

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ КАРБАПЕНЕМАЗОПРОДУЦИРУЮЩИХ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* В ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

¹Гомельский государственный медицинский университет, ²Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Беларусь

Цель. В рамках программы микробиологического мониторинга изучить распространенность карбапенемазопродуцирующих *K. pneumoniae* в организациях здравоохранения Гомельской области и оценить уровень их устойчивости к антибактериальным препаратам. **Материалы и методы.** Для 91 клинического изолята *Klebsiella pneumoniae* с множественной антибиотикорезистентностью, выделенных в Гомеле и Гомельской области, выполнена детекция генов карбапенемаз методом ПЦР в реальном времени и определена чувствительность к антибактериальным препаратам. **Результаты.** Выявлено 68 продуцентов карбапенемаз: KPC — 1 изолят, OXA-48 — 47 изолятов, NDM — 20 изолятов. Продуценты карбапенемаз обнаружены в 11 организациях здравоохранения Гомеля и 8 центральных районных больницах районных центров Гомельской области. Все они имели ассоциированную устойчивость к большинству антибиотиков и сохраняли чувствительность к колистину (91,2% чувствительных изолятов) и тигециклину (98,5%). **Заключение.** Распространение карбапенемазопродуцирующих изолятов *K. pneumoniae* в организациях здравоохранения значительно затрудняет проведение эффективной антибиотикотерапии пациентам и требует внедрения адекватных мер инфекционного контроля, направленных на ограничение их циркуляции в госпитальной среде.

Журн. микробиол., 2019, № 4, С. 53—58

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, карбапенемазы, антибиотикорезистентность, меропенем, колистин

Д.В.Танальский¹, Т.А.Петровская^{1,2}, Н.А.Бонда², А.И.Козлова¹, О.В.Осипкина¹

PREVALENCE OF CARBAPENEMASE-PRODUCING *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* IN THE GOMEL REGION

¹Gomel State Medical University, ²Gomel Regional Center for Hygiene, Epidemiology and Public Health, Belarus

Aim. Within the microbiological monitoring program, to study the prevalence of carbapenemase-producing *K. pneumoniae* in the healthcare organizations of the Gomel region and assess their level of resistance to antibacterial drugs. **Materials and methods.** For 91 clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* with multiple antibiotic resistance, isolated in Gomel and Gomel region, carbapenemase genes were detected by real-time PCR and sensitivity to antibacterial drugs was determined. **Results.** 68 carbapenemase producers were revealed: KPC — 1 isolate, OXA-48 — 47 isolates, NDM — 20 isolates. Carbapenemase producers were found in 11 Gomel health organizations and 8 central district hospitals of the regional centers of the Gomel region. All of them had an associated resistance to most antibiotics and retained sensitivity to colistin (91.2% sensitive isolates) and tigecycline (98.5%). **Conclusion.** The spread of carbapenemase-producing *K. pneumoniae* isolates in healthcare organizations makes it very difficult to conduct effective antibiotic therapy for patients and requires the introduction of appropriate infection control measures aimed at limiting their circulation in the hospital environment.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2019, No. 4, P. 53—58

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, carbapenemase, antibiotic resistance, meropenem, colistin

ВВЕДЕНИЕ

Для систем здравоохранения многих стран характерен рост частоты граммотрицательных инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП). В опубликованном в 2017 г. Всемирной организацией здравоохранения «Глобальном

приоритетном списке антибиотикорезистентных бактерий для научных исследований и разработки новых антибиотиков» три верхние строки (критический уровень приоритета) занимают карбапенеморезистентные *Acinetobacter baumannii*, карбапенеморезистентные *Pseudomonas aeruginosa* и устойчивые к цефалоспорином III поколения карбапенеморезистентные представители семейства *Enterobacteriaceae* (главным образом *Klebsiella pneumoniae*). В качестве критериев приоритетности для включения в данный список послужили летальность, нагрузка на систему здравоохранения, распространенность антибиотикорезистентности и ее 10-летняя динамика, а также имеющиеся возможности для антибиотикотерапии [9].

Формирование устойчивости к карбапенемам у грамотрицательных бактерий связано с различными механизмами, включающими изменение проницаемости клеточной стенки из-за возникновения дефектов пориновых каналов и активацию систем эффлюкса, однако наибольшее клиническое и эпидемиологическое значение имеет продукция карбапенемаз. Наиболее распространенными среди типами карбапенемаз являются КРС, ОХА-48, а также металло-β-лактамазы (МБЛ) NDM и VIM. Опасность данных ферментов связана с их высокой каталитической активностью и широким спектром субстратной специфичности, включающим практически все классы β-лактамовых антибиотиков, в том числе ингибиторзащищенные [5]. Гены карбапенемаз часто сцеплены с другими детерминантами антибиотикорезистентности и включены в состав интегронов, локализованных в плазидах или транспозонах, которыми грамотрицательные бактерии могут достаточно легко обмениваться в процессе горизонтального переноса. В результате приобретения генов карбапенемаз нередко формируются отдельные клоны высокого риска с экстремальной антибиотикорезистентностью (XDR), способные стремительно распространяться на обширных территориях и вызывать серьезные инфекции, трудно поддающиеся терапии [12]. Детекция карбапенемаз у грамотрицательных бактерий важна как для назначения оптимальной этиотропной терапии пациенту, так и для эпидемиологического контроля распространения резистентных штаммов и разработки мероприятий инфекционного контроля [7,8].

