

**АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРОФЛОРЫ, ВЫДЕЛЕННОЙ ИЗ БИОПСИЙНОГО МАТЕРИАЛА У БОЛЬНЫХ С АТЕРОСКЛЕРОЗОМ****Д.М. Шарифуллина<sup>1</sup>, О.К. Поздеев<sup>2</sup>, Р.М. Васильева<sup>1</sup>,  
Т.И. Яковлева<sup>1</sup>, Р.Н. Хайруллин<sup>1</sup>**<sup>1</sup> ГАУЗ Межрегиональный клинико-диагностический центр  
420101, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Карбышева, 12А<sup>2</sup> Казанская государственная медицинская академия Минздрава России  
420012, Республика Татарстан, г. Казань, ул. Муштаря, 11

Целью настоящего исследования явилось изучение чувствительности бактерий, выделенных из атеросклеротических бляшек, к антимикробным препаратам. Материалом для исследований служили штаммы микроорганизмов, выделенные из биоптатов атеросклеротических бляшек, полученных во время проведения хирургического вмешательства пациентам с атеросклерозом сосудов. Проанализировано 137 изолятов бактерий коагулазонегативных стафилококков, из них обладающих метициллинрезистентностью – 13,1 %. Все выделенные штаммы были чувствительны к ванкомицину, линезолиду и моксифлоксацину. Число изолятов, устойчивых к эритромицину и тетрациклину, составило 16,3 % (22/135) и 13,9 % (19/137) соответственно. Наибольшую резистентность выделенные штаммы коагулазонегативных стафилококков проявляли к хлорамфениколу (43,4 %). В отношении клиндамицина, ципрофлоксацина и гентамицина штаммы *Staphylococcus* spp. проявляли достаточно высокую чувствительность (92,6, 92,0 и 90,5 % соответственно). Изучение чувствительности к антибиотикам 197 изолятов *P. acnes* показало, что все штаммы проявляли чувствительность ко всем тестированным антибиотикам (амоксциллину, амоксициллин-клавулановой кислоте, бензилпенициллину, имипенему, клиндамицину, пиперациллину, пиперациллин-тазобактаму, тикарциллину, тикарциллин-клавулановой кислоте, хлорамфениколу, цефокситину), за исключением метронидазола, к которому у пропионибактерий имеется природная устойчивость. Полученные данные свидетельствуют об умеренном распространении резистентности к метициллину (13,1 %), но высоком уровне резистентности к хлорамфениколу (43,3 %) среди изолятов коагулазонегативных стафилококков из образцов атеросклеротических бляшек. У штаммов пропионибактерий не было обнаружено приобретенной устойчивости к антибактериальным препаратам.

**Ключевые слова:** атеросклеротическая бляшка, коагулазонегативные стафилококки, пропионибактерии, чувствительность к антибиотикам.

В развитых странах смертность от заболеваний, вызванных атеросклерозом, составляет более 50 % всех летальных случаев. Важным фактором, способствующим формированию и нестабильности атеросклеротических бляшек, является воспаление. Кроме того, хорошо известно, что воспалительные процессы могут приводить к вторичному стенозу сосудов после вполне успешных баллонных ангиопластик

и стентирования [1]. Одним из самых распространенных факторов, инициирующих или поддерживающих воспалительный процесс в сосудах, является инфекция. К настоящему времени установлена существенная роль некоторых из них: вирусов (ВИЧ, цитомегаловирус, вирусы гепатита С, герпеса человека 1-го и 2-го типов, Эпштейна-Барр, ветряной оспы и гриппа), бактерий (*Helicobacter pylori*, *Chlamydia pneumoniae*,

**Шарифуллина Диляра Магсумовна** – врач-бактериолог, зав. бактериологической лабораторией, e-mail: dilmag57@mail.ru

**Поздеев Оскар Кимович** – д-р мед. наук, проф., зав. кафедрой микробиологии, e-mail: pozdeevoskar@gambler.ru

**Васильева Рита Мирзариповна** – врач-бактериолог высшей квалификационной категории, бактериологическая лаборатория, e-mail: vritam@mail.ru

**Яковлева Татьяна Ивановна** – врач-бактериолог высшей квалификационной категории, бактериологическая лаборатория, e-mail: dr\_bak@mail.ru

