



ФГБУ «НЦАГиП им. В.И. Кулакова» Минздрава России

# 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



# Неонатальные инфекции

---

## Ранние

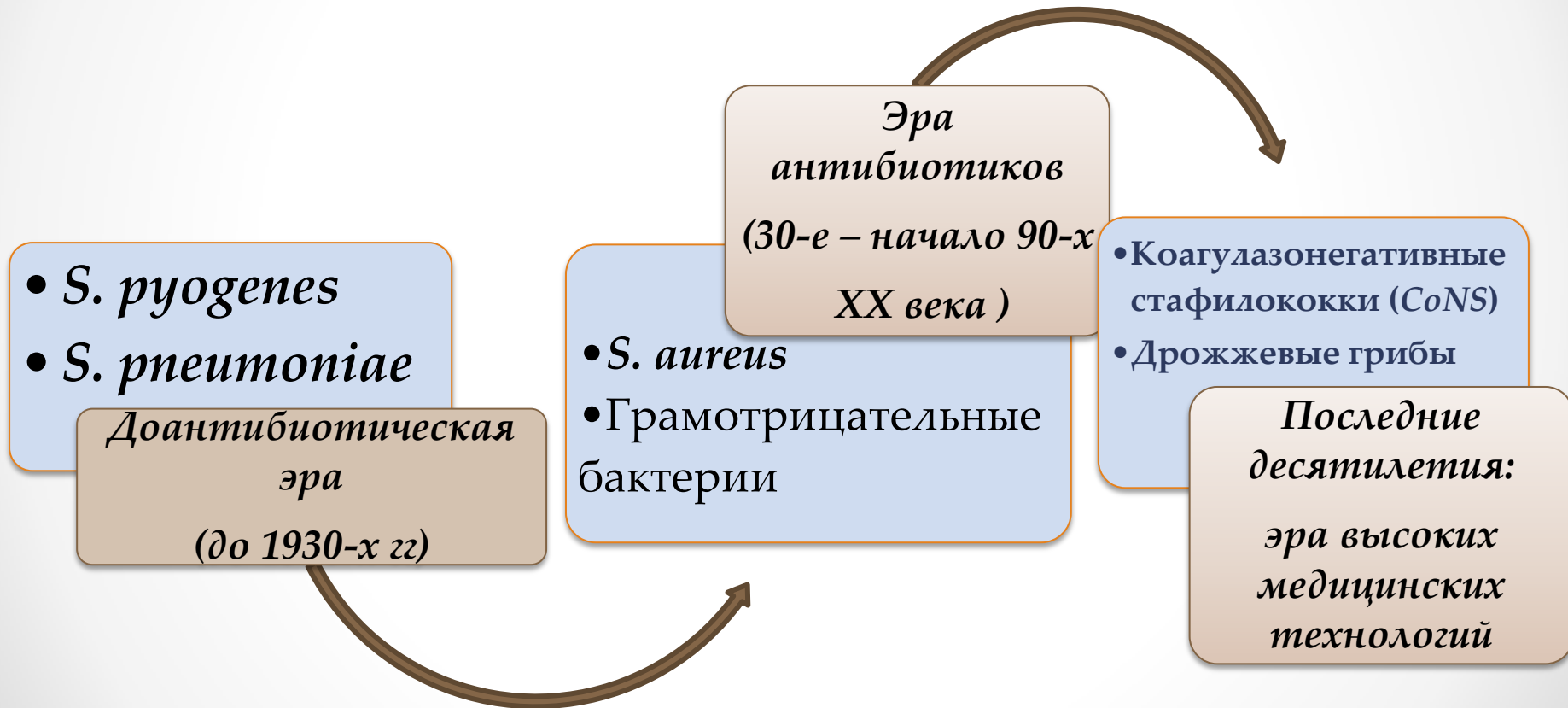
- как правило, внутриутробные
- источник — мать
- *S. agalactiae*, *E. coli*

