

Простые возбудители непростых инфекций в неонатологии

Руководитель отдела микробиологии и
клинической фармакологии
д.м.н., Припутневич Т.В.

Изменение контингента пациентов отделений интенсивной терапии новорожденных: объективные причины

- Приказ Минздравсоцразвития от 27 декабря 2011г №1687н
- Новые стандарты интенсивной терапии
- Новые санитарно-эпидемиологические правила

Изменения в нормативной базе

Изменение материально-технической базы

- Инвазивные методы
- Антибиотики широкого спектра

- Новорожденные с очень низкой и экстремально низкой массой тела при рождении (ОНМТ и ЭНМТ)
- Тяжелые врожденные пороки
- Длительные сроки пребывания
- Длительное парентеральное питание

Изменение контингента новорожденных ОРИТ

Неонатальные инфекции

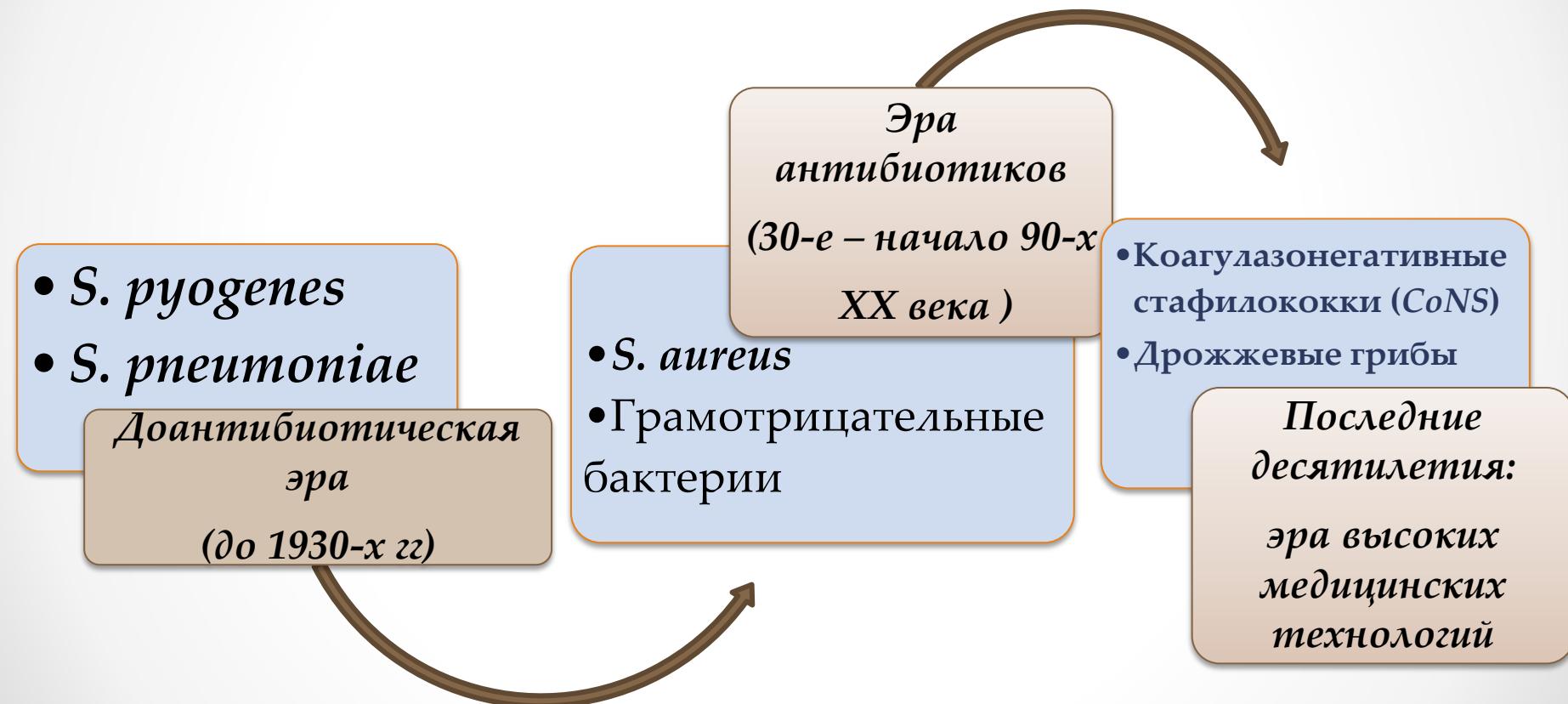
Ранние

- как правило, внутриутробные
- источник — мать
- *S. agalactiae, E. coli*

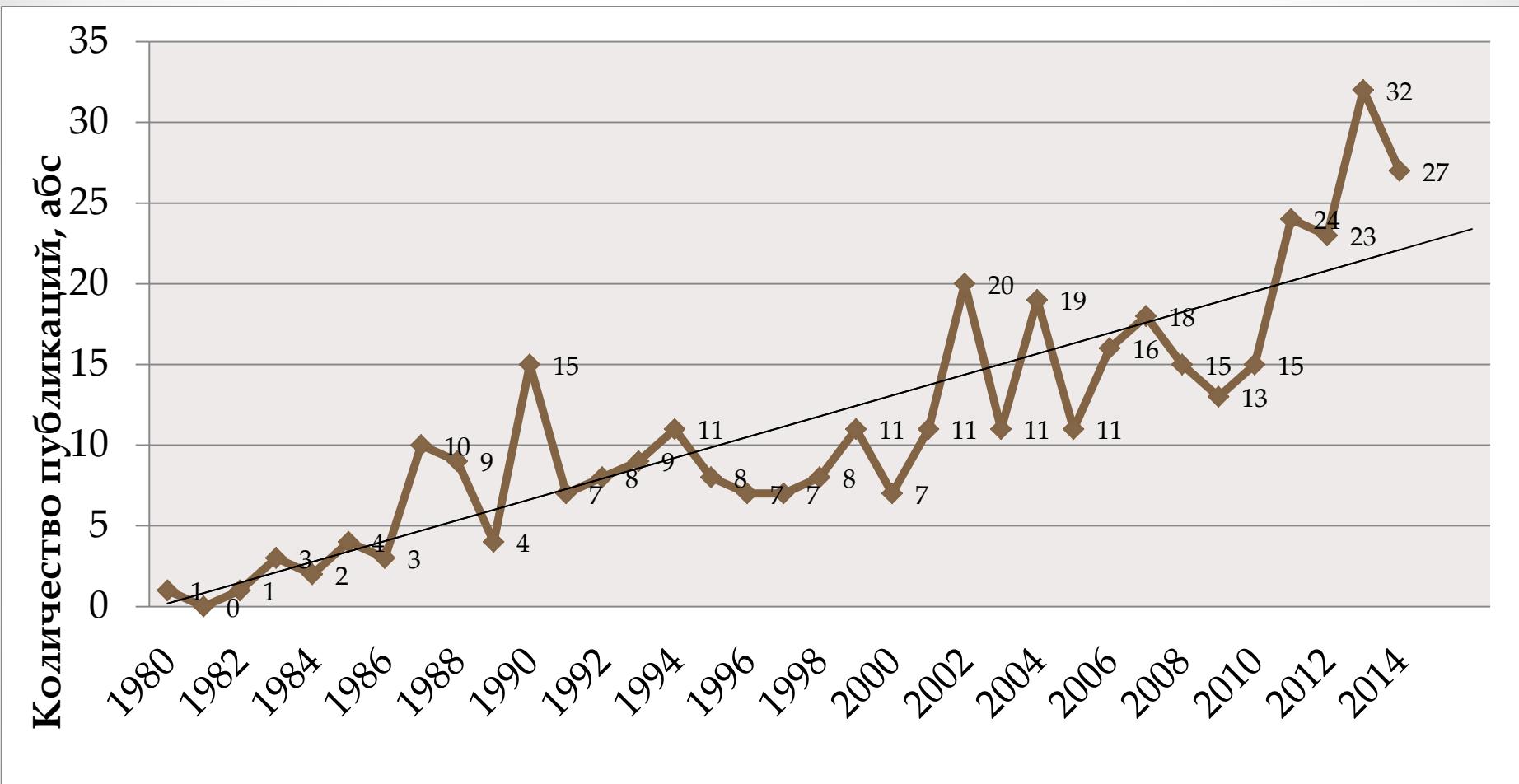
Поздние

- нозокомиальные
- источник - окружающая среда и медицинский персонал

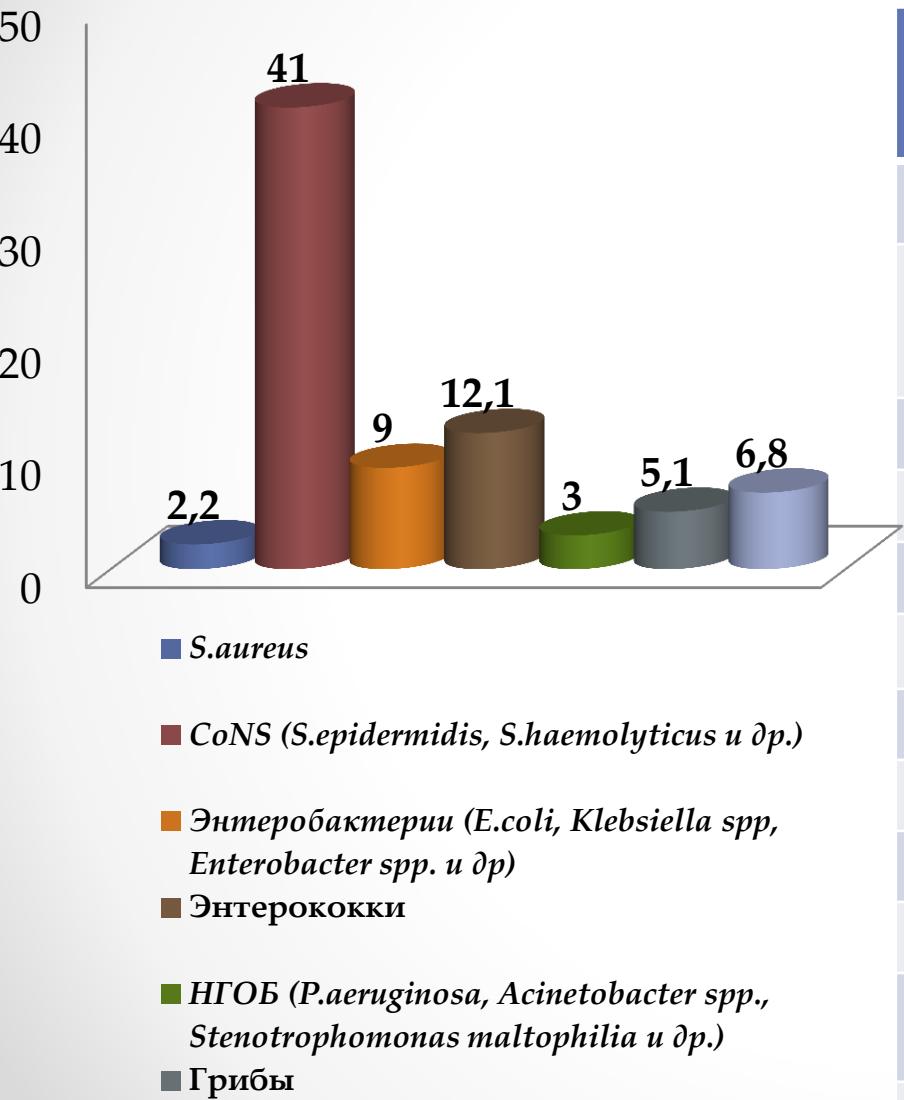
Этиология поздних (нозокомиальных) неонатальных инфекций в ОРИТ новорожденных