**Хайруллин Рустем Наилевич** – д-р мед. наук, заслуженный врач РТ, генеральный директор, e-mail: icdc@icdc.ru

*Haemophilus influenzae*, *Mycoplasma pneumoniae*, микобактерии, неспоровые анаэробы и др.) в патогенезе хронических воспалительных процессов в эндотелии сосудов [2, 3]. Их этиологическая значимость нуждается в своем подтверждении, но не вызывает сомнений их способность участвовать в воспалительных процессах в стенках сосудов. Особенно это представляется убедительным у лиц среднего возраста, у которых отсутствуют классические факторы риска атеросклероза (дислипидемия, гипертония, метаболические расстройства) [4]. Ранее нами также были выделены различные микроорганизмы из атеросклеротических бляшек различной локализации [5, 6]. У сторонников этиологической значимости микроорганизмов в развитии атеросклероза имеется множество оппонентов, многие из которых выдвигают вполне обоснованные доводы относительно возможности их опосредованного влияния на развитие атеросклеротического процесса. Соответственно, сложилось скептическое отношение к назначению антимикробной терапии подобным больным. Тем не менее были проведены многочисленные рандомизированные исследования по изучению влияния антибиотикотерапии на течение хронической коронарной недостаточности, например, ACADEMIC (Azithromycin in Coronary Artery Disease: Elimination of Myocardial Infection with Chlamydia), WIZARD (Weekly Intervention with Zithromax for Atherosclerosis and its Related Disorders), в которых отмечен умеренный положительный эффект после элиминации *S. pneumoniae* [7, 8]. Аналогичные результаты получены при оценке эффективности антимикробной терапии при острой коронарной недостаточности, проведенной в рамках программ ROXIS (Roxithromycin in Ischemic Syndromes), STAMINA (South Thames Trial of Antibiotics in Myocardial Infarction and Unstable Angina), CLARIFY (Clarithromycin in Acute Coronary Syndrome Patients), ANTIBIO (Antibiotic Therapy after Acute Myocardial Infarction), AZACS (The Azithromycin in Acute Coronary Syndrome), PROVE-IT (Pravastatin or Atorvastatin Evaluation and Infection Therapy) [9–13].

Принимая во внимание вышеизложенное, целью настоящего исследования явилось изучение чувствительности бактерий, выделенных из атеросклеротических бляшек к антимикробным препаратам.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Исследования проведены на базе бактериологической лаборатории ГАУЗ «Межрегиональный клинко-диагностический центр». Ма-

териалом для исследований явились штаммы микроорганизмов, выделенные из биоптатов атеросклеротических бляшек, полученных во время проведения каротидной эндартерэктомии, аортокоронарного и бедренно-подколенного шунтирования, аортобифemorального протезирования пациентам с атеросклерозом сосудов. Забор образцов проводили в соответствии с МУ 4.2.2039-05 «Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории». Отобранные биоптаты асептически помещали в стерильные пробирки с тиогликолевой средой (Himedia, Индия), немедленно доставляли в лабораторию и инкубировали при 35 °С. Наблюдения за посевами проводили в течение 60 суток. При появлении в пробирках с биоптатом видимых признаков роста проводили исследования на выявление аэробных и анаэробных микроорганизмов с помощью коммерческих наборов МИКРО-ЛА-ТЕСТ (ERBA LACHEMA, Чехия) и/или MicroScan (Siemens, США). Чувствительность стафилококков к антибиотикам определяли методом пограничных концентраций (МПК) на бактериологическом анализаторе WalkAway-96 (Siemens Healthcare Diagnostics, США) с использованием панели MicroScan® Dried Positive Breakpoint Combo 20 (Siemens Healthcare Diagnostics, США). Чувствительность *Propionibacterium acnes* к антибиотикам определяли методом МПК на стрипах АТВ анаэро (BioMerieux, Франция) согласно инструкции изготовителя.

#### РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследовано 1449 биоптатов атеросклеротических бляшек (АБ), в том числе 1338 из брахицефальных артерий, 47 из коронарных артерий, 4 из аорты и 20 из периферических сосудов. Материал получен у 1140 мужчин (78,7 % всех пациентов) в возрасте 33–82 лет (средний возраст 60,9 года) и 309 (21,3 %) женщин в возрасте 25–83 лет (средний возраст 63,9 года). Установлено присутствие микроорганизмов в 77,5 % исследованных образцов АБ. У 48,2 % пациентов выделены бактерии рода *Staphylococcus* (699 штаммов), у 33 % больных обнаружены *Propionibacterium* (485 штаммов). Ассоциации микроорганизмов выявлены в 5,5 % образцов (табл. 1).

