

Epidemiology of septic infections caused by methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus*

*E. B. Brusina, L. S. Glazovskaia, T. V. Efimova

Department of Epidemiology, State Medical Academy of Kemerovsk, Russia

*Corresponding author: brusina@mail.ru. Article received July 17, 2013; accepted September 15, 2013

Abstract

The purpose of the work is to reveal the patterns of methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* (MRSA) spread in medical institutions and to develop the approaches to the epidemiological surveillance and control in health care institutions, depending on the level of MRSA spread. **Methods.** The study of 193.869 samples of biological material has been carried out. We have used standard microbiological techniques, molecular-genetic and statistical methods. **Results.** Due to the epidemiological monitoring of the circulation of MRSA in Kemerovo region the heterogeneity of distribution of strains in certain territories (from 2.63% to 60.12%; $\chi^2 = 40.97$; $p = 0.000$) has been revealed. The incidence of infections caused by MRSA in patients of health care organizations has been 10.97 per 1000 patients. The differences of circulation intensity of MRSA in patients of hospitals of different profiles (from 219.4 to 131.8 per 1000 patients; $\chi^2 = 755$, $p = 0.0003$) has been revealed. The belonging of the cultures to the clonal complex CC8/239 has been determined. The dependence of MRSA circulation on the frequency of disinfection processing of medical personnel hands has been established, the sensitivity of the cultures to disinfectant preparations and the preparations for local treatment of wounds has been investigated. **Conclusions.** 1. The circulation of MRSA in Kemerovo region in a population of people without pathological processes, in hospital patients and in closed institutions has been unequal. 2. The sources of MRSA in outpatient medical institutions are mostly patients with purulent infections of skin and soft tissues, infections of respiratory tract, ENT-organs and eyes. 3. The strains of MRSA, identified in surgical hospitals, have a significant pathogenic potential due to the genes embodying the synthesis of pathogenicity factors, that provide the immunosuppressive properties. 4. The dynamics of infections caused by MRSA remains stable; however, it is necessary to differentially develop the approaches to the surveillance of the given group of infections and correction of anti-epidemic measures depending on the prevalence of MRSA

Key words: *S. aureus*, drug resistance, bacterial infections, epidemiological surveillance.

Эпидемиология гнойно-септических инфекций, вызванных метициллинрезистентными штаммами золотистого стафилококка

Введение

Одним из ведущих направлений профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) является их своевременная лабораторная диагностика с изучением биологических свойств возбудителей инфекционно-воспалительного процесса, возникающего у пациентов и совершенствование системы микробиологического мониторинга. Важный аспект

проблемы, требующий научно-практической разработки – это определение этиологической роли отдельных микроорганизмов как возбудителей инфекции с учетом современных особенностей ИСМП [1, 2].

До настоящего времени золотистый стафилококк остается эпидемически значимым возбудителем инфекционных процессов различной локализации. С инвазией золотистого стафилококка связывают более 100

нозологических форм инфекций. Колонизация штаммов устойчивых к метициллину - methicillin-resistant strains of *Staphylococcus aureus* (MRSA) от 30 до 60% случаев приводит к развитию инфекции. Тяжелые клинические формы инфекций, вызванные MRSA, такие как пневмония, синдром септического шока, септический артрит, остеомиелит и другие, требуют длительного и дорогостоящего лечения.

Ежегодно в европейских странах регистрируется 170 000 MRSA-инфекций, количество умерших превышает 5000 человек [3]. В Германии 5% от общего количества внутрибольничных инфекций составляют инфекции, вызванные MRSA [4]. В США заболеваемость внебольничными инфекциями, вызванными MRSA, составляет 243 случая на 100 000 населения; внутрибольничными – 31 случай на 100 000 населения. Доля инфекций вызванных MRSA, в структуре инфекций кожи и мягких тканей достигает 50% [3]. Дополнительные расходы на лечение инфекций, вызванных MRSA, в европейских странах составляют около 380 млн. евро в год. По данным отечественных исследователей в Российской Федерации доля MRSA составляет 54,4% [5]. Развитие бактериемии, вызванной MRSA, увеличивает риск летального исхода в 3 раза по сравнению с бактериемиями, вызванными метициллин чувствительными штаммами (MSSA) [6].