Количество публикаций по запросу *«coagulase negative staphylococcus neonatal»* в Pubmed



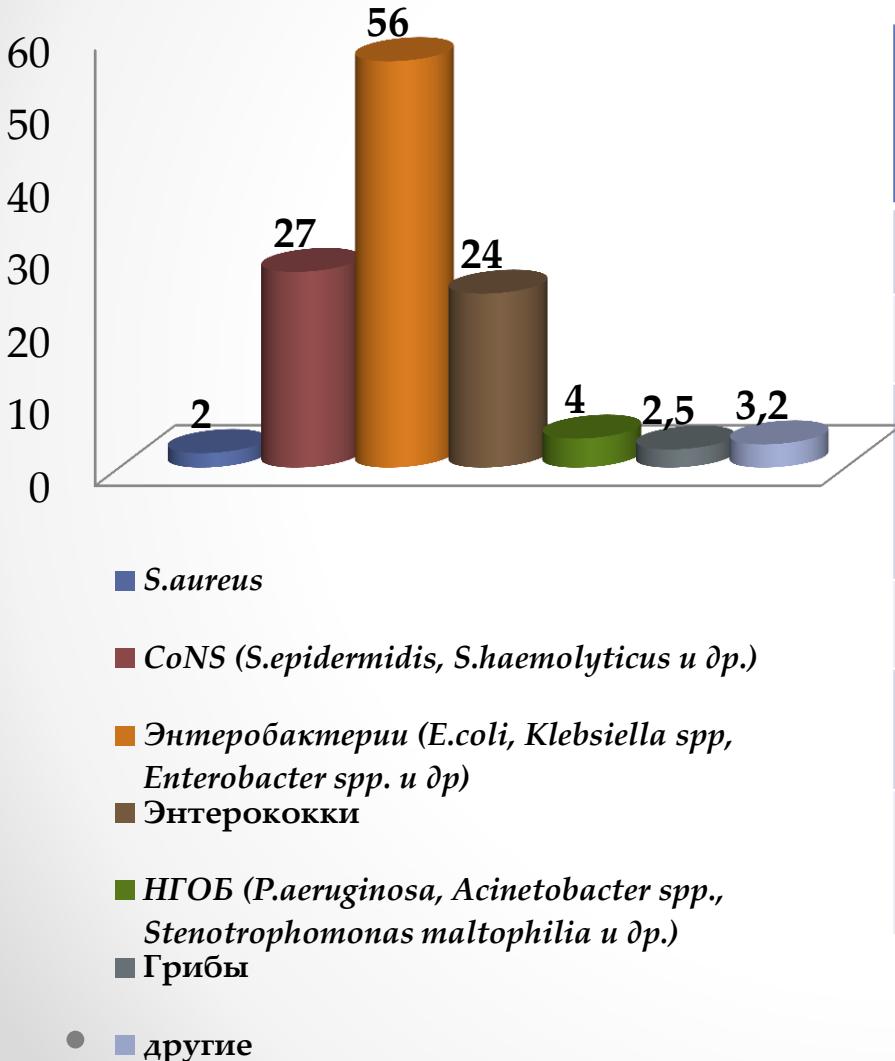
Колонизация новорожденных в ОРИТ (микробиологический мониторинг) 2013-2014гг.



Результаты посевов крови новорожденных в ОРИТ 2013-2014гг. (n=991)

Микроорганизмы, выделенные из крови	Выделенные штаммы (n)	% от выделенных штаммов
<i>CoNS</i>	42	66,6%
Энтеробактерии (<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. cloacae</i>)	6	9,5%
<i>S. aureus</i>	4	6,3%
<i>C. albicans</i>	2	
<i>E. faecalis</i>	1	
<i>S. salivarius</i>	1	
<i>S. agalactiae</i>	1	
<i>A. baumannii</i>	1	
<i>B. cereus</i>	1	
<i>Micrococcus luteus</i>	1	
<i>Lactobacillus salivarius</i>	1	
<i>Paenibacillus</i> spp.	1	

