

УДК 579.86:615.015.8:615.33 616.71-002.2

ИНДУЦИБЕЛЬНЫЙ ТИП РЕЗИСТЕНТНОСТИ К КЛИНДАМИЦИНУ СРЕДИ СТАФИЛОКОККОВ, ВЫДЕЛЕННЫХ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ОСТЕОМИЕЛИТОМ

Розова Л.В., Годовых Н.В.

ФГБУ «РНЦ «ВТО» им. акад. Г.А. Илизарова» Минздрава России,
Курган, e-mail: natalia_nvn@mail.ru

При микробиологическом исследовании содержимого ран, свищей у больных хроническим остеомиелитом взято 308 проб, выявлено 230 штаммов различных видов стафилококков. В последнее время, клиндамицин из-за его активного проникновения в ткани, является одним из наиболее эффективных антибиотиков в лечении инфекций, вызванных *Staphylococcus aureus*. Выявленные чувствительные к клиндамицину стафилококки могут проявить индуцибельную резистентность во время проводимого лечения. Проведено определение индуцибельного типа резистентности к клиндамицину с помощью постановки диско-диффузионного D-теста у стафилококков (29 штаммов), устойчивых к эритромицину и восприимчивых к клиндамицину. Индуцибельный тип резистентности выявлен у 9 (5,2%) штаммов *S. aureus* и 8 (14,3%) коагулазонегативных стафилококков. За исследуемый период в «РНЦ «ВТО» частота распространения индуцибельного фенотипа устойчивости к клиндамицину среди стафилококков у больных хроническим остеомиелитом составила 7,4%. Для формирования стратегии антибактериальной терапии на региональном уровне необходимо проведение микробиологического мониторинга.

Ключевые слова: индуцибельный тип резистентности, стафилококки, клиндамицин, хронический остеомиелит

THE INDUCIBLE TYPE OF CLINDAMYCIN RESISTANCE AMONG THE STAPHYLOCOCCI ISOLATED FROM PATIENTS WITH CHRONIC OSTEOMYELITIS

Rozova L.V., Godovykh N.V.

FSBI RISC RTO of the RF Ministry of Health, Kurgan, e-mail: natalia_nvn@mail.ru

308 samples were taken, and 230 strains revealed during microbiological investigation of the contents of the wounds, fistulas in patients with chronic osteomyelitis. Recently, Clindamycin due to its active penetration into tissues is one of most efficient antibiotics for treating infections caused by *Staphylococcus aureus*. The identified Clindamycin-sensitive staphylococci may demonstrate inducible resistance during the treatment being performed. The inducible type of Clindamycin resistance was determined by disco-diffusion D-test of staphylococci (29 strains) resistant to Erythromycin and those sensitive to Clindamycin. The inducible type of resistance revealed in 9 (5,2%) strains of *S. aureus*, as well as in 8 (14,3%) ones of coagulase-negative staphylococci. The incidence of Clindamycin-resistance inducible phenotype among staphylococci of patients with chronic osteomyelitis at RISC RTO amounted for 7,4% over the period studied. Microbiological monitoring is required in order to develop the strategy of antibacterial therapy at the regional level.

Keywords: inducible type of resistance, staphylococci, Clindamycin, chronic osteomyelitis

Стафилококк признан одним из наиболее распространенных возбудителей различных инфекций человека. Устойчивость к антимикробным препаратам среди стафилококков является растущей проблемой. Это привело к возобновлению интереса к использованию макролидов, линкозамидов и стрептограминов [6, 7]. Макролиды, линкозамиды и стрептограммины были объединены в одну группу (МЛС), это связано с общностью их механизмов действия и резистентности к ним микроорганизмов. Устойчивость к препаратам группы МЛС может быть связана с модификацией мишени действия, их активным выведением и быстрой инактивацией [4].

Наиболее распространенным и клинически важным механизмом резистентности стафилококков является метилирование. Известны два основных типа экспрессии устойчивости, связанной с метилирова-

нием: конститутивный и индуцибельный. При конститутивном типе синтез фермента метилазы (соответственно модификация мишени) происходит постоянно и не зависит от внешних условий, и бактерии проявляют перекрестную устойчивость ко всем макролидам, линкозамидам и стрептограмминам. При индуцибельном – фермент синтезируется только в ответ на появление в окружающей среде антибиотиков. Штаммы с индуцибельным характером экспрессии метилаз, устойчивые к 14- и 15-членным макролидам, сохраняют чувствительность к 16-членным макролидам и стрептограмминам [4].

В последнее время, клиндамицин из-за его активного проникновения в ткани, является одним из наиболее эффективных антибиотиков в лечении инфекций, вызванных *Staphylococcus aureus*, особенно кожи и мягких тканей и остеомиелита [8].

