

Особенности микробной колонизации новорожденных в отделении реанимации и интенсивной терапии

Л.А. Любасовская, Т.В. Припутневич, А.С. Анкирская, Д.Н. Дегтярев, А.Г. Антонов, О.В. Ионов, И.В. Никитина, Н.А. Приходько

Научный центр акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова, Москва

Features of microbial colonization in neonatal intensive care unit babies

L.A. Lyubasovskaya, T.V. Priputnevich, A.S. Ankirskaya, D.N. Degtyarev, A.G. Antonov, O.V. Ionov, I.V. Nikitina, N.A. Prikhodko

V.I. Kulakov Research Center of Obstetrics, Gynecology, and Perinatology, Moscow

Цель исследования: выявить особенности этиологической структуры возбудителей госпитальных инфекций у новорожденных различных весовых групп. Изучены особенности бактериальной колонизации и инфекции у новорожденных, находящихся на выхаживании в отделении реанимации и интенсивной терапии. Проведен ретроспективный анализ результатов микробиологических исследований различного клинического материала от новорожденных. Обнаружено преобладание в этиологической структуре метициллинрезистентных коагулазонегативных стафилококков во всех весовых группах, а также преобладание *non albicans* видов дрожжевых грибов рода *Candida* в группе новорожденных с очень низкой и экстремально низкой массой тела. Регулярное слежение за циркулирующими в отделении условно-патогенными микроорганизмами, установление их этиологической роли в инфекциях, а также особенности антибиотикорезистентности позволяют установить полноценный микробный пейзаж отделения. Это дает возможность врачам ориентироваться в эпидемиологической ситуации отделения и назначить направленную эмпирическую антибактериальную терапию госпитальных инфекций до получения результатов микробиологического исследования.

Ключевые слова: новорожденные, коагулазонегативные стафилококки, колонизация, госпитальная инфекция, антибиотикорезистентность.

The objective of this investigation was to reveal the features of the etiological structure of the causative agents of hospital infections in newborn infants of different weight groups. The specific features of bacterial colonization and infection were studied in neonatal intensive care unit infants. The results of microbiological analysis of various clinical materials from the newborns were retrospectively analyzed. The etiological structure of causative agents showed a preponderance of methicillin-resistant coagulase-negative staphylococci in all the weight groups and that of *Candida non albicans* in very low and extremely low birth weight infants. To regularly monitor the opportunistic microorganisms circulating in the unit and to establish their etiological role in infections and their antibiotic resistance enable one to gain insight into the complete microbial picture of the unit. This allows physicians to orient themselves in the epidemiological situation of the unit and to use directed empirical antibiotic therapy for hospital infections before receiving the results of microbiological testing.

Key words: newborn babies, coagulase-negative staphylococci, colonization, hospital infection, antibiotic resistance.

Приоритетным направлением реанимации новорожденных в последние годы является выхаживание

© Коллектив авторов, 2013

Ros Vestn Perinatol Pediat 2013; 3:87–91

Адрес для корреспонденции: Любасовская Людмила Анатольевна — врач-бактериологической лаборатории микробиологии отдела микробиологии и клинической фармакологии Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова

Припутневич Татьяна Валерьевна — к.м.н., гл.н.с. той же лаборатории Анкирская Алла Семеновна — д.м.н., проф., научный консультант той же лаборатории

Дегтярев Дмитрий Николаевич — д.м.н., проф., рук. отдела неонатологии и педиатрии

Антонов Альберт Григорьевич — д.м.н., проф., гл.н.с. отделения реанимации и интенсивной терапии новорожденных отдела неонатологии и педиатрии

Ионов Олег Вадимович — к.м.н., зав. отделением реанимации и интенсивной терапии новорожденных

Никитина Ирина Владимировна — к.м.н., врач того же отделения

Приходько Наталья Александровна — мл.н.с. отделения

117997 Москва, ул. Акад. Опарина, д.4

глубоконедоношенных детей, что представляет собой трудоемкий и дорогостоящий процесс. Его осложняет необходимость профилактики госпитальных инфекций. Глубоконедоношенные дети с очень низкой (1000–1500 г) и экстремально низкой (500–999 г) массой тела — особый контингент больных. Это связано с физиологической незрелостью их органов и систем (особенно иммунной). Существенную роль среди факторов риска развития госпитальной инфекции играет необходимость частых инвазивных манипуляций и длительная потребность в реанимационной помощи и выхаживании.