**Колонизация новорожденных
отделения хирургии и реанимации
(микробиологический мониторинг)
2013-2014гг.**

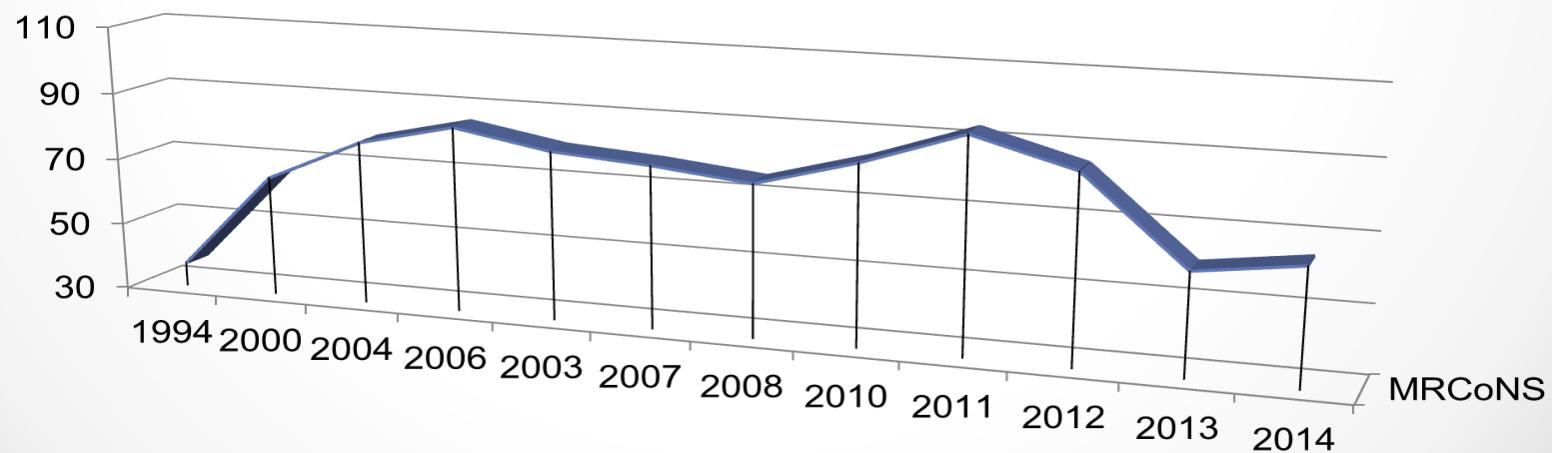
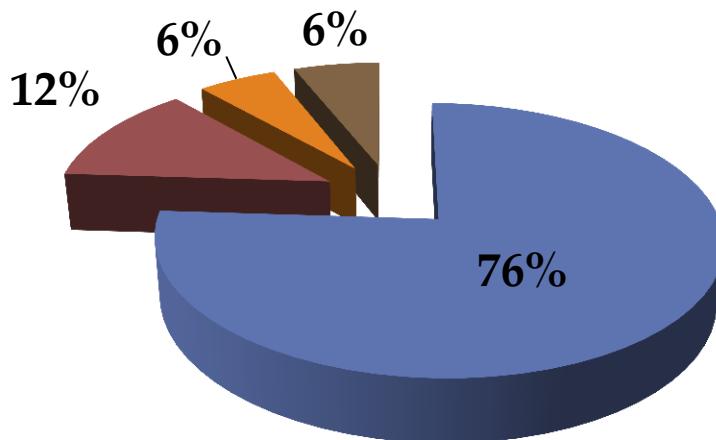


**Результаты посевов крови
новорожденных отделения хирургии и
реанимации новорожденных
2013-2014гг. (n=126)**

Микроорганизмы, выделенные из крови	Выделенные штаммы (n)	% от выделенных штаммов
<i>CoNS</i>	21	58%
<i>C. parapsilosis</i>	10	27%
Энтеробактерии (<i>K. pneumoniae</i> , <i>E. cloacae</i>)	6	16,6%
<i>M. furfur</i>	4	11%
<i>E. faecalis/faecium</i>	2	
<i>Leuconostoc lactis</i>	1	

Видовая структура CoNS, выделенных из крови новорожденных

■ *S.epidermidis* ■ *S.haemolyticus* ■ *S.hominis* ■ другие

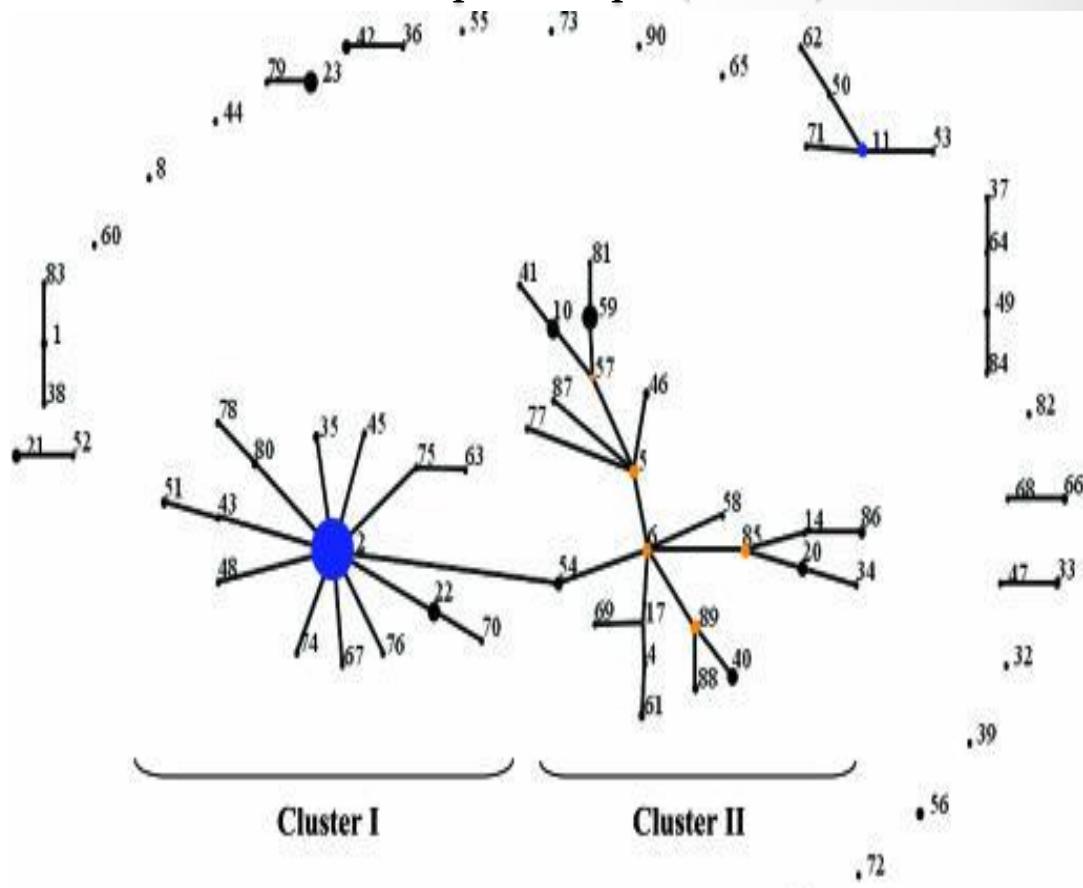


Структура популяции госпитальных *S. epidermidis* (по результатам MLST)