Интенсивное развитие высокотехнологичных, инвазивных методов диагностики и лечения в сочетании с широким распространением микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью определяет необходимость непрерывного совершенствования эпидемиологического надзора и контроля [2].

Материал и методы

За 2012 год проведено исследование 193869 образцов биологического материала, взятого из различных локусов: 15449 образца отделяемого бронхов и мокроты, 18720 мазков со слизистых оболочек полости носа и зева, 4675 проб отделяемого глаз, 23234 мазков отделяемого половых органов, 3326 проб патологического материала из очагов поражения кожи, 12723 пробы раневого отделяемого, 9406 проб крови, 34679 проб мочи, 71657 проб испражнений.

В работе использованы стандартные микробиологические методы [7, 8]. Подтверждение и идентификация MRSA проводились при помощи тест-систем (Стафитест-16) и колориметрических карт (VITEK² GP). Определение чувствительности к антибактериальным препаратам – диско-диффузионным методом и с использованием колориметрических карт (VITEK² AST), определение ДНК MRSA – методом ПЦР с гибридационно-флуоресцентной детекцией; для определения структурного гена *tes A* применялся метод секвенирования. Идентификация генов энтеротоксинов A, B, C (*sea*, *seb*, *sec*), белка токсического шока (*tst*), гена токсина Пантона-Валентайна (*pv1*) проводилась методом ПЦР [9, 10]. Для определения клональной принадлежности культур использовался рестрикционно-модификационный тест

(RM-test) и метод спра-секвенирования. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам осуществлялось с использованием метода батистовых тест-объектов [11], метода «колодцев» [12].

Статистическая обработка данных проводилась методами вариационной статистики и анализа зависимостей с применением программ WinPeppi, Excel 6.0. Достоверность различий оценивалась по критерию χ^2 . Относительные показатели представлялись с указанием доверительных интервалов при 95% вероятности безошибочного прогноза (95% ДИ).

Результаты

На протяжении 19-летнего периода (1983-2012 гг.) в Кемеровской области осуществлялось динамическое наблюдение и эпидемиологический мониторинг за циркуляцией метициллинрезистентных штаммов золотистого стафилококка. По результатам проводимого в лечебных учреждениях эпидемиологического мониторинга многолетняя динамика резистентности имела неравномерный характер. Наблюдалась циклические колебания интенсивности циркуляции MRSA. За изученный период отмечено 4 подъема уровня циркуляции MRSA продолжительностью 2-3 года, обусловленные эпидемическим распространением возбудителя (с 1984 г. по 1986 г, с 1987 г. по 1991 г, с 1994 г. по 1997 г, с 2007 г. по 2009 г.). С 2000-го года доля MRSA от общего количества штаммов *S. aureus* находится на стабильно невысоком уровне (рис. 1). Не регистрируются вспышки инфекций, вызванных MRSA.

На региональном уровне эпидемиологический мониторинг распространения MRSA проводится с 2005 года. Система сбора информации в рамках проведения мониторинга включает в себя передачу результатов обследования пациентов с патологическими процессами различной локализации и ИСМП, отчетов о количестве выделенных штаммов MRSA, сведений о пациентах с инфекциями, вызванными MRSA и изолятов MRSA лабораториями лечебно-профилактических учреждений (ЛПУ) в референс-лабораторию.

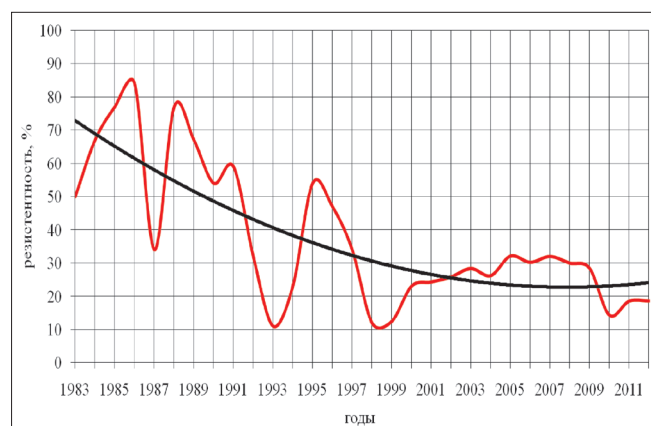


Рис. 1. Многолетняя динамика доли MRSA в Кемеровской области.