В неонатальных отделениях Научного центра акушерства, гинекологии и перинатологии им. В.И. Кулакова более 20 лет ведется мониторинг микробной колонизации новорожденных, который включает регулярные посевы со слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта (мазки из зева, кал), а при необходимости — отделяемого из трахеи, пупочной ранки,

конъюнктивы, поврежденной кожи, крови, мочи, ликвора, асцитической и плевральной жидкостей [1].

В последние годы в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных увеличивается число глубоко недоношенных детей. Поэтому целью настоящего исследования было выявить особенности видового спектра микроорганизмов при колонизации и при развитии инфекционного процесса у детей различных весовых групп.

ХАРАКТЕРИСТИКА ДЕТЕЙ И МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ

Исследование проводили с января 2010 г. по январь 2012 г. среди новорожденных, госпитализированных в отделение реанимации и интенсивной терапии. Обследованы 523 ребенка. В анализ включены результаты по 405 новорожденным, обследованным в динамике. Исключены из анализа 118 новорожденных, которые были обследованы однократно только при рождении. Были проанализированы:

1. Результаты посевов со слизистых оболочек зева и прямой кишки. Взятие материала осуществляли каждые 3 дня в течение всего срока пребывания ребенка в отделении реанимации, начиная с рождения. Все выделенные микроорганизмы считали комменсалами, а процесс определили как «колонизация».

2. Результаты посевов отделяемого трахеи, крови, мочи, ликвора, асцитической и плевральной жидкости, отделяемого пупочной ранки, поврежденной кожи, конъюнктивы, взятых при подозрении на очаговую инфекцию. Выделенные микроорганизмы условно определили как «возбудители инфекции».

Проведен сравнительный анализ полученных данных по «колонизации» и «возбудителям инфекции».

В зависимости от массы тела при рождении новорожденные были разделены на три группы: 1-я группа — 131 ребенок с массой тела менее 1500 г; 2-я группа — 160 детей с массой тела 1500–2500 г; 3-я группа — 114 детей с массой тела более 2500 г.

У 405 новорожденных было взято 3130 проб со слизистых прямой кишки и зева и 544 пробы биоматериала из очагов инфекций. Взятие материала осуществляли стерильными тампонами, которые помещали в транспортную среду. Прямые посевы тампоном с патологическим материалом проводили на 5% кровяной агар, среды Эндо, Сабуро и в сахарный бульон. В течение 48 ч оценивали наличие или отсутствие роста микроорганизмов. Идентификацию выделенных культур осуществляли с помощью автоматического бактериологического анализатора Vitec 2 Compact (BioMérieux, США) и метода MALDI TOF MS на масс-спектрометре Autoflex III с программным обеспечением MALDI Biotyper (Bruker Daltonik, Германия).

Посевы крови, ликвора, асцитической и плевраль-

ной жидкости проводили во флаконы с питательной средой для культивирования в автоматическом гематологическом анализаторе Bact/Alert (BioMérieux, США). Для определения чувствительности выделенных штаммов к антибактериальным препаратам использовали дискодиффузионный метод, а также определяли минимальную подавляющую концентрацию антибиотика с помощью автоматического анализатора Vitec 2 Compact (BioMérieux, США).

Высеваемость микроорганизмов различных семейств, родов и видов оценивали в процентах по отношению к общему количеству выделенных штаммов. Также в процентах оценивали наличие или отсутствие основных маркеров антибиотикорезистентности (метициллинорезистентность у стафилококков и наличие бета-лактамаз расширенного спектра у энтеробактерий).

РЕЗУЛЬТАТЫ

За анализируемый период от новорожденных выделено 2825 штаммов различных условно-патогенных микроорганизмов: от детей 1-й группы — 1407, от детей 2-й группы — 789, от детей 3-й группы — 629; в том числе из очагов инфекций выделено 154 штамма: от детей 1-й группы — 85, от детей 2-й группы — 24, от детей 3-й группы — 45. Среднее количество проб на одного ребенка в 1-й группе составило 14, во 2-й и 3-й группах — по 7. Это различие связано с тем, что в среднем длительность пребывания (количество койко-дней) в отделении детей 1-й группы была значительно выше, чем детей двух других групп.