Госпитальные
S. epidermidis, выделенные от
новорожденных Центра
(n=28)

Сиквенс-тип	Аллельный профиль arcC-aroE-gtr-mutS-pyr-tpi-yqiL	Число штаммов
2	7-1-2-2-4-1-1	4
22	7-1-2-2-4-7-1	12
59	2-1-1-1-2-1-1	6
69	1-18-6-2-2-1-1	1
81	2-17-1-1-2-1-1	2
89	1-1-2-1-2-1-1	2
269	1-1-2-2-28-16-1	1

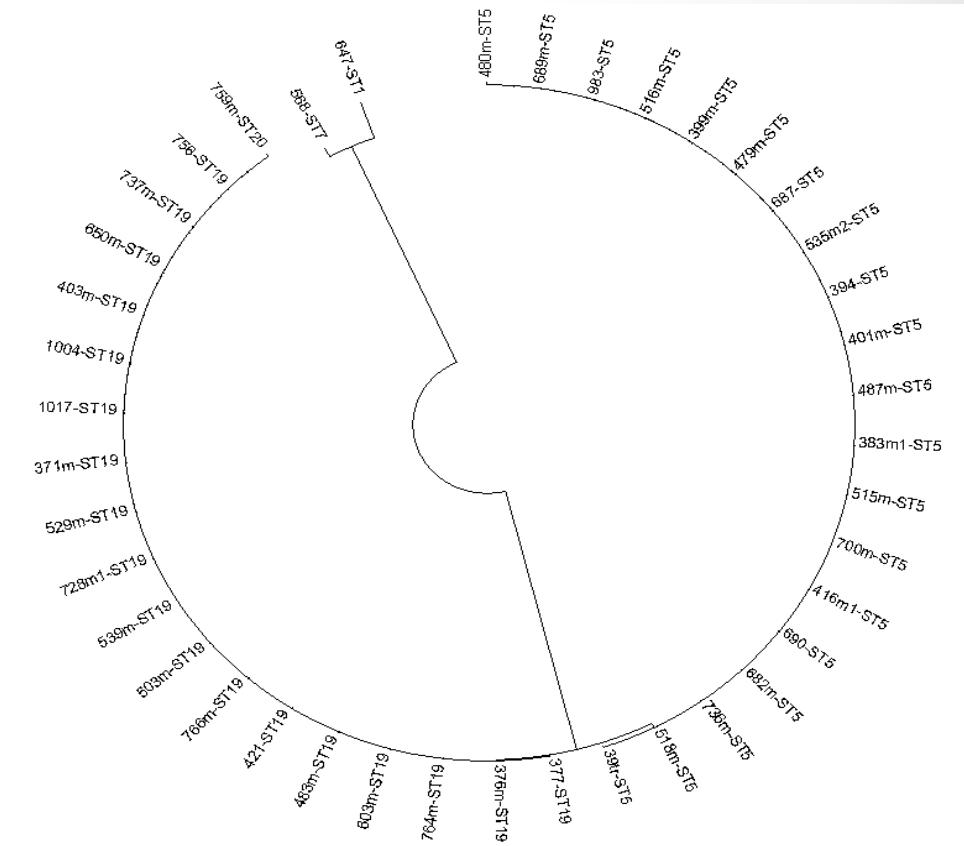
Структура популяции госпитальных
S. epidermidis, выделенных из стационаров
17 стран мира (n=217)



Структура популяции госпитальных *S. haemolyticus*, (схема MLST методика О.Л. Ворониной)

Госпитальные *S. haemolyticus*, выделенные
от новорожденных Центра
(n=41)

Сиквенс-тип	Аллельный профиль <i>mvaK-rphE-tphK-gtr-arcC-tpi-aroE</i>	Число штаммов
1	1-1-2-1-1-1-1	1
5	3-1-1-1-1-3-1	20
7	3-2-2-1-2-2-1	1
19	3-1-1-1-1-1-1	18
20	3-1-1-3-1-1-1	1



Что позволяет *CoNS* выживать в реанимации новорожденных и реализовывать свой патогенный потенциал?

Почему именно эпидермальные стафилококки чаще вызывают инфекции?