Тем не менее выявленные чувствительные к клиндамицину стафилококки могут проявить индуцибельную резистентность во время проводимого лечения. На основании проведенных исследований было сделано заключение, что резистентные к эритромицину и чувствительные к клиндамицину стафилококки в ходе антибиотикотерапии могут приобретать резистентность, что и приводит к неэффективности проводимого лечения. Исходя из этого, возникает необходимость определения индуцибельного типа резистентности к клиндамицину с помощью постановки диско-диффузионного D-теста, для выявления антагонизма между клиндамицином и эритромицином [9, 10].

Цель исследования: выявление частоты встречаемости индуцибельного типа резистентности к клиндамицину среди стафилококков, выделенных у больных хроническим остеомиелитом, леченных в Российском научном центре «Восстановительная травматология и ортопедия» им. академика Г.А. Илизарова.

Материалы и методы исследования

Исследование проводилось в 2013–2014 гг. При микробиологическом исследовании содержимого ран, свищей у больных хроническим остеомиелитом взято 308 проб и выявлено 230 штаммов различных видов стафилококков. Идентификация бактерий и их антибиотикочувствительность проводилась как в соответствии с общепринятыми рекомендациями, так и при помощи баканализатора «WalkAway-40 Plus» («Siemens»), с использованием коммерческих микротест-систем [1, 2, 3]. Нами проведено определение индуцибельного типа резистентности к клиндамицину с помощью постановки диско-диффузионного D-теста у 29 штаммов стафилококков, устойчивых к эритромицину и восприимчивых к клиндамицину [5].

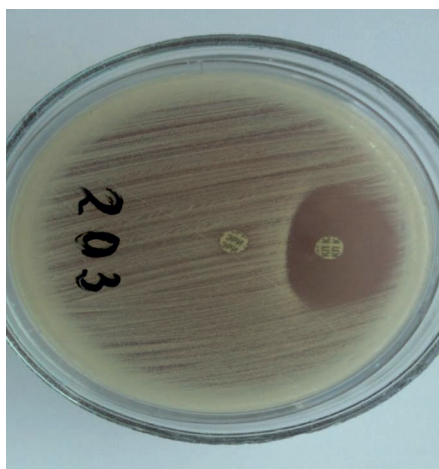
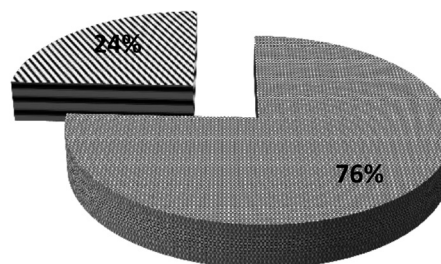


Рис. 1. D-зона ингибирования вокруг диска с клиндамицином указывает на индуцибельный тип резистентности

Методика постановки D-теста и интерпритация результатов осуществлялась следующим образом: суспензию *Staphylococcus spp.* мутностью 0,5 McFarland наносили на поверхность Мюллера-Хинтон агара в чашке Петри, затем помещали диски с эритромицином (15 мкг) и клиндамицином (2 мкг) на расстоянии между ними 15 мм. После инкубации при 37°C в течение 18–24 часов уплощение зоны (D-образные) вокруг клиндамицина указывало на индуцибельный тип резистентности к клиндамицину (рис. 1). Если D-тест положительный (D⁺), то изолят следует считать устойчивым к клиндамицину, если отрицательный (D⁻), то чувствительным.

Результаты исследования и их обсуждение

По результатам идентификации установлено, что видовой состав выявленных стафилококков включал: коагулазоположительный вид *S. aureus* – 174 штамма и ряд коагулазонегативных видов (*S. epidermidis*, *S. hyicus*, *S. auricularis*, *S. haemolyticus*, *S. hominis*, *S. capitis*, *S. saprophyticus*) – 56 штаммов. Среди выявленных стафилококков *S. aureus* встречался в три раза чаще (рис. 2).



- ☒ *Staphylococcus aureus*
- ☒ Коагулазонегативные стафилококки

Рис. 2. Частота выявления *Staphylococcus aureus* и коагулазонегативных стафилококков из ран и свищей у больных хроническим остеомиелитом

Проведена сравнительная характеристика восприимчивости стафилококков к эритромицину и клиндамицину (рис. 3). Было установлено, что чаще встречаются штаммы, резистентные к эритромицину, причем у метициллинрезистентных коагулазонегативных стафилококков (MRCNS) эта разница составляла 36,4%.

Среди метициллинрезистентных штаммов устойчивых к клиндамицину и эритромицину лидирующее положение занимает *S. aureus*, среди метициллинчувствительных – коагулазонегативные стафилококки (CNS).