---

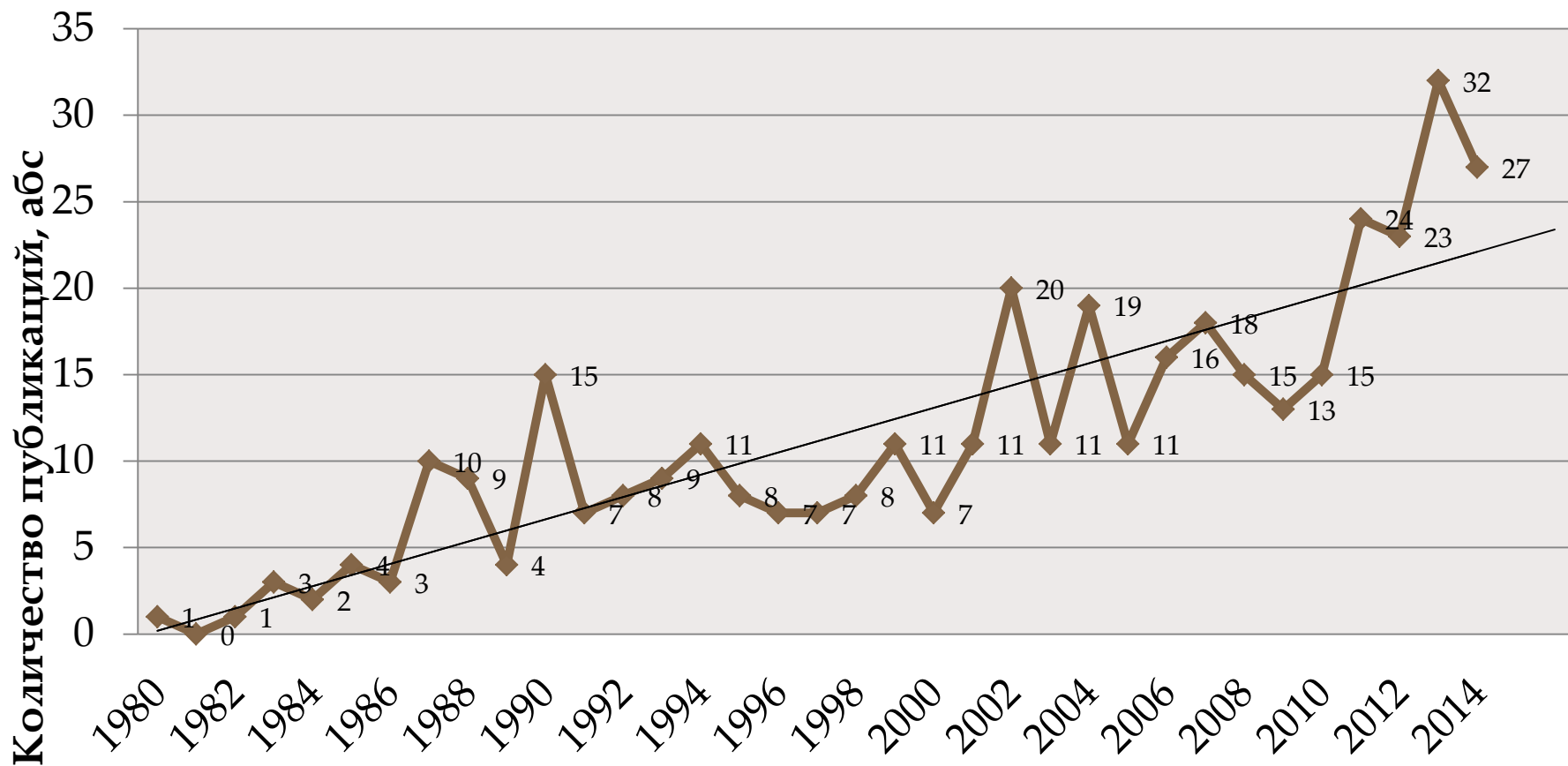
## Поздние

- нозокомиальные
  - источник - окружающая среда и медицинский персонал
-

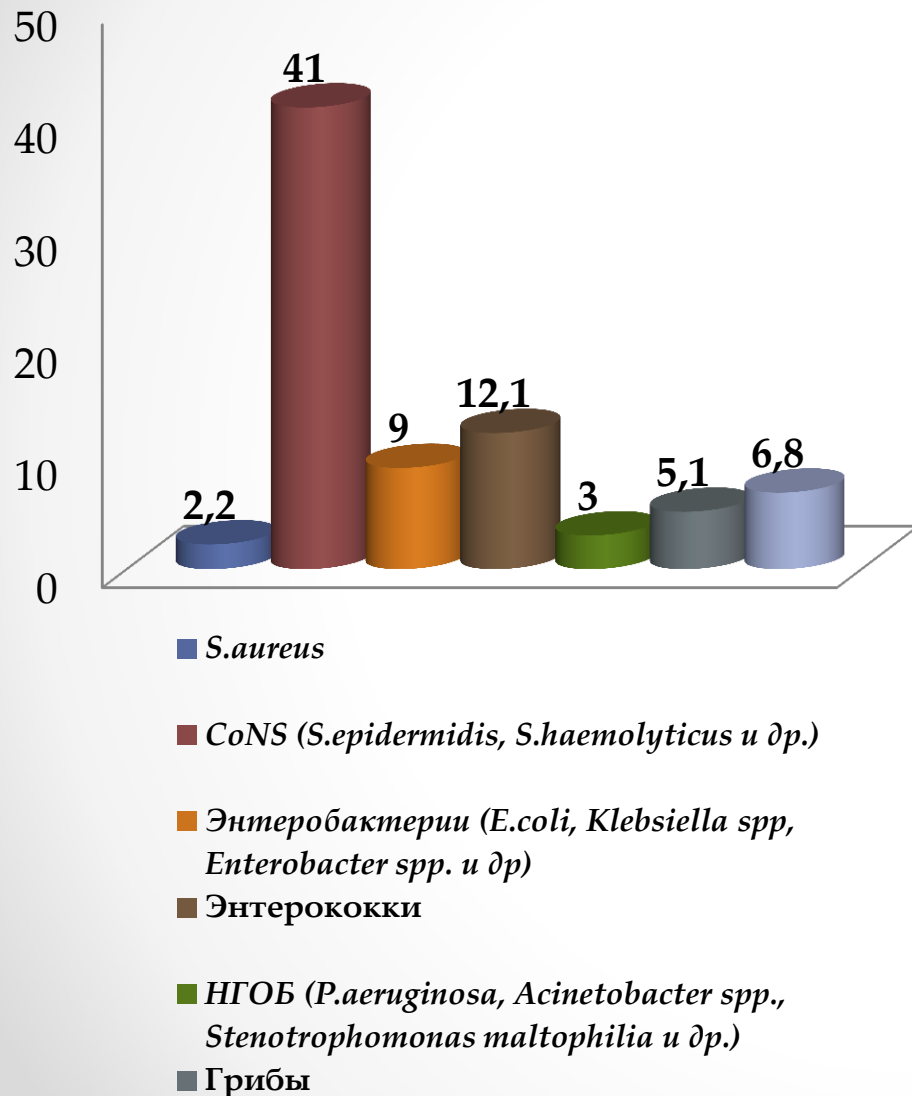
# Этиология поздних (нозокомиальных) неонатальных инфекций в ОРИТ новорожденных



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



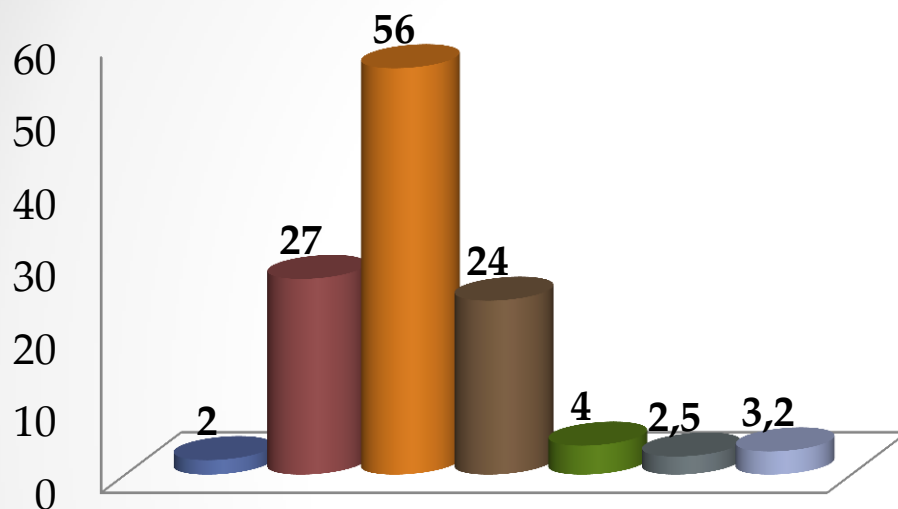
## Колонизация новорожденных в ОРИТ (микробиологический мониторинг) 2013-2014гг.



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

Микроорганизмы, выделенные из крови	Выделенные штаммы (n)	% от выделенных штаммов
CoNS	42	<b>66,6%</b>
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 spp.</i>	1	

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



■ *S. aureus*

■ CoNS (*S. epidermidis*, *S. haemolyticus* и др.)

■ Энтеробактерии (*E. coli*, *Klebsiella spp.*,  
*Enterobacter spp.* и др.)

■ Энтерококки

■ НГОБ (*P. aeruginosa*, *Acinetobacter spp.*,  
*Stenotrophomonas maltophilia* и др.)