Гены факторов патогенности CoNS, выделенных от новорожденных ОРИТ

S. epidermidis (n=18)

Гены энтеротоксинов и лейкоциднов	Гены факторов адгезии и колонизации	Гены токсинов и факторов адгезии	Не обнаружено
4	1	12	1
22,2%	5,6%	66,6%	5,6%
94,4%			

Ген токсина синдрома септического шока (*tsst*) n=4 (ST 2 и 22)

S. haemolyticus (n=37)

Гены энтеротоксинов и лейкоциднов	Гены факторов адгезии и колонизации	Гены токсинов и факторов адгезии	Не обнаружено
9	8	8	12
24,3%	21,6%	21,6%	32,4%
67,5%			

Ген токсина синдрома септического шока не обнаружен

Эволюционные преимущества CoNS перед другими условно-патогенными микроорганизмами

Наличие в составе
генома гена *mesA*

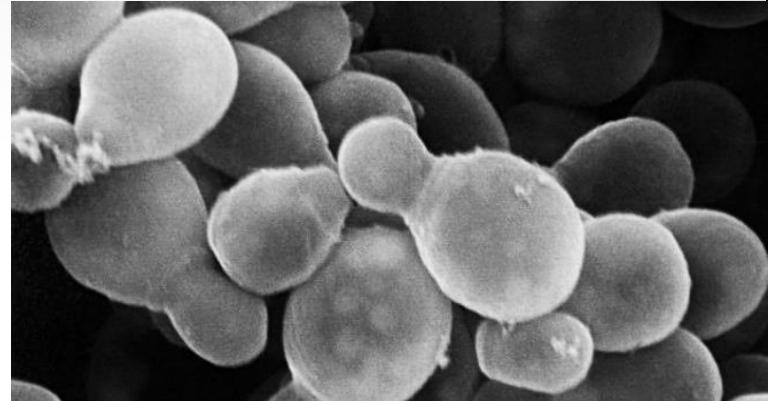
- Устойчивость ко всем бета-лактамным антибиотикам

Наличие большого
количество факторов
адгезии и
колонизации

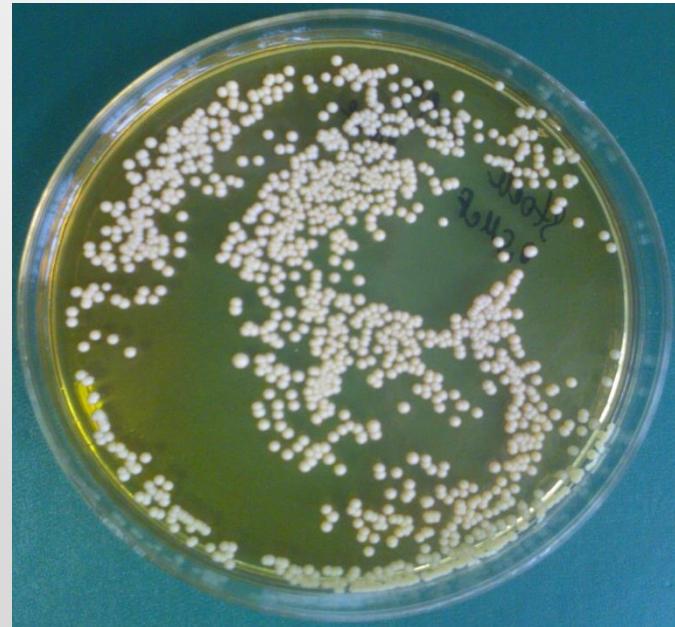
- Высокая способность закрепляться и образовывать биопленки на искусственных поверхностях (венозных катетерах, интубационных трубках и др.)

Иммунокомпромиссный
контингент больных

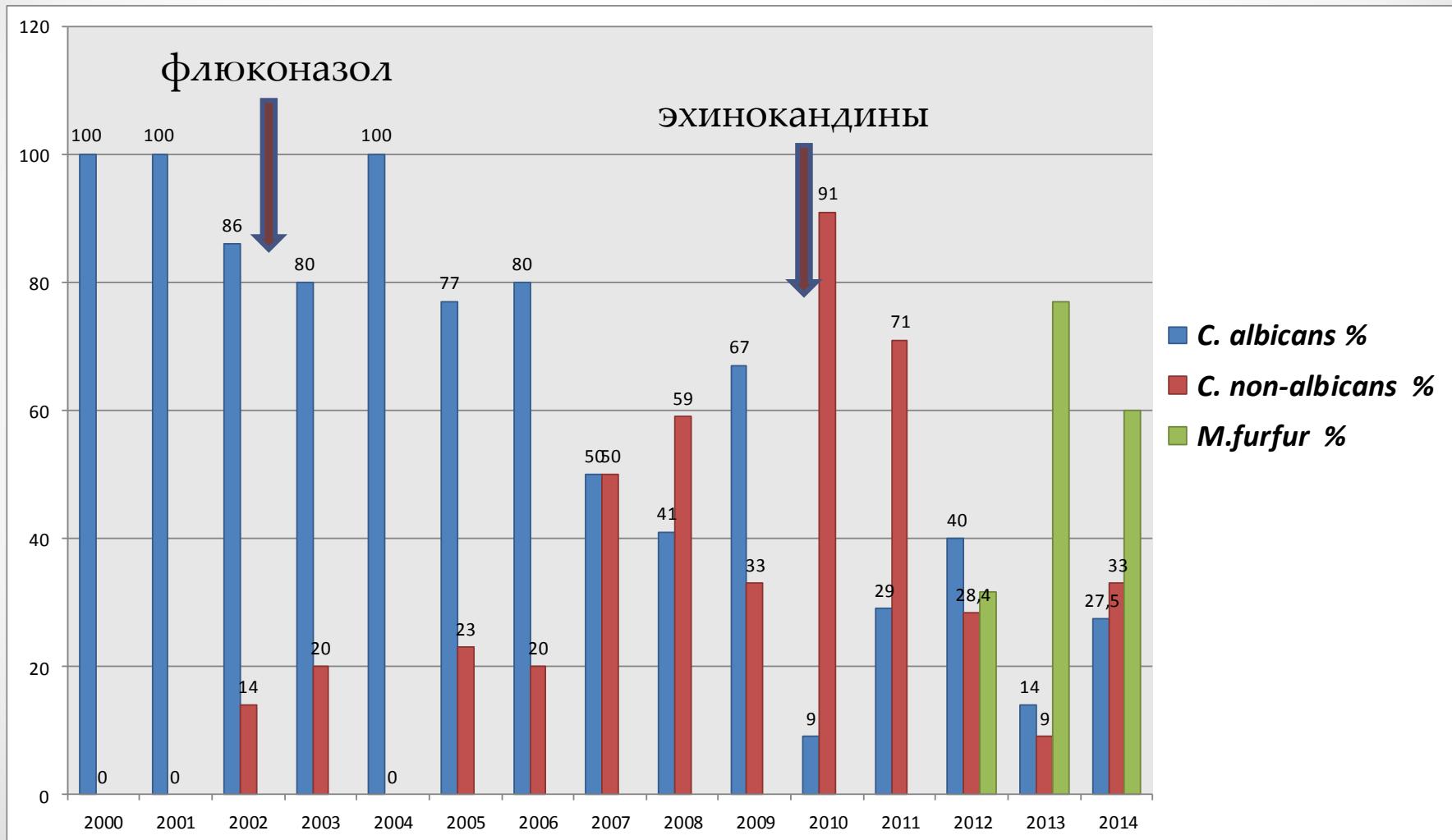
- Возможность реализовать низкий патогенный потенциал