Коагулазонегативные стафилококки составили 99 % штаммов выделенных стафилококков, а 99,6 % изолятов пропионибактерий были идентифицированы как *P. acnes*. Доля других бактерий была незначительной: *Streptococcus* spp. – 0,34 %, *Anaerococcus* – 0,17 %, *Micrococcus*, *Corynebacterium* и *Esherichia coli* – 0,8 %.

Таблица 1

**Частота обнаружения микроорганизмов в биоптатах атеросклеротических бляшек в зависимости от их локализации (n/%)**

Локализация АБ	Количество биоптатов	Число положительных находок	Вид микроорганизмов			Ассоциация микроорганизмов
			<i>Propionibacterium</i>	<i>Staphylococcus</i>	Прочие	
Сонная артерия	1378	1009 (73,3+/-1,18)	474 (34,4+/-1,28)	698 (50,7+/-1,35)	9 (0,7+/-0,22)	79 (5,7+/-0,62)
Коронарные артерии	47	13 (27,7+/-6,52)	4 (8,5+/-4,07)	—	—	—
Аорта	4	1 (25,0+/-21,65)	1 (25,0+/-21,65)	1 (25,0+/-21,65)	—	1 (25,0+/-21,65)
Подвздошная артерия	2	1 (50,0+/-35,35)	1 (50,0+/-35,35)	—	—	—
Бедренная артерия	15	5 (33,3+/-2,1)	5 (33,3+/-2,1)	—	—	—
Подколенная артерия	2	1 (50,0+/-35,35)	—	—	—	—
Лучевая артерия	1	—	—	—	—	—
Итого	1449	1030 (71,1+/-1,19)	485 (33,5+/-1,24)	699 (48,2+/-1,31)	9 (0,6+/-0,2)	80 (5,5+/-0,6)

Поскольку основными видами бактерий, выделенных из АБ, явились коагулазонегативные стафилококки и пропионибактерии, то мы ограничились определением чувствительности к различным антибиотикам среди изолятов этих бактерий. Проанализировано 137 изолятов бактерий коагулазонегативных стафилококков. Частота выделения метициллинрезистентных стафилококков составила 13,1 % (18/137) штаммов. Для них было характерно наличие ассоциированной резистентности к антимикробным препаратам других групп. Все выделенные штаммы были чувствительны к ванкомицину, линезолиду и моксифлоксацину. К эритромицину и тетра-

циклину чувствительны 83,7 (113/135) и 86,1 % (118/137) соответственно. Наименее активным среди протестированных препаратов в отношении коагулазонегативных стафилококков оказался хлорамфеникол (43,4 % устойчивых штаммов). В отношении прочих антибиотиков выделенные изоляты проявляли достаточно высокую чувствительность (табл. 2).

Изучение чувствительности к антибиотикам 197 изолятов *P. acnes* показало, что все штаммы проявляли чувствительность ко всем тестируемым антибиотикам (амоксциллину, амоксициллин/клавулановой кислоте, бензилпенициллину, имипенему, клиндамицину, пиперацилли-

Таблица 2

**Чувствительность выделенных штаммов коагулазонегативных стафилококков к антимикробным препаратам (n/%)**

Наименование антимикробного препарата	Количество исследований	Число чувствительных штаммов
Оксациллин	137	119 (86,9+/-2,88)
Гентамицин	137	124 (90,5+/-2,51)
Тетрациклин	137	118 (86,1+/-2,96)
Эритромицин	135	113 (83,7+/-3,18)
Клиндамицин	136	126 (92,6+/-2,24)
Хлорамфеникол	136	77 (56,6+/-4,25)
Ципрофлоксацин	137	126 (92,0+/-2,32)
Моксифлоксацин	129	129 (100)
Ванкомицин	137	137 (100)
Линезолид	137	137 (100)