■ Грибы

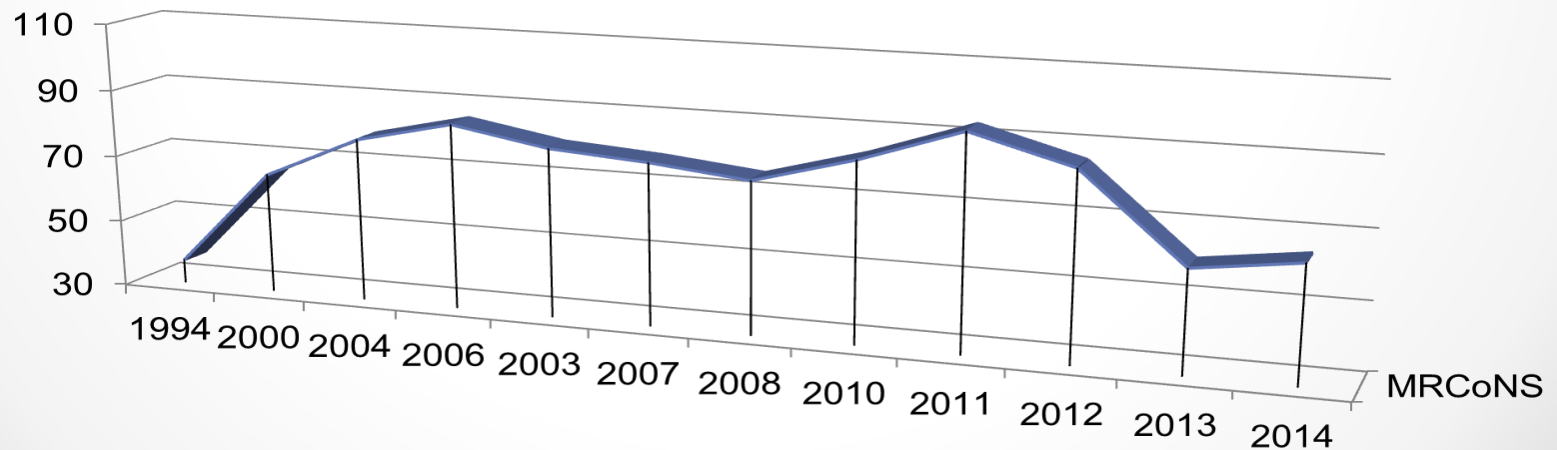
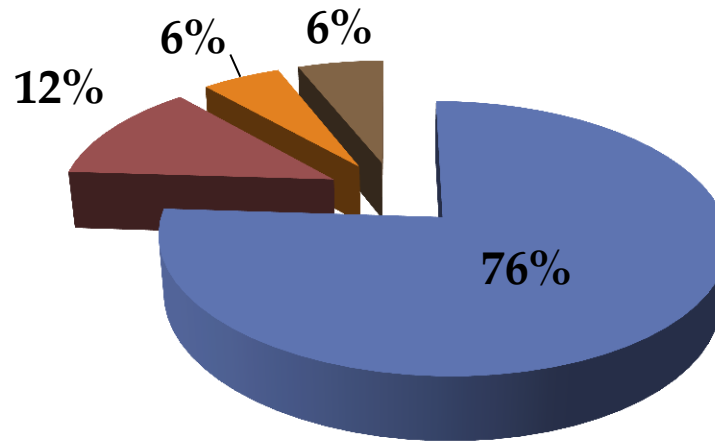
● ■ другие

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

Микроорганизмы, выделенные из крови	Выделенные штаммы (n)	% от выделенных штаммов
CoNS	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