Дрожжевые грибы



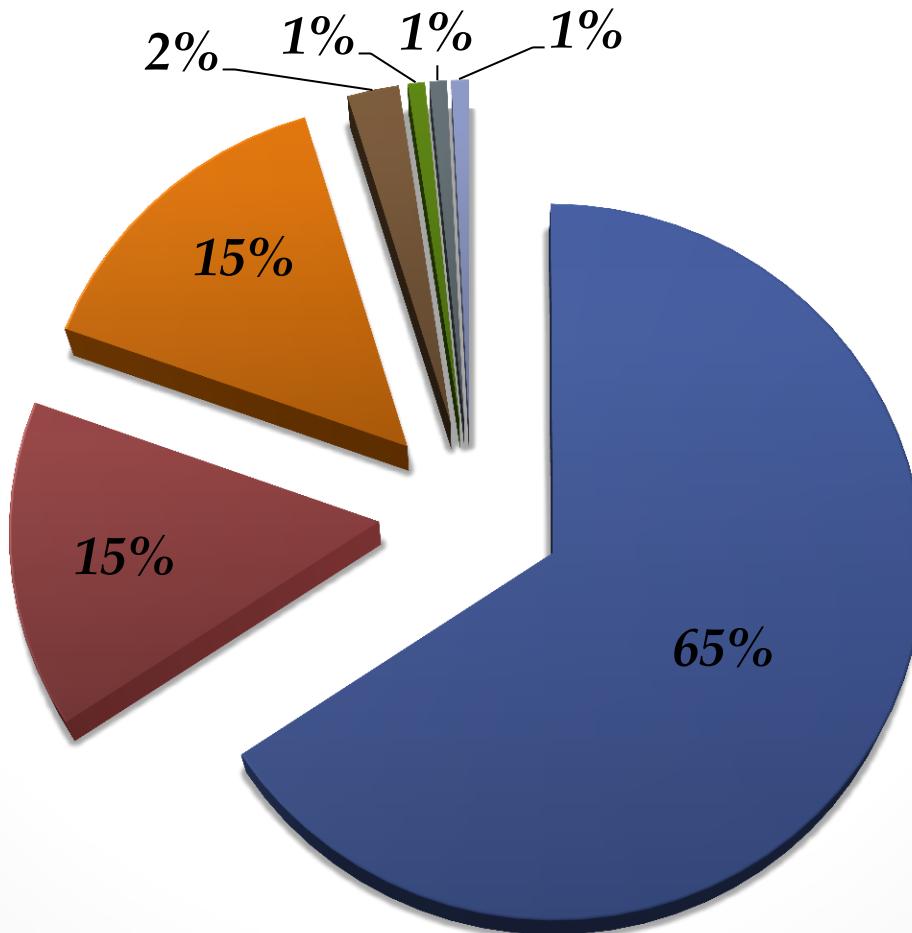
Динамика видового состава дрожжевых грибов, выделенных у новорожденных ОРИТ



• Данные многолетнего микробиологического мониторинга, НЦАГиП, 2000-2014гг •

Видовой состав дрожжевых грибов, выделенных в отделениях реанимации новорожденных

■ *M.furfur* ■ *C.parapsilosis* ■ *C.albicans* ■ *C.glabrata*
■ *C.krusei* ■ *C.lusitaniae* ■ *C.rugosa*



Данные микробиологического мониторинга, НЦАГиП, 2014г.

Malassezia furfur

- Дрожжевой гриб с необычным метаболизмом липидов – без длинноцепочечных жирных кислот (C_{12} - C_{16}) не происходит синтеза клеточной стенки
- В норме колонизирует кожные покровы и вызывает себорейные дерматиты, гнейс (дети), отрубевидный лишай, фолликулиты
- Встречается в кишечнике у новорожденных, в условиях ОРИТ может быть причиной катетер-ассоциированного сепсиса



➤ Системная инфекция, вызванная *Malassezia furfur*

в неонатологии впервые описана в 1981 году как специфическое осложнение парентерального введения липидов



- Факторами риска колонизации кожи *Malassezia spp.* и развития инфекции у новорожденных являются:
- гестационный возраст менее 32 нед.
 - низкая масса тела при рождении
 - длительное пребывание в ОРИТ
 - парентеральное питание липидными эмульсиями