Высеваемость различных видов условно-патогенных микроорганизмов, колонизирующих желудочно-кишечный тракт новорожденных в отделении реанимации и интенсивной терапии, представлена на рис. 1. Как видно, чаще во всех трех группах новорожденных желудочно-кишечный тракт колонизировали коагулазонегативные стафилококки (CoNS) — от 38 до 47%. Особого внимания заслуживает тот факт, что абсолютное большинство CoNS (90–95%) составили метициллинрезистентные штаммы (MRCoNS), которые обнаруживались у новорожденных с первых дней жизни независимо от массы тела. Золотистый стафилококк выделяли редко: у 0,8% детей в 1-й и 3-й группах; у 1,3% — во 2-й группе. Все штаммы *Staphylococcus aureus* были метициллинчувствительными (MS).

На втором месте по колонизации желудочно-кишечного тракта во всех группах были представители семейства *Enterobacteriaceae* — 22–24% (см. рис. 1). По видовому составу у недоношенных детей (1-я и 2-я группы) преобладали *Enterobacter spp.*, среди них доминировал вид *Enterobacter cloacae*, подавляющее большинство штаммов которого обладали множественной устойчивостью к антибиотикам и продуцировали бета-лактам-

мазы расширенного спектра: 93% штаммов в 1-й группе и 79% — во 2-й. В 3-й группе (доношенные дети) преобладали *E.coli* и *Klebsiella spp.* (преимущественно *Kl.pneumoniae*). Штаммы *E.coli* во всех случаях были чувствительны к большинству антибактериальных препаратов. Среди *Klebsiella spp.* 46% были продуцентами бета-лактамаз расширенного спектра. Количество полирезистентных штаммов энтеробактерий в группе глубоконедоношенных детей превышало таковое в двух других группах (72% — в 1-й группе, 54% — во 2-й и 40% — в 3-й группе).

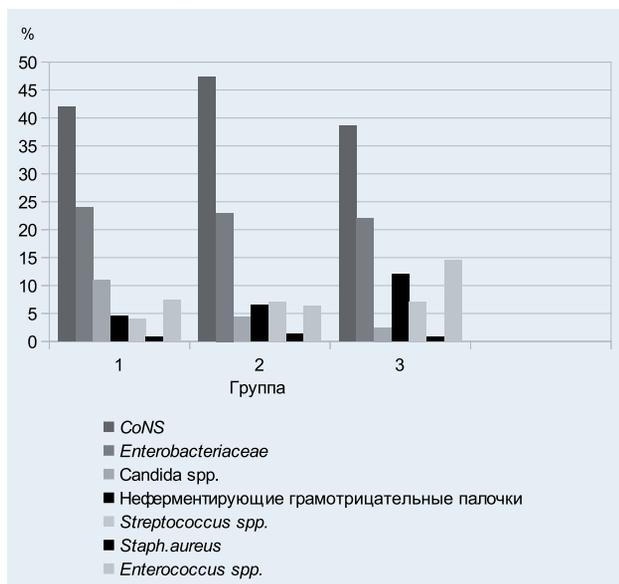


Рис. 1. Высеваемость различных видов условно-патогенных микроорганизмов, колонизирующих желудочно-кишечный тракт новорожденных.

Третье место по частоте колонизации желудочно-кишечного тракта в 1-й группе занимали дрожжевые грибы рода *Candida*. В двух других группах дети чаще колонизировались энтерококками (*E. faecalis*, *E. faecium*, *E. durans*, *E. casseliflavus*), альфа-гемолитическими стрептококками и неферментирующими грамотрицательными бактериями (*Acinetobacter spp.*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Chryseobacterium indologenes*, *Pseudomonas aeruginosa*). Высеваемость дрожжевых грибов составляла соответственно 11,4 и 2,5% в трех обследованных группах и была тесно связана с массой тела детей при рождении: чем меньше масса тела, тем выше высеваемость грибов. Причем доля грибов видов *Candida non-albicans* уменьшалась с ростом массы тела при рождении. Так, в группе глубоконедоношенных детей (1-й группа) доля видов *Candida non-albicans* составила 83%; во 2-й группе — 64%; в 3-й — 47%. В 1-й группе 60% штаммов грибов были представлены видом *C. famata*, устойчивым к флюконазолу (рис. 2).