Таблица 3

**Чувствительность выделенных штаммов *Propionibacterium acnes*  
к антимикробным препаратам (n/%)**

Наименование антимикробного препарата	Количество исследований	Число чувствительных штаммов
Амоксициллин	197	197 (100)
Амоксициллин/клавулановая кислота	197	197 (100)
Бензилпенициллин	197	197 (100)
Имипенем	197	197 (100)
Клиндамицин	197	197 (100)
Метронидазол	197	0 (0)
Пиперациллин	197	197 (100)
Пиперациллин/тазобактам	197	197 (100)
Тикарциллин	197	197 (100)
Тикарциллин/клавулановая кислота	197	197 (100)
Хлорамфеникол	197	197 (100)
Цефокситин	197	197 (100)

ну, пиперациллин/тазобактаму, тикарциллину, тикарциллин/клавулановой кислоте, хлорамфениколу, цефокситину), за исключением метронидазола, к которому у пропионибактерий имеется природная устойчивость (табл. 3).

#### ОБСУЖДЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют об умеренном распространении метициллинрезистентности (13,1 %), но высоком уровне резистентности к хлорамфениколу (43,3 %) среди изолятов коагулазонегативных стафилококков из образцов атеросклеротических бляшек. У штаммов пропионибактерий не было обнаружено приобретенной устойчивости к антибактериальным препаратам. Можно полагать, что инфицирование атеросклеротических бляшек микрофлорой происходит в амбулаторных условиях при транзиторных бактериемиях, возникающих при различных нарушениях целостности кожных покровов и слизистых и при воспалительных заболеваниях. При этом многие авторы как источник инфекции рассматривают ротовую полость и кишечник. Наши данные по спектру микроорганизмов, обнаруженных в АБ, коррелируют с данными ряда исследований, также показавших преобладание пропионибактерий и стафилококков [14–16]. Эти бактерии являются представителями нормальной микрофлоры, но также способны вызывать широкий спектр заболеваний у человека, в том числе поражения сердечно-сосудистой системы как за счет непосредственного повреждения сосудистой стенки, так и посредством индукции провоспалительных цитокинов, что способствует поддержанию в ней хронического воспаления.

#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Полученные данные свидетельствуют об умеренном распространении метициллинрезистентности (13,1 %), но высоком уровне резистентности к хлорамфениколу (43,3 %) среди изолятов коагулазонегативных стафилококков в изученных образцах атеросклеротических бляшек. У штаммов пропионибактерий не было обнаружено приобретенной устойчивости к антибактериальным препаратам.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. **Libby P.** Inflammation in atherosclerosis. // *Arterioscler. Thromb. Vasc. Biol.* 2012. Vol. 32, N 9. P. 2045–2051.
2. **Sessa R., Pietro M.D., Filardo S., Turriziani O.** Infectious burden and atherosclerosis: a clinical issue // *World. J. Clin. Cases.* 2014. Vol. 2, N 7. P. 240–249.
3. **Budzycski J., Wiñniewska J., Ciecierski M., Kkdzia A.** // Association between bacterial infection and peripheral vascular disease: a review // *Int. J. Angiol.* 2016. Mar. Vol. 25, N 1. P. 3–13.
4. **Dietrich T., Sharma P., Walter C., Weston P., Beck J.** // The epidemiological evidence behind the association between periodontitis and incident atherosclerotic cardiovascular disease // *J. Periodontol.* 2013. Vol. 84, N 4. Suppl. P. 70–84.
5. **Шарифуллина Д.М., Васильева Р.М., Яковлева Т.И., Николаева Е.Г., Поздеев О.К., Ложкин А.П., Хайруллин Р.Н.** Микробный пейзаж биоптатов атеросклеротических бляшек // *Казанский мед. журн.* 2015. Т. 96, № 6. С. 979–982.
6. **Ziganshina E.E., Sharifullina D.M., Lozhkin A.P., Khayrullin R.N. et al.** Bacterial communities associated with atherosclerotic plaques from russian individuals with atherosclerosis // *PLoS One.* Vol. 11, N 10. P. e0164836.