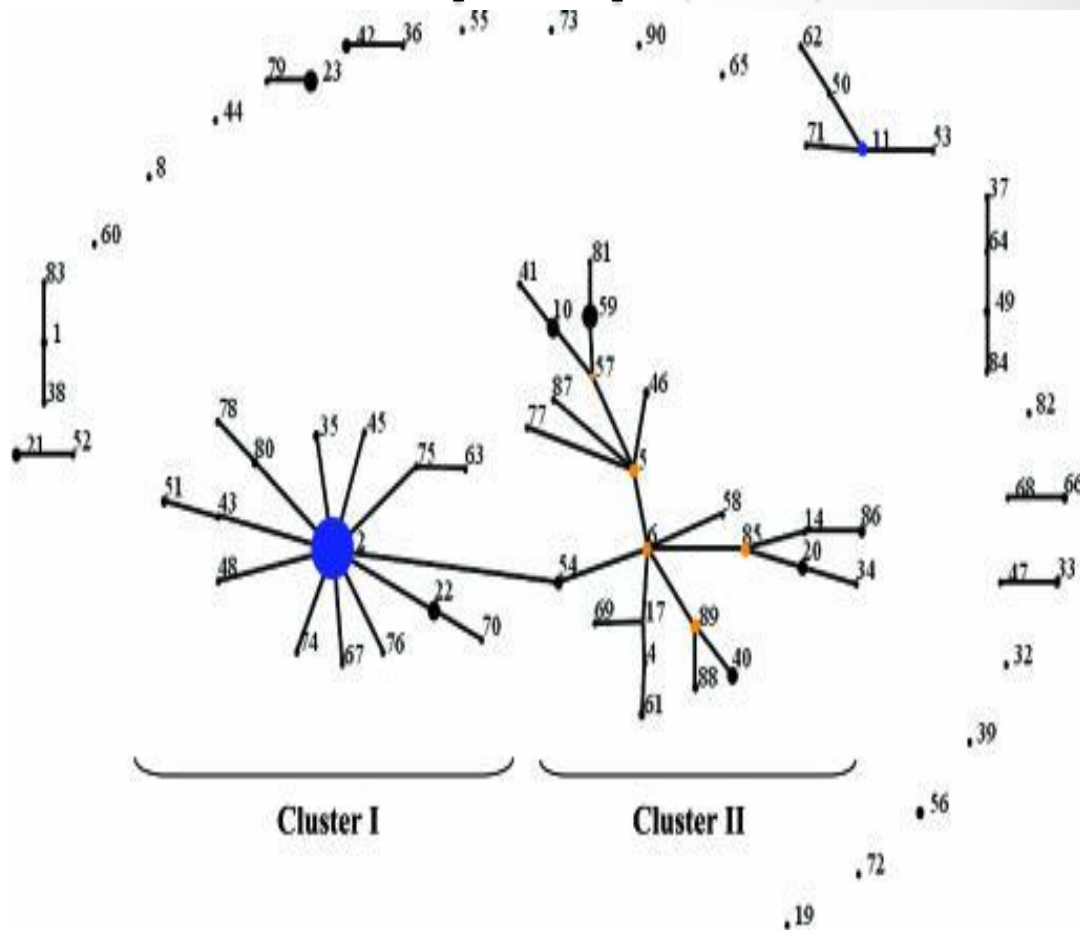


# Структура популяции госпитальных *S. epidermidis* (по результатам MLST)

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
<b>269</b>	<b>1-1-2-2-28-16-1</b>	<b>1</b>

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



Любасовская Л.А., Корниенко М.А., 2013

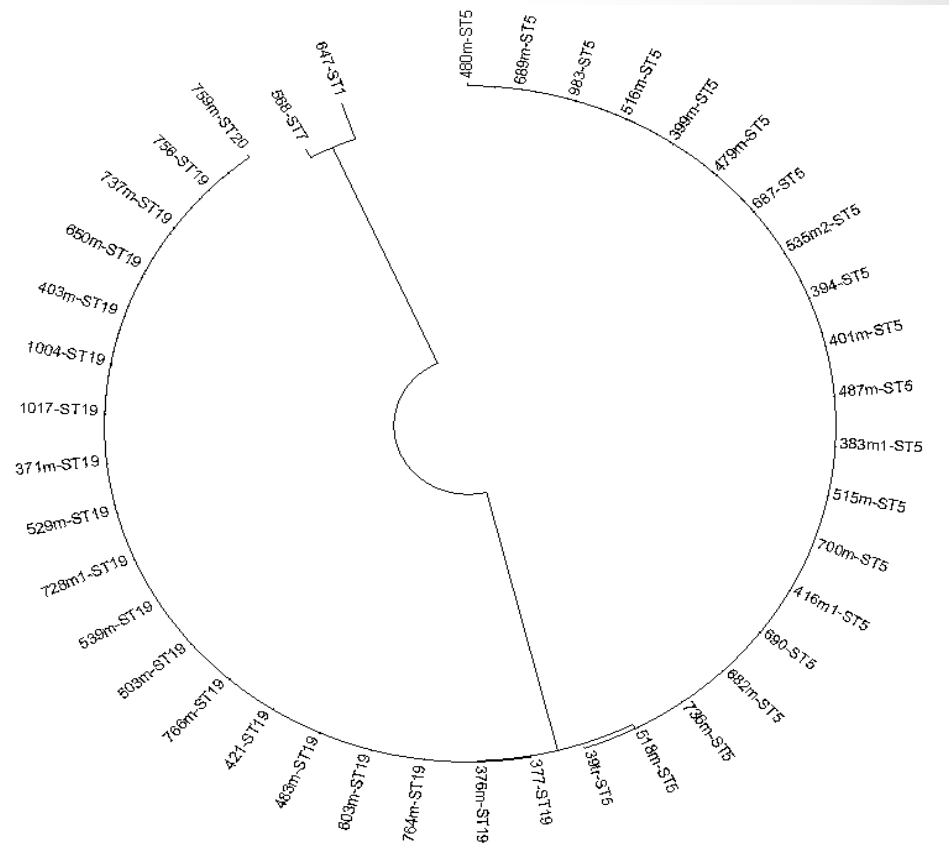
M. Miragaja et al. J Bacteriol. Mar 2007; 189(6): 2540–2552