При анализе результатов микробиологического исследования биоматериала, полученного из очагов инфекций, также была отмечена лидирующая роль

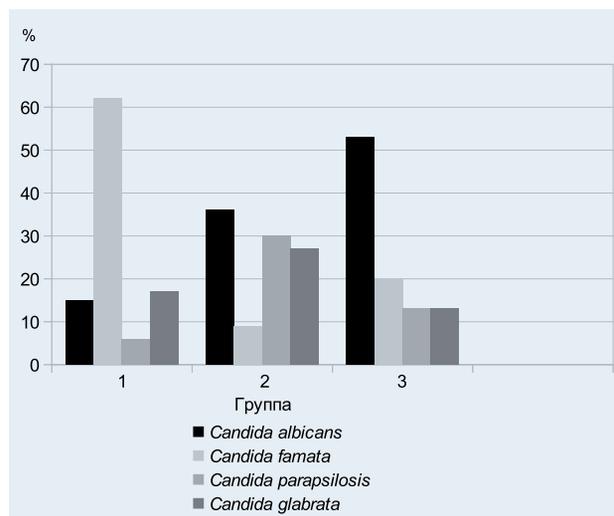


Рис. 2. Высеваемость различных видов грибов рода *Candida* из желудочно-кишечного тракта у наблюдаемых новорожденных.

CoNS в спектре микроорганизмов во всех группах новорожденных — 60, 71, 40% (рис. 3). У глубоконедоношенных новорожденных из очагов инфекций наряду с CoNS сравнительно часто выделяли дрожжевые грибы рода *Candida* (16%), которые во всех случаях принадлежали к видам *non-albicans*: *C. famata* (64%), *C. glabrata* (28,5%), *C. sake* (7,5%). Во 2-й группе абсолютными лидерами были CoNS (их высеваемость составила 71%), другие бактерии обнаруживали значительно реже, а дрожжевые грибы отсутствовали. В 3-й группе одинаково часто (около 40%) высевались из очагов инфекций CoNS и неферментирующие грамотрицательные бактерии. Значительно реже (менее 10%) встречались энтерококки и энтеробактерии. Дрожжевые грибы обнаружены не были.

Обращало на себя внимание, что хотя энтеро-

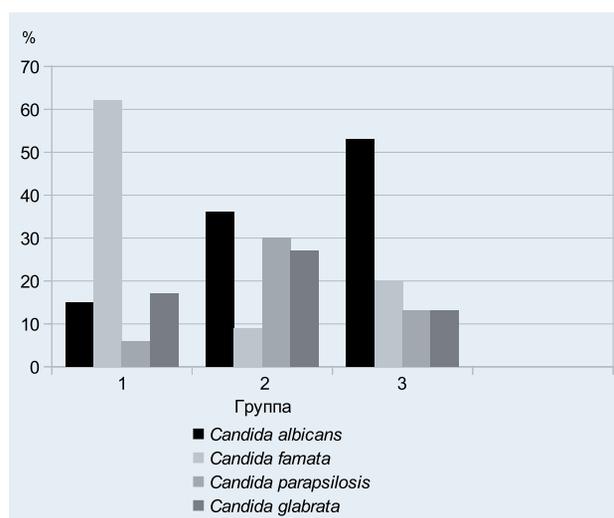


Рис. 3. Высеваемость различных видов условно-патогенных микроорганизмов, выделенных из очагов инфекции у наблюдаемых новорожденных.

бактерии занимали второе место при колонизации слизистых оболочек желудочно-кишечного тракта, их роль в возникновении госпитальных инфекций не была столь заметной во всех группах новорожденных, несмотря на то что многие из выделенных штаммов обладали множественной лекарственной устойчивостью.