По результатам мониторинга доля MRSA на территории Кемеровской области составила 18,52%. Наблю-

далась неоднородность распространения штаммов по отдельным территориям области от 2,63% до 60,12% ($\chi^2 = 40,97$; $p = 0,000$). В ходе исследования установлено, что 75,2% в структуре инфекций вызванных MRSA составляют инфекции амбулаторных пациентов [95% ДИ = 73,11-77,21], 24,80% – ИСМП [95% ДИ = 22,79-26,89], что указывает на циркуляцию эпидемически значимых штаммов и риск инфицирования пациентов как в условиях лечебно-профилактических учреждений, так и во внебольничной среде.

Частота носительства золотистого стафилококка в популяции здоровых субъектов составила 188,5 на 1000 обследованных. Носители MRSA выявлялись в 13 раз реже, чем носители метициллинчувствительных *S. aureus* – 13,25 и 179,9 случаев соответственно на 1000 обследованных ($\chi^2 = 84,17$; $p < 0,0001$).

Заболеемость инфекциями, вызванными золотистым стафилококком, у пациентов ЛПУ составила 61,5 случая на 1000 обследованных пациентов, инфекциями, вызванными MRSA – 10,97 случая на 1000 пациентов. Метициллинчувствительный золотистый стафилококк выделялся с частотой 50,6 случая на 1000 пациентов ($\chi^2 = 7095$; $p < 0,0001$).

Частота выделения золотистого стафилококка при различных нозологических формах значительно варьировала. Одной из наиболее типичных локализаций стафилококковых инфекций является кожа и мягкие ткани. Заболеемость составила 325,62 случая на 1000 обследованных пациентов. Высокая частота выделения *S. aureus* установлена при раневых инфекциях (212,5 на 1000), инфекциях ожоговых ран (204,1 на 1000), инфекциях ЛОР-органов (179,6 на 1000, $p < 0,0001$). При этом доля выделения MRSA была невысокой, в пределах от 13,17% (генитальные инфекции) до 21,85% (инфекции кровотока) ($\chi^2 = 23,9$; $p < 0,0001$). При оценке внутригодовой динамики заболеваемости инфекциями, вызванными MRSA, установлен максимальный уровень заболеваемости в осеннее – зимний период.

По результатам мониторинга установлены значительные различия интенсивности циркуляции метициллин-резистентных золотистых стафилококков у пациентов, госпитализированных в стационары различного профиля. Наиболее высокая частота выделения MRSA выявлена в стационарах у пациентов с ожогами – 219,4 случая на 1000 обследованных и пациентов хирургических стационаров – 209,3 случая на 1000 пациентов. В отделениях реанимации и интенсивной терапии частота выделения MRSA составила 200 случаев на 1000 пациентов, в офтальмологических стационарах – 149,61 случая на 1000 пациентов, в акушерских стационарах – 131, 8 случая на 1000 пациентов ($\chi^2 = 755$; $p = 0,0003$). Минимальная частота выделения MRSA установлена на этапе наблюдения в женских консультациях у беременных – 97,32 случая на 1000 обследованных [95% ДИ = 85,2-110,6].

Проведение оценки резистентности штаммов MRSA к дезинфицирующим препаратам показало, что 8% [95% ДИ = 2,22-19,22%] культур устойчивы к группе кислород-

содержащих препаратов. Доля штаммов, устойчивых к хлорсодержащим дезинфектантам, составила 44% [95% ДИ = 22,99-58,75%]. Не выявлены штаммы MRSA, устойчивые к препаратам на основе четвертичных аммонийных соединений и глутарового альдегида.

В ходе исследования была изучена резистентность изолятов MRSA к антисептикам и препаратам, применяемым для местного лечения ран. Все исследованные штаммы проявляли устойчивость к препарату на основе йод-повидона. При нанесении мазевой формы, содержащей сульфадиазин, устойчивость установлена у 95% штаммов. Изолятов, устойчивых к мазям на основе хлорамфеникола, хлоргексидина биглюконата и полиэтиленгликоля, не выделено.