В стационарах циркулирует генетически однородная популяция *S. epidermidis*

# 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>tvaK-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



Любасовская Л.А., Корниенко М.А, 2013

Нуклеотидные последовательности локусов  
*tvaK*, *rphE*, *tphK*, *gtr*, *arcC*, *tpi*, *aroE*

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 ОРВИ

## *S. epidermidis* (n=18)

Гены энтеро-токсинов и лейкоцидинов	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 энтеро-токсинов и лейкоцидинов	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 *tesA*

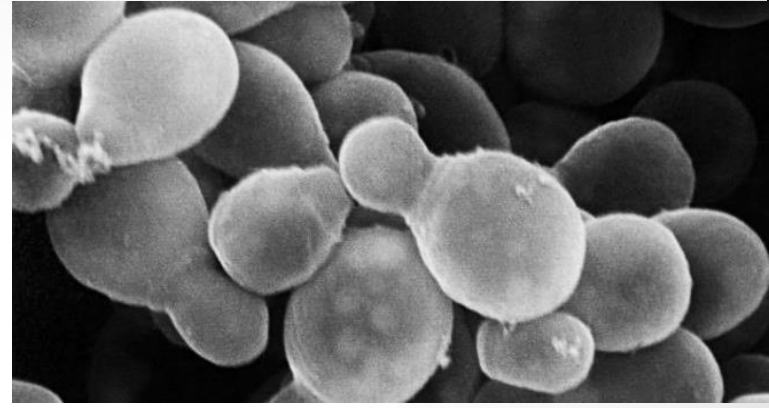
- Устойчивость ко всем бета-лактамым антибиотикам

Наличие большого количества факторов адгезии и колонизации

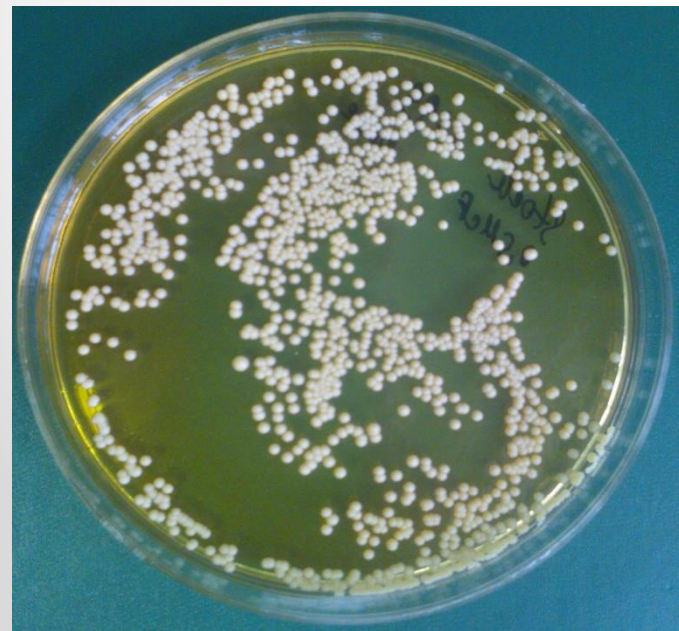
- Высокая способность закрепляться и образовывать биопленки на искусственных поверхностях (венозных катетерах, интубационных трубках и др.)