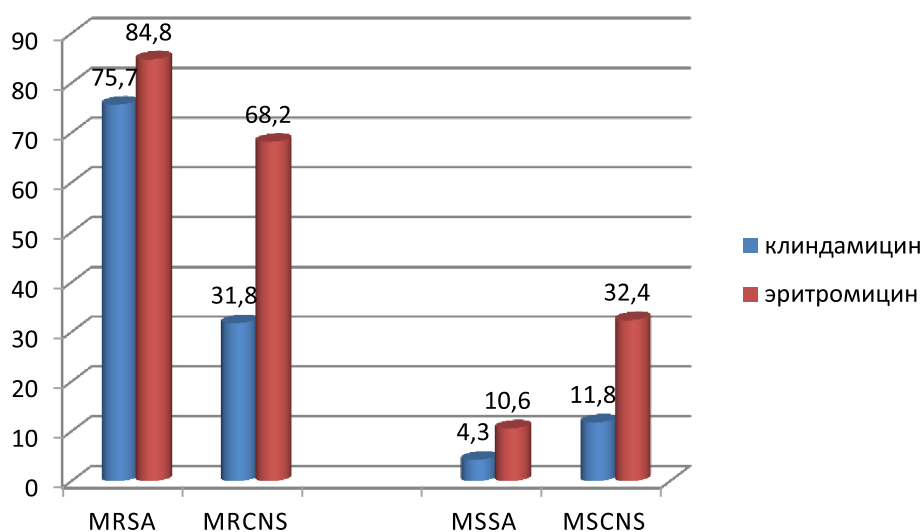


Рис. 3. Сравнительная характеристика резистентности эритромицина и клиндамицина к стафилококкам.
Примечание. MRSA – метициллинрезистентные *Staphylococcus aureus*, MRCNS – метициллинрезистентные коагулазонегативные стафилококки, MSSA – метициллинчувствительные *Staphylococcus aureus*, MSCNS – метициллинчувствительные коагулазонегативные стафилококки

Сравнение различных типов восприимчивости стафилококка к клиндамицину и эритромицину

ФЕНОТИП (Структура восприимчивости)	<i>S. aureus</i>		Коагулазонегативные стафилококки		Всего	
	(n = 174)	(%)	(n = 56)	(%)	(n = 230)	(%)
CL-S, ER-S	130	74,7	29	51,8	159	69,1
CL-R, ER-R	30	17,2	10	17,8	40	17,4
CL-R, ER-S	1	0,6	1	1,8	2	0,9
CL-S (D ⁻), ER-R	4	2,3	8	14,3	12	5,2
CL-S (D ⁺), ER-R	9	5,2	8	14,3	17	7,4
Всего	174	100	56	100	230	100

Примечание. CL-S = Клиндамицин чувствительный, CL-R = Клиндамицин резистентный ER-S = Эритромицин чувствительный, ER-R = Эритромицин резистентный, D – тест положительный = (D⁺), D – тест отрицательный = (D⁻).

Структура восприимчивости стафилококков к клиндамицину и эритромицину рассмотрена в таблице. Как видно из таблицы, одновременно к обоим препаратам проявили чувствительность *S. aureus* – 74,7% и CNS – 51,8%, устойчивость (конститутивный тип резистентности) проявили 17,2% *S. aureus* и 17,8% CNS. На D-тест было исследовано 29 штаммов (*S. aureus* – 13 и CNS – 16), индуцибельный тип резистентности выявлен у 9 (5,2%) и 8 (14,3%) соответственно. Также выявлено по одному штамму стафилококков, резистентных к клиндамицину и чувствительных к эритромицину.

Согласно нашим исследованиям у больных хроническим остеомиелитом выявлен высокий процент штаммов *S. aureus*, чувствительных к эритромицину (75,3%) и клиндамицину (77,0%), индуцибельная резистентность к клиндамицину составила 5,2%. Коагулазонегативные стафилококки были менее чувствительны к эритромицину, чем *S. aureus*, их устойчивость составила 46,6%, чаще проявлялась индуцибельная резистентность к клиндамицину (14,3%).

Заключение

Для принятия соответствующих решений терапии необходимы точные данные чувстви-

тельности выявленных микроорганизмов. Характер резистентности стафилококков к макролидам варьируется в разных регионах. За исследуемый период в «РНЦ «ВТО» частота распространения индуцибельного фенотипа устойчивости к клиндамицину среди стафилококков у больных хроническим остеомиелитом составила 7,4%. D-тест является простым и надежным способом для определения индуцибельной резистентности стафилококков к группе МЛС в обычной микробиологической лаборатории. Для формирования стратегии антибактериальной терапии на региональном уровне необходимо проведение микробиологического мониторинга.