ОБСУЖДЕНИЕ

Известно, что в современных условиях рациональная антибактериальная терапия нозокомиальных инфекций невозможна без оперативных знаний об этиологической структуре заболеваний и антибиотикорезистентности возбудителей. Поэтому регулярное слежение за изменениями видового состава микробных популяций, циркулирующих в конкретном родовспомогательном учреждении, а также изучение их антибиотикорезистентности должно быть рутинной практикой. Следует учитывать и такую уникальную особенность инфекций раннего неонатального периода, как значительные различия видового состава микроорганизмов, вызывающих внутриутробные инфекции (дикие штаммы, преимущественно чувствительные к антибиотикам) и «поздние» инфекции (госпитальные штаммы, преимущественно полирезистентные), что также должно влиять на выбор схем эмпирической и рациональной антимикробной терапии. Внутриутробные инфекции проявляются чаще в первые 72 ч жизни, среди возбудителей доминируют *E.coli* и *Streptococcus agalactiae* [2]. Штаммы *E.coli* чаще всего чувствительны к большинству антибактериальных препаратов. «Поздние» неонатальные инфекции в основном госпитальные, и возбудителями их являются MRCoNS, дрожжевые грибы рода *Candida* [1–7]. Тяжесть соматического состояния пациентов отделения реанимации и интенсивной терапии и массивная антибиотикотерапия определяют формирование микроценозов, сильно отличающихся от присущих в норме тому или иному биотопу.

При изучении колонизации слизистых желудочно-кишечного тракта новорожденных довольно часто обнаруживают метициллинрезистентные штаммы коагулазонегативных стафилококков — MRCoNS, однако их роль как потенциальных возбудителей госпитальных инфекций недооценивается. В нашем исследовании эти микроорганизмы были первыми, заселявшими слизистые желудочно-кишечного тракта новорожденного. На 2–3-и сутки они формируют микробиоценоз слизистых желудочно-кишечного тракта в ассоциации с грамотрицательными палочками (главным образом, лактозоположительными негемо-

литическими эшерихиями). Имеются сообщения [8], что у детей с ранней неонатальной дизадаптацией чаще обнаруживаются CoNS с увеличенным патогенным потенциалом (антибиотикорезистентность и гемолитические свойства), чаще встречаются дрожжевые грибы рода *Candida* и потенциально патогенные энтеробактерии (гемолитические лактозонегативные эшерихии, клебсиеллы, протей).

Некоторые авторы приоритетными патогенами нозокомиальных инфекций в отделениях реанимации и интенсивной терапии в современных условиях называют грамотрицательные аэробные и факультативно-анаэробные палочки [9]. Однако роль полирезистентных CoNS, как возбудителей госпитальных инфекций в родовспомогательных учреждениях, неоднократно отмечается и российскими (Москва, Н. Новгород, Оренбург, Пермь), и зарубежными исследователями. На современном этапе MRCoNS являются самыми частыми возбудителями позднего неонатального сепсиса у глубоко недоношенных новорожденных [1, 3 — 5, 7, 10, 11].

Анализ полученных нами результатов позволяет резюмировать их следующим образом. У новорожденных, госпитализированных в отделение реанимации и интенсивной терапии, MRCoNS являются наиболее часто выделяемыми микроорганизмами как в процессе «колонизации» желудочно-кишечного тракта, так и из очагов «инфекции». Дрожжевые грибы рода *Candida*, в большинстве случаев *non-albicans* виды, колонизируют желудочно-кишечный тракт и выделяются из очагов инфекции преимущественно у детей с очень низкой и экстремально низкой массой тела, что связано с длительностью пребывания новорожденных в отделении и назначением им флюконазола с профилактической целью на фоне антибактериальной терапии. Новорожденные с очень низкой и экстремально низкой массой тела чаще, чем другие дети, колонизируются полирезистентными штаммами энтеробактерий. Кишечник доношенных детей чаще заселяют чувствительные к антибактериальным препаратам штаммы кишечной палочки и клебсиелл. Неферментирующие грамотрицательные бактерии обнаруживаются в посевах при инфекциях чаще у доношенных новорожденных.