Иммунокомпромиссный контингент больных

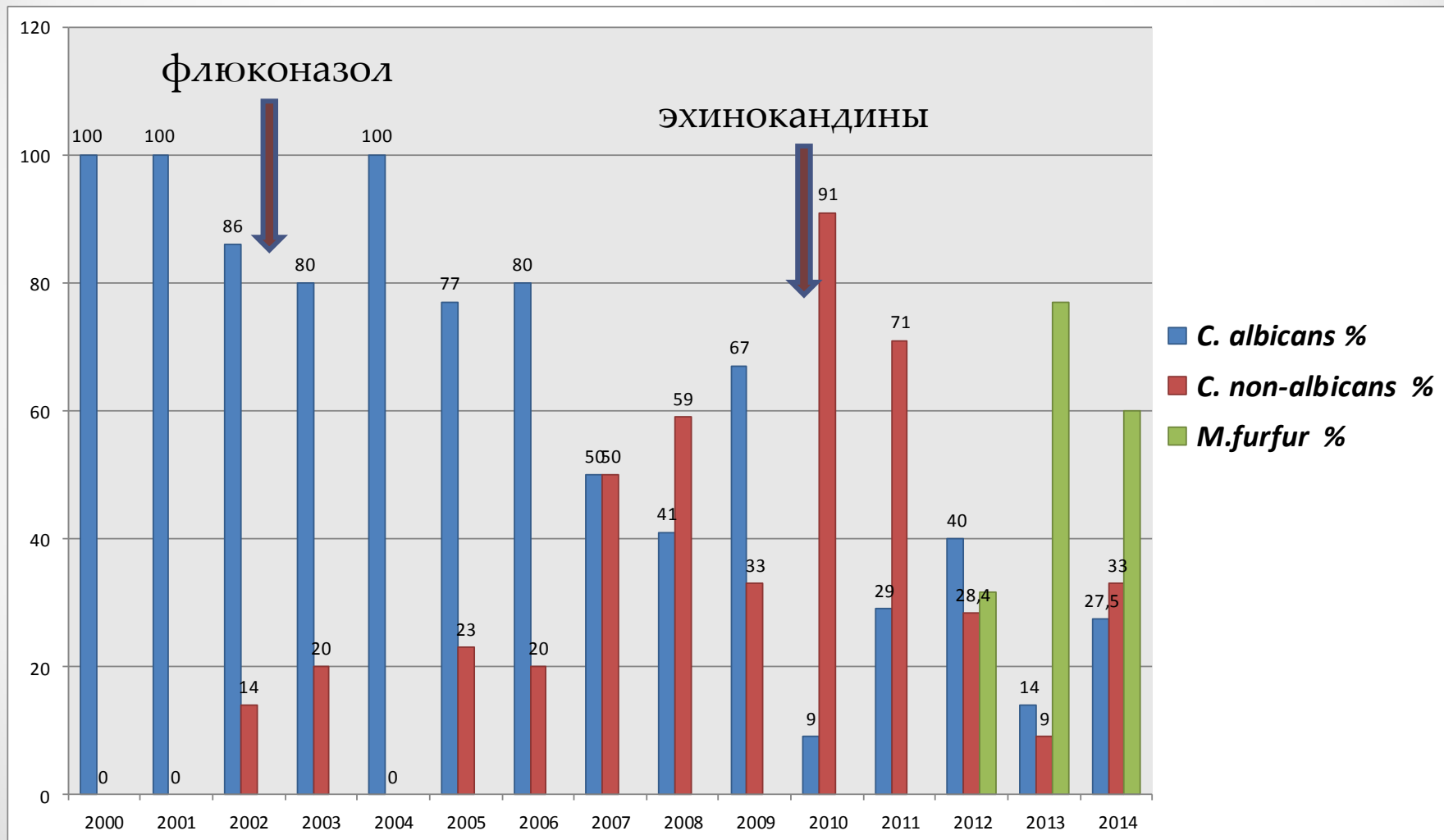
- Возможность реализовать низкий патогенный потенциал