Список литературы

1. Методические рекомендации по микробиологической диагностике раневых инфекций в лечебно-диагностических учреждениях армии и флота / В.М. Добрынин, И.А. Добрынина, В.В. Казалуха и др. – СПб. НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Пастера, 1999. – С. 4–62.
2. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений: Приказ № 535 МЗ СССР. – М., 1985. – 126 с.
3. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Методические указания МУК 4. 2. 1890 – 04 // Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия – 2004. – Т. 6, № 4. – С. 306–359.
4. Сидоренко С.В., Тишков В.И. Молекулярные основы резистентности к антибиотикам // Успехи биологической химии. – 2004. – Т. 44. – С. 263–306.
5. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement // Clinical Laboratory Standards Institute. – 2007. – Vol. 2, № 1.
6. Delialioglu N. Inducible clindamycin resistance in staphylococci isolated from clinical samples / Delialioglu N., Aslan G., Ozturk C., Baki V., Sen S., Emekdas G. // Jpn J. Infect Dis. – 2005. – Vol. 58. – P. 104–106.
7. Deotale V. Inducible clindamycin resistance in Staphylococcus aureus isolated from clinical samples / Deotale V., Mendiratta D.K., Raut U., Narang P. // Indian J. Med. Microbiol. – 2010. – Vol. 28. – P. 124–126.
8. Drinkovic D. Clindamycin treatment of Staphylococcus aureus expressing inducible clindamycin resistance / Drinkovic D., Fuller E.R., Shore K.P., Holland D.J., Ellis-Pegler R. // J. Antimicrob Chemother. – 2001. – Vol. 48, № 2. – P. 315–316.

9. Feibelcorn K.R., Crawford S.A., McElmeel M.L., Jorgensen J.H. Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci / Feibelcorn K.R., Crawford S.A., McElmeel M.L., Jorgensen J.H. // J. Clin. Microbiol. – 2003. – Vol. 41, № 10. – P. 4740–4744.

10. Sedighi I. D-Test method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* / Sedighi I., Mashouf R.Y., Pak N., Rabiee M.A.S. // Iran J. Pediatr. – 2009. – Vol. 19, № 3. – P. 293–297.

References

1. Metodicheskie rekomendacii po mikrobiologicheskoj diagnostike ranevyh infekcij v lecebno-diagnosticheskix uchrezhdenijah armii i flota / V.M. Dobrynin, I.A. Dobrylina, V.V. Kacaluha i dr. SPb. NII jepidemiologii i mikrobiologii im. Pastera, 1999. pp. 4–62.
2. Ob unifikacii mikrobiologicheskix (bakteriologicheskix) metodov issledovanija, primenjaemyh v klinikodiagnosticheskix laboratorijah lecebno-profilakticheskix uchrezhdenij: Prikaz no. 535 MZ SSSR. M., 1985. 126 p.
3. Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam: Metodicheskie ukazaniya MUK 4. 2. 1890 04 // Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija 2004. T. 6, no. 4. pp. 306–359.
4. Sidorenko S.V., Tishkov V.I. Molekuljarnye osnovy rezistentnosti k antibiotikam // Uspehi biologicheskoi himii. 2004. T. 44. pp. 263–306.
5. Clinical and laboratory standards institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; seventeenth informational supplement // Clinical Laboratory Standards Institute. 2007. Vol. 2, no. 1.
6. Delialioglu N. Inducible clindamycin resistance in staphylococci isolated from clinical samples / Delialioglu N., Aslan G., Ozturk C., Baki V., Sen S., Emekdas G. // Jpn J. Infect Dis. 2005. Vol. 58. pp. 104–106.
7. Deotale V. Inducible clindamycin resistance in Staphylococcus aureus isolated from clinical samples / Deotale V., Mendiratta D.K., Raut U., Narang P. // Indian J. Med. Microbiol. 2010. Vol. 28. pp. 124–126.
8. Drinkovic D. Clindamycin treatment of Staphylococcus aureus expressing inducible clindamycin resistance / Drinkovic D., Fuller E.R., Shore K.P., Holland D.J., Ellis-Pegler R. // J. Antimicrob Chemother. 2001. Vol. 48, no. 2. pp. 315–316.
9. Feibelcorn K.R., Crawford S.A., McElmeel M.L., Jorgensen J.H. Practical disk diffusion method for detection of inducible clindamycin resistance in Staphylococcus aureus and coagulase-negative staphylococci / Feibelcorn K.R., Crawford S.A., McElmeel M.L., Jorgensen J.H. // J. Clin. Microbiol. 2003. Vol. 41, no. 10. pp. 4740–4744.
10. Sedighi I. D-Test method for detection of inducible clindamycin resistance in *Staphylococcus aureus* / Sedighi I., Mashouf R.Y., Pak N., Rabiee M.A.S. // Iran J. Pediatr. 2009. Vol. 19, no. 3. pp. 293–297.