с гнойно-воспалительными осложнениями после эндопротезирования тазобедренного сустава // Вестн. травматологии и ортопедии. 2011. № 2. С.20-25.
6. Эндопротезирование при ранениях, повреждениях и заболеваниях тазобедренного сустава /В.К.Николенко и др. М.: Медицина, 2009. 356 с.
7. Failure rates for 4762 revision total hip arthroplasties in the Norwegian Arthroplasties Register / S.A. Lie. [et al.] //J.Bone Jot. Surg. 2004. Vol.13, N4. P.504-509.
8. Prosthetic joint infection risk after total hip arthroplasty in the medicare population/ K.L.Ong [et al.] //J. Arthroplasty.2009. Vol. 24 (6 Suppl.). P.105-109.
9. Struelens B., Claes S., Bellemans J. Spacer-related problems in two-stage revision knee arthroplasty // Acta Orthop. Belg. 2013. Vol.79, N4. P.422-426.
10. Zimmerli W., Trampuz A. Biomaterials-associated infection: a perspective from the clinic// Biomaterials-associated infection: immunological aspects and antimicrobial strategies /Moriarty T.F., Zaat S.A.J., Busscher H. (eds.).NY: Springer; London: Heidelberg Dordrecht, 2013. P.3-24.

Рецензенты:

Королев С.Б., д.м.н., заведующий кафедрой травматологии, ортопедии и военно-полевой хирургии им.М.В.Колокольцева, ГБОУ ВПО «НижГМА» Минздрава России, г. Нижний Новгород;

Малышев Е.С., д.м.н., профессор кафедры хирургии ФКПВ (курс травматологии и ортопедии) НижГМА Минздрава России, г. Нижний Новгород.