Известно, что руки медицинского персонала являются основным фактором передачи ИСМП. В 4-х изучаемых нами стационарах установлена прямая зависимость между частотой обработки рук и частотой инфекций, вызванных MRSA. Количество обработок рук в различных стационарах варьировало от 4 до 15 в смену. В 2-х стационарах, где частота обработки рук составляла 12-15 раз в смену, в течение года, ИСМП, вызванных MRSA выявлено не было. Максимальный уровень распространенности MRSA (43,5 случая на 1000 обследованных) выявлен в стационаре, где частота обработок рук составляла 5 раз в смену ($p = 0,000$).

С целью идентификации и определения генетических характеристик штаммов MRSA, циркулирующих в стационарах области, проведено исследование изолятов, выделенных из раневого отделяемого пациентов хирургических стационаров методом ПЦР. Все штаммы несли ген *mec A* и были идентифицированы как MRSA.

Гены, кодирующие синтез факторов патогенности обнаружены в 95,52% культур. Из общего количества исследованных штаммов 49,25% изолятов несли ген *sea*, кодирующий выработку энтеротоксина А. Ген *sec*, определяющий выработку энтеротоксина С выявлен в 85,07% изолятов, ген *tst*, кодирующий выработку белка токсического шока определен в 13,43% изолятов. Не обнаружены изоляты, несущие ген *rvt1*, детеминирующий синтез лейкоцидина Пантона-Валлентайна и ген *seb*, детеминирующий выработку энтеротоксина В.

Для изучения глобальной эпидемиологии и определения популяционной структуры MRSA был использован рестрикционно-модификационный тест, на основании которого культуры были отнесены к штаммам клонального комплекса CC8/239.

На основе выявленных закономерностей циркуляции возбудителя в медицинских организациях необходима дифференцированная разработка подходов к эпидемиологическому надзору и к организации системы противоэпидемических мероприятий в зависимости от уровня распространения MRSA.

Система мероприятий по предупреждению распространения эпидемически значимого возбудителя в стационарах с высоким уровнем его циркуляции должна включать в себя определение чувствительности

к дезинфицирующим препаратам, анализ количества и групп используемых дезинфицирующих препаратов, количества применяемых антисептиков для обработки рук, осуществление контроля качества обработки рук медицинского персонала, оптимизацию применения антибиотиков [2]. Важным направлением в системе мероприятий по предупреждению распространения MRSA является контроль выполнения и оценка эффективности проведения противоэпидемических мероприятий, а также планирование и проведение аудита в лечебно-профилактических учреждениях.

При возникновении вспышек ИСМП, вызванных MRSA, требуется разработка комплекса противоэпидемических мер, последующая оценка их эффективности и коррекция системы проводимых профилактических мероприятий.

В медицинских организациях с низким уровнем распространения MRSA необходимым является проведение оценки риска возникновения эпидемической ситуации, определение отделений риска, определение групп и факторов риска.

Выводы

Циркуляция MRSA на территории Кемеровской области, в популяции у лиц без патологических процессов, у пациентов стационаров и в закрытых учреждениях носит неравномерный характер. Отмечена неоднородность распространения MRSA на территории области. Наиболее интенсивная циркуляция MRSA выявлена в стационарах общего и хирургического профиля.

Источниками MRSA в ЛПУ амбулаторного профиля преимущественно являются пациенты с гнойными инфекциями кожи и мягких тканей, инфекциями дыхательных путей, ЛОР-органов и глаз.

Штаммы MRSA, выделяемые в хирургических стационарах, обладают существенным патогенным потенциалом за счет генов, детерминирующих синтез факторов патогенности, обладающих иммуносупрессивными свойствами. Набор выявленных гено-факторов патогенности является типичным для госпитальных популяций MRSA.

Динамика заболеваемости инфекциями, вызванными MRSA, на территории Кемеровской области остается стабильной, вместе с тем, на основе выявленных закономерностей распространения возбудителя необходима дифференцированная разработка подходов к надзору за данной группой инфекций и коррекция системы противоэпидемических мероприятий, в зависимости от уровня распространенности MRSA.