7. Muhlestein J.B., Anderson J.L., Carlquist J.F. et al. Randomized secondary prevention trial of azithromycin in patients with coronary artery disease: primary clinical results of the ACADEMIC study // *Circulation*. 2000. Vol. 102. P. 1755–1760.
8. O'Connor C.M., Dunne M.W., Pfeffer M.A. et al. Azithromycin for the secondary prevention of coronary heart disease events: the WIZARD Study: a randomized controlled trial // *JAMA*. 2003. Vol. 290. P. 1459–1466.
9. Gurfinkel E., Bozovich G., Daroca A., Beck E. et al. Randomised trial of roxithromycin in non-Q-wave coronary syndromes: ROXIS Pilot Study // ROXIS Study Group. *Lancet*. 1997. Vol. 350. P. 404–407.
10. Stone A.F., Mendall M., Kaski J.C., Gupta S. et al. Antibiotics against Chlamydia pneumoniae and Helicobacter pylori reduce further cardiovascular events in patients with acute coronary syndromes [abstract] // *J. Am. Coll. Cardiol.* 2001. Vol. 37 (2 Suppl A) 349A.
11. Zahn R., Schneider S., Frilling B., Seidl K. et al. Antibiotic therapy after acute myocardial infarction: a prospective randomized study // *Circulation*. 2003. Vol. 107. P. 1253–1259.
12. Sinisalo J., Mattila K., Valtonen V., Anttonen O. et al. Effect of 3 months of antimicrobial treatment with clarithromycin in acute non-q-wave coronary syndrome // *Circulation*. 2002. Vol. 105. P. 1555–1560.
13. Dunne M. WIZARD and the design of trials for secondary prevention of atherosclerosis with antibiotics // *Am. Heart J.* 1999. Vol. 138 (5 Pt 2). P. 542–544.
14. Koren O., Spor A., Felin J., Fak F. et al. Human oral, gut and plaque microbiota in patients with atherosclerosis // *PNA Sci. USA*. 2011. Vol. 108, N 1. P. 4592–4598.
15. Rafferty B., Jönsson D., Kalachikov S., Demmer R.T. et al. Impact of monocytic cells on recovery of uncultivable bacteria from atherosclerotic lesions. // *J. Intern. Med.* 2011. Vol. 270, N 3. P. 273–280.
16. Olszewski W.L., Rutkowska J., Moscicka-Wesolowska M. et al. // Bacteria of leg atheromatous arteries responsible for inflammation // *Vasa*. 2016. Sep. Vol. 45, N 5. P. 379–385.

#### ANTIBIOTIC-RESISTANCE OF MICROBIAL FLORA ISOLATED FROM BIOPTATES MATERIAL FROM PATIENTS WITH ATHEROSCLEROSIS

D.M. Sharifullina<sup>1</sup>, O.K. Pozdееv<sup>2</sup>, R.M. Vasil'eva<sup>1</sup>, T.I. Yakovleva<sup>1</sup>, R.N. Khayrullin<sup>1</sup>

<sup>1</sup> *Interregional Clinical and Diagnostic Center  
420101, Republic of Tatarstan, Kazan, Karbyshev str., 12A*

<sup>2</sup> *Kazan State Medical Academy  
420012, Republic of Tatarstan, Kazan, Mushtari str., 11*

The sensitivity of strains of microorganisms isolated from bioplates of atherosclerotic plaques to different antimicrobials was studied. For this study, the samples of atherosclerotic plaques from a group of patients that underwent elective carotid endarterectomy were used. Among 137 strains of coagulase-negative staphylococci 13.1 % of all isolates were methicillin-resistant, but all were sensitive to vancomycin, linezolid and moxifloxacin. Some strains of staphylococci possessed the resistance to erythromycin and tetracycline (16.3 %) and (13.9 %) respectively. The greatest resistance among coagulase-negative staphylococci to chloramphenicol (43.4 %) were identified. The high sensitivity of such bacteria to clindamycin, ciprofloxacin and gentamycin (92.6, 92.0 and 90.5 % respectively) were established. Among 197 isolates of Propionibacterium acnes all strains were highly sensitive to all antibiotics (amoxicillin, amoxicillin-clavulanic acid, benzylpenicillin, imipenem, clindamycin, piperacyllin, piperacyllin/tazobactam, ticarcillin, ticarcillin-clavulanic acid, chloramphenicol and cefoxitin) which were tested. As exception was a metronidazole resistance to which bacteria are naturally refractory. The data obtained confirm that only small part of coagulase-negative staphylococci possessed the resistance to methicillin (13.1 %), but many among them demonstrated a high level of resistance to chloramphenicol. Between the strains of propionibacteria the acquired resistance to different antibacterials was not revealed.

**Keywords:** atherosclerotic plaques, coagulase-negative staphylococci, propionibacterium, antibiotics sensitivity.

*Статья поступила 6 апреля 2018 г.,  
принята в печать 13 июня 2018 г.*