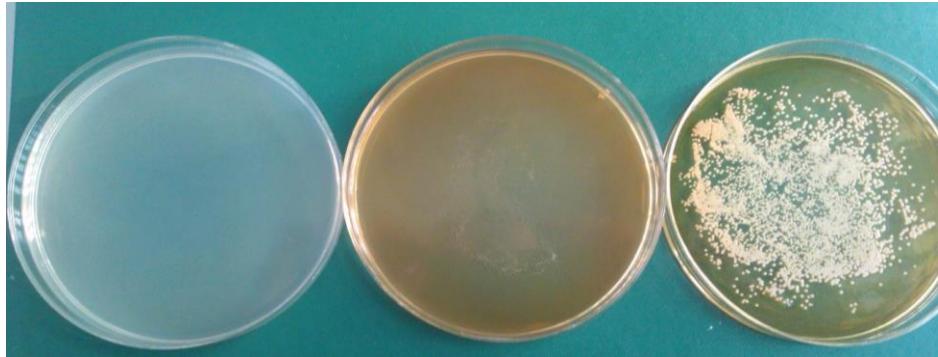
- Впервые в 2012 году из кала и зева новорожденного отделения хирургии и реанимации на агаре Сабуро на трети сутки инкубации выделена *Malassezia furfur*



Диагностика *Malassezia furfur*:

1. Проблемы выявления в клиническом материале

- Незаметный невооруженным глазом рост на агаре Сабуро: колонии очень мелкие, видимый рост на чашке не раньше 72 часов



Среда Сабуро Лактобактагар Среда Диксона

- Готовые среды для выделения малазезий не сертифицированы в России, необходимо приготовление агара по прописи Диксон с добавлением олеиновой кислоты
- !!! Коммерческие среды для культивирования крови не обеспечивают рост *M. furfur*

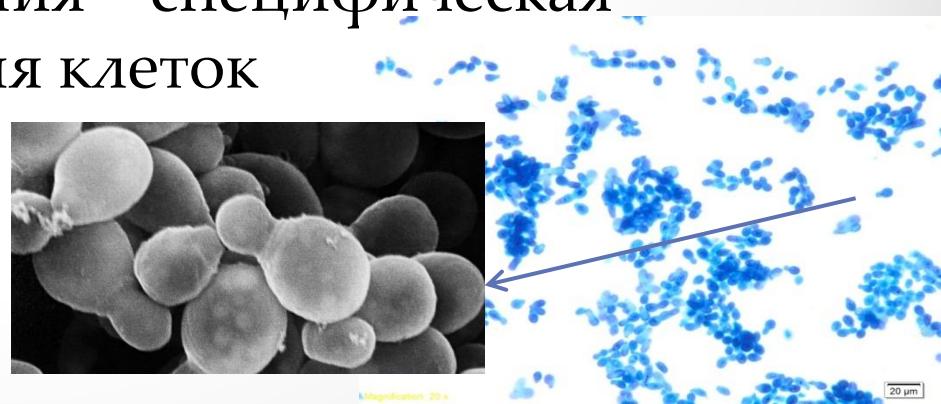


2. Идентификация *Malassezia furfur*

- На автоматическом бактериологическом анализаторе *Vitek2Compact* идентификация проходит с высокой степенью достоверности



- Масс-спектрометр *Autoflex III*: несмотря на наличие в базе данных спектров *M. furfur*, клинические изоляты, выделенные в Центре не были идентифицированы
- Микроскопия – специфическая морфология клеток



3. Определение чувствительности к антимикотикам *Malassezia furfur*

- Нет стандартизованных методик определения чувствительности к антимикотикам *in vitro*

Клиническая эффективность антимикотиков различных групп

- Себорейный дерматит и фолликулит: Итраконазол, Кетоконазол, Флуконазол, Тербинафин
- Катетер-ассоциированная инфекция: Амфотерицин В, азолы
- Эффективность Эхинокандинов: по данным литературы и нашего Центра клиническая эффективность отсутствует

Пилотное исследование

- Установлены факторы, необходимые для роста *M. furfur* в питательной среде, применяемой в промышленной тест-системе (YeastOne 10, TrekDiagnostic Systems) для определения чувствительности к антимикотикам
- Проведены исследования чувствительности к антимикотическим препаратам 10-ти клинических штаммов

➡
Олеиновая
кислота



Простые возбудители непростых инфекций

- типичные комменсалы кожи здорового человека, такие как *CoNS* и малацезии, представляют собой серьезную опасность для современного контингента неонатальных ОРИТ
- Колонизируют кожу и персонала и новорожденных и родителей
- Оседают на всех окружающих поверхностях
- Передаются воздушным путем

Трудно эпидемиологически предотвратить!

Спасибо за внимание!



Поздние неонатальные инфекции: возбудители и нозологические формы

Коагулазонегативные
стафилококки (CoNS)
и дрожжевые грибы
(*C.parapsilosis*,
M.furfur)

1. Катетер-ассоциированная бактериемия. Сепсис.
2. Пневмония

Энтеробактерии
(*K.pneumoniae*,
E.cloacae)

1. Некротизирующий энтероколит (НЭК)
2. НЭК-ассоциированная бактериемия

Неферментирующие
грамотрицательные
бактерии (*P.aeruginosa*,
Acinetobacter spp.)

1. Вентилятор-ассоциированная пневмония
2. НЭК-ассоциированная бактериемия
3. Раневая инфекция

Факторы риска:

- 1. ОНМТ и ЭНМТ при рождении
- 2. Наличие ЦВК
- 3. Длительная ИВЛ
- 4. Парентеральное питание
- 5. Синдром короткой кишки (врожденные пороки развития – атрезия кишки, гастроэзофагеальный рефлюкс, диафрагмальная грыжа)