Таким образом, полученные результаты позволяют заключить, что мониторинг колонизации слизистых желудочно-кишечного тракта является неотъемлемой частью инфекционного контроля в отделении реанимации и интенсивной терапии новорожденных, так как отражает микробный пейзаж потенциальных возбудителей госпитальных инфекций, что позволяет оперативно решать вопросы профилактики и лечения бактериальных инфекций у новорожденных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Припутневич Т.В., Любасовская Л.А., Ионов О.В. и др. Особенности микробной колонизации новорожденных, госпитализированных в отделение реанимации и интенсивной терапии. Мат. V Научно-образовательного конгресса «Анестезия и реанимация в акушерстве и неонатологии». М 2012; 107—109. (Priputnevich T.V., Lyubasovskaya L.A., Ionov O.V. et al. Features of microbial colonization of the newborns hospitalized in NICU. Materials of V scientific and educational congress "Anesthesia and reanimation in obstetrics and a neonatology". М 2012; 107—109.)
2. Wu J.H., Chen C.Y., Tsao P.N. et al. Neonatal sepsis: a 6-year analysis in a neonatal care unit in Taiwan. *Pediatr Neonatol* 2009; 50: 3: 88—95.
3. Venkatesh. M.P., Frank P., Weisman L.E. Coagulase-Negative Staphylococcal Infections in the Neonate and Child: An Update. *Semin Pediatr Infect Dis* 2006; 17: 120—127.
4. Krediet T.G., Mascini E.M., van Rooij E. et al. Molecular Epidemiology of Coagulase-Negative Staphylococci Causing Sepsis in a Neonatal Intensive Care Unit over an 11-Year Period. *J Clin Microbiol* 2004; 42: 3: 992—995.
5. Hira V., Sluijter M., Goessens W.H.F. et al. Coagulase-Negative Staphylococcal Skin Carriage among Neonatal Intensive Care Unit Personnel: from Population to Infection. *J Clin Microbiol* 2010; 48: 11: 3876—3881.
6. Van den Hoogen A., Gerards L.J., Verboon-Macielek M.A. et al. Long-term trends in the epidemiology of neonatal sepsis and antibiotic susceptibility of causative agents. *Neonatology* 2010; 97: 1: 22—28.
7. Сергеевнин В.И., Маркович Н.И., Авдеева Н.С. и др. Пути совершенствования микробиологического мониторинга в системе эпидемиологического надзора за внутрибольничными гнойно-септическими инфекциями. *Казанский мед журн* 2008; 5: 725—728. (Sergevin V.I., Marcovich N.I., Avdeeva N.S. et al. The way to improve the microbiological monitoring in epidemiological surveillance of nosocomial septic infections. *Kazanskij med zhurn* 2008; 89: 5: 725—728.)
8. Гриценко В.А., Вялкова А.А., Азарова Е.В. и др. Клинико-анамнестическая и микробиологическая характеристика новорожденных с разным характером ранней неонатальной адаптации. *Курский научно-практический вестник «Человек и его здоровье»* 2009; 3: 38—46. (Gritsenko V.A., Vyalkova A.A., Azarova E.V. et al. Clinical anamnesis and microbiological characteristics of newborns with various character of early neonatal adaptation. *Kurskij nauchno-prakticheskij vestnik "Chelovek i ego zdorov'e"* 2009; 3: 38—46.)
9. Любимова А.В., Зуева Л.П., Пулин А.М. и др. Микробиологический мониторинг в отделениях реанимации новорожденных. *Эпидемиол и вакцинопрофилактика* 2011; 5: 25—29. (Lyubimova A.V., Zuyeva L.P., Pulin A.M., et al. Microbiological monitoring in NICU. *Эпидемиол и вакцинопрофилактика* 2011; 5: 25—29.)
10. Вялкова А.А., Бирюкова Т.В., Гриценко В.А. и др. Клинико-микробиологическая характеристика новорожденных с патологией дыхательной системы. *Вестник Оренбургского государственного университета* 2005; 5: Биология и медицина: 15—18. (Vyalkova A.A., Biryukova T.V., Gritsenko V.A. et al. The clinical and microbiological characteristic of newborns with pathology of respiratory system. *Vestnik Orenburgskogo gosudarstvennogo universiteta* 2005; 5: *Biologiya i meditsina*: 15—18.)
11. Благодравова А.С., Воробьева О.Н., Ковалишена О.В. и др. Эпидемиологические и микробиологические аспекты госпитальных гнойно-септических инфекций новорожденных, обусловленных коагулазоотрицательными стафилококками. *Мед альманах* 2009; 2: 72—75. (Blagonravova A.S., Vorobyova O.N., Kovalishena O.V. et al. Epidemiological and microbiological aspects of the hospital infections of the newborns caused Coagulase-negative staphylococci. *Med al'manakh* 2009; 2: 72—75.)

Поступила 05.02.13