# Дрожжевые грибы

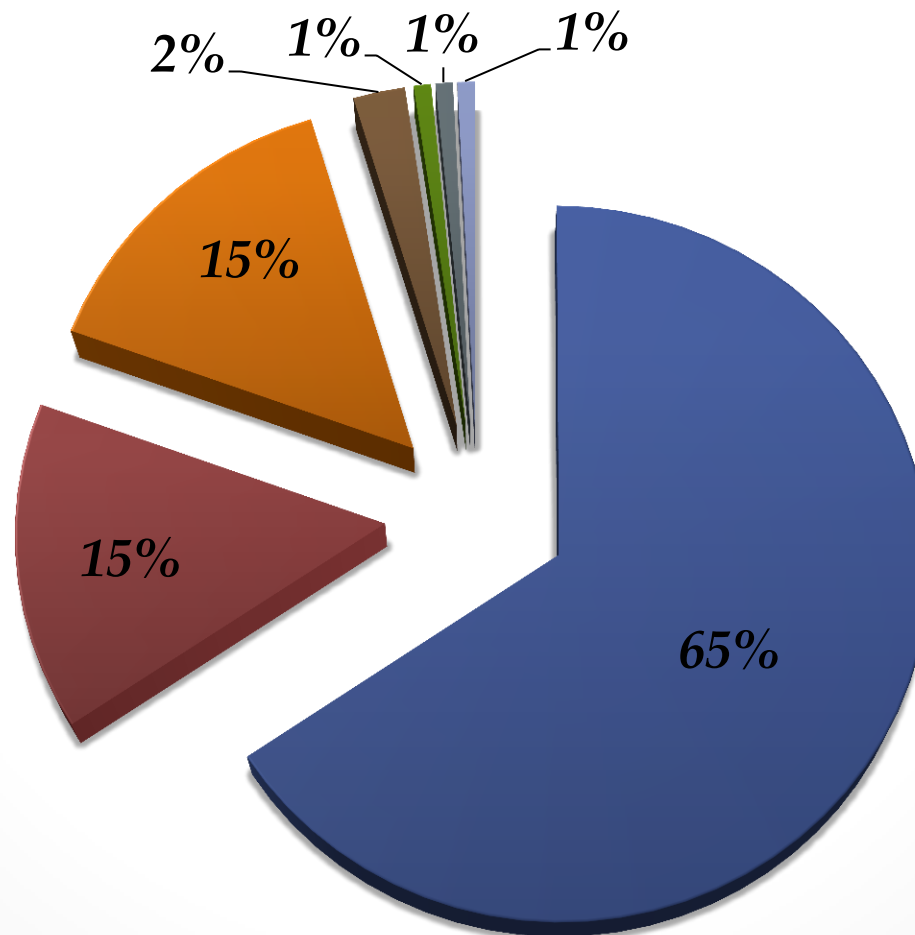


# Динамика видового состава дрожжевых грибов, выделенных у новорожденных ОРИТ



# 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 грибок 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

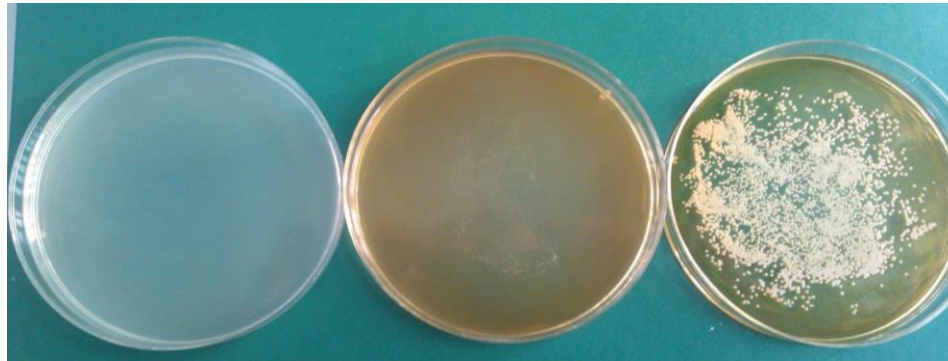
- Впервые в 2012 году из кала и зева новорожденного отделения хирургии и реанимации на агаре Сабуро на третьей сутки инкубации выделена *Malassezia furfur*



# 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 малацезий 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*

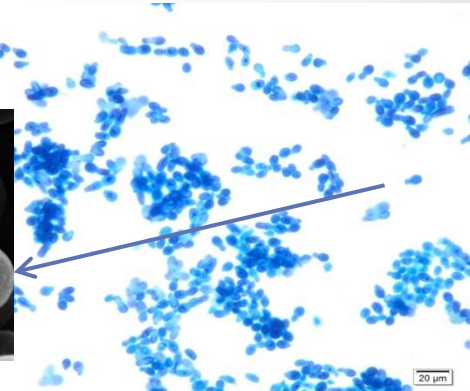
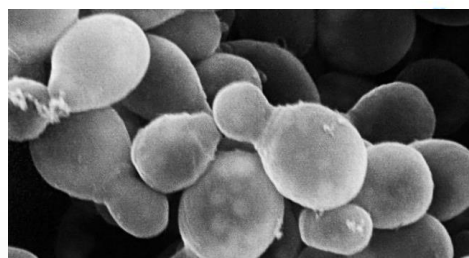
- На автоматическом бактериологическом анализаторе *Vitek2 Compact* идентификация проходит с высокой степенью достоверности



- 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 стандартизированных 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 ОРВИ
- 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, гастрошизис, диафрагмальная грыжа)