References

1. Pokrovskii VI, Akimkin VG, Briko NI, i dr. Puti sovershenstvovaniya laboratornoy diagnostiki infektsii svyazannykh s okazaniem meditsinskoy pomoshchi [Ways of improvement of laboratory diagnostics of infections connected with medical help rendering]. *Meditsinskiy almanah*. 2012;21(2):12-16.
2. Natsionalnaya kontsepsiya profilaktiki infektsii, svyazannykh s okazaniem meditsinskoy pomoshchi: utv. glavnyim gosudarstvennym sanitarnym vrachom RF 06.11.2011 [The national concept of prevention of the infections connected with rendering medical help: approved by the chief state health officer of the Russian Federation 06.11.2011].
3. David Michael Z, Daum Robert S. Community-Associated Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Epidemiology and Clinical Consequences of an Emerging Epidemic. *Clin Microbiol. Rev.* 2010;23(3):616-687.
4. Köck R, Mellmann A, Schaumburg F, et al. The Epidemiology of Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Germany. *Dtsch. Arztebl. Int.* 2011;108(45):761-767.
5. Romanov AV, Dehnic AI. Tipirovanie MRSA: kakie metody yavlyayutsya optimalnymi dlya resheniya razlichnykh zadach [Identified MRSA: what methods are optimum for the solution of various tasks]. *Klin. mikrobiologiya i antimikrobnaya himioterapiya*. 2011;2:168-176.
6. Köser CU, Holden MT, Ellington MJ, et al. Rapid Whole-Genome Sequencing for Investigation of a Neonatal MRSA Outbreak. *N. Engl. J. Med.* 2012;366:2267-2275.
7. MZ SSSR № 535 ot 22.04.85 g. «Ob unifikatsii mikrobiologicheskikh (bakteriologicheskikh) metodov issledovaniy, primenyaemykh v kliniko-diagnosticheskikh laboratoriyakh LPU». [No. 535 MH of USSR of 22.04.85. [About the unification of microbiological (bacteriological) methods of the researches applied in the kliniko-diagnostic laboratories in medical institutions].
8. Metodicheskie ukazaniya MUK 4.2.1890-04. «Opreделение chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterialnym preparatam», utv. glavnyim gosudarstvennym sanitarnym vrachom RF. M.: Federalnyi tsentr gossanepidnadzora Minzdrava Rossii, 2004 [Methodical instructions 4.2.1890-04. «Determination of sensitivity of microorganisms to antibacterial preparations», approved by the chief state health officer of the Russian Federation. M: Federal center of the state sanitary and epidemiological supervision of the Ministry of Health of Russia, 2004].
9. Mehrotra M, Wang G, Johnson WM, et al. Multiplex PCR for detection of genes for *Staphylococcus aureus* enterotoxins, exfoliative toxins, toxic shock syndrome toxin 1 and methicillin resistance. *J. Clin Microbiol.* 2000;38(3):1032-1035.
10. Lina G, Piamont Y. Involvement of Pantone-Valentine leukocidin-producing *Staphylococcus aureus* in primary skin infections and pneumonia. *Clin. Infect. Dis.* 1999;29:1128-1132.
11. R 4.2.2643-10. 3.5. Dezinfektologiya. Metody laboratornykh issledovaniy i ispytaniy dezinfektsionnykh sredstv dlya otsenki ih effektivnosti i bezopasnosti. Rukovodstvo (utv. Rospotrebnadzorom 01.06.2010) [P 4.2.2643-10. 3.5. Disinfectology. Methods of laboratory researches and tests of disinfectants for the assessment of their efficiency and safety. Management (approved by the Russian federal service 01.06.2010)].
12. Metodicheskie rekomendatsii po eksperimentalnomu (doklinicheskomu) izucheniyu lekarstvennykh preparatov dlya lecheniya gnoynykh ran [Methodical recommendations on experimental (preclinical) studying of medicines for treatment of purulent wounds]. MZ SSSR. Farmakologicheskii komitet [MH of the USSR. Pharmacological committee]. M., 1989;48.