Выявление продукции карбапенемаз, а также кодирующих их генов у возбудителей ИСМП являлось важной задачей нескольких многоцентровых эпидемиологических исследований. В рамках Европейской сети наблюдения за карбапенемазопродуцирующими энтеробактериями EuSCAPE в 2013—2014 гг. в 36 странах-участниках выявлен 2301 изолят *K. pneumoniae*, продуцирующий карбапенемазы КРС, NDM, ОХА-48, VIM [4]. По данным исследования МАРАФОН, выполненного в 2013—2014 гг. в 35 стационарах 22 городов России, продукция карбапенемаз (ОХА-48, NDM, КРС, ко-продукция ОХА-48 + NDM) выявлена у 14,5% изолятов *K. pneumoniae* [2]. Ресурс AMRmap (онлайн-платформа анализа данных резистентности к антимикробным препаратам) содержит 901 запись о карбапенемазопродуцирующих изолятах *K. pneumoniae*, выделенных в 2011—2018 гг. в 26 городах Российской Федерации [1]. В многоцентровом исследовании, выполненном в Беларуси в 2013—2014 гг., среди карбапенемонечувствительных изолятов *K. pneumoniae* выявлено 13 продуцентов МБЛ NDM и 17 продуцентов ОХА-48, при этом большая часть продуцентов карбапенемаз (76,7%) была выделена от пациентов, госпитализированных в отделения реанимации и интенсивной терапии [3].

Особенностью большинства ранее проведенных скрининговых исследований являлось преимущественное изучение карбапенеморезистентных штаммов энтеробактерий и грамотрицательных неферментирующих бактерий, выделенных от госпитализированных пациентов крупных многопрофильных клиник либо специализированных медицинских центров с обширным коечным фондом. Отдельного внимания заслуживает потенциальная возможность заноса карбапенемазопродуци-

рующих энтеробактерий в многочисленные стационары районного уровня — центральные районные больницы (ЦРБ), а также вероятность выявления этих штаммов у амбулаторных пациентов.

Цель исследования — в рамках программы микробиологического мониторинга изучить распространенность карбапенемазопродуцирующих изолятов *K.pneumoniae* в организациях здравоохранения Гомельской области и оценить уровень их устойчивости к антибактериальным препаратам.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

На базе микробиологической лаборатории Гомельского областного центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья (ГОЦГЭиОЗ) организована система микробиологического мониторинга, направленная на выявление и типирование множественно-антибиотикорезистентных (MDR) и экстремально-антибиотикорезистентных (XDR) грамотрицательных бактерий, выделяемых от пациентов в Гомеле и 20 районных центрах Гомельской области. На протяжении 2-летнего периода (с июня 2016 г. по май 2018 г.) локальными микробиологическими лабораториями 17 районных и зональных центров гигиены и эпидемиологии Гомельской области было отобрано и направлено в микробиологическую лабораторию ГОЦГЭиОЗ 36 неповторяющихся клинических изолятов *K.pneumoniae*, не чувствительных (устойчивых или умеренно устойчивых) к меропенему или имипенему. Дополнительно в исследование включено 55 карбапенемонечувствительных изолятов *K.pneumoniae*, выделенных за аналогичный период от госпитализированных и амбулаторных пациентов в 12 организациях здравоохранения Гомеля. Все изоляты были выделены в диагностически значимых количествах из различных видов клинического материала — мокроты, раневого отделяемого, экссудатов, крови, интраоперационного материала, мочи. Реидентификация микроорганизмов и определение их чувствительности к антибиотикам выполнены автоматизированным методом на микробиологических анализаторах VITEK 2 Compact (bioMérieux). Детекция генов карбапенемаз bla_{KPC} , bla_{OXA-48} , bla_{VIM} , bla_{IMP} , bla_{NDM} выполнена методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием диагностических наборов АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL и АмплиСенс MDR MBL-FL (Центральный НИИ эпидемиологии, Москва) на амплификаторе RotorGene 3000 (Corbett Research, Австралия). Штаммы *K.pneumoniae* и *P.aeruginosa* из коллекции НИИ антимикробной химиотерапии (Смоленск, Россия), продуцирующие известные карбапенемазы перечисленных типов, были использованы в качестве положительного контроля. Для изолятов с выявленной продукцией карбапенемаз дополнительно определены минимальные подавляющие концентрации (МПК) колистина методом последовательных микро-разведений в бульоне Мюллера-Хинтона (BD, США) в соответствии с ISO 20776-1:2006 [6]. При учете и интерпретации результатов руководствовались стандартами EUCAST [10]. Качество исследований контролировали штаммами *Escherichia coli* ATCC 25922 и *P.aeruginosa* ATCC 27853.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Наличие генов карбапенемаз выявлено у 68 изолятов *K.pneumoniae*, выделенных в 11 организациях здравоохранения Гомеля и 8 ЦРБ (табл.). Ввиду недоступности более адекватных знаменателей (суммарного количества госпитализаций либо суммарного количества койко-дней в организациях здравоохранения) инцидентность была рассчитана как количество случаев выявления карбапенемазопродуцирующих штаммов *K.pneumoniae* на 100 тысяч населения в год. Всего выявлено 47 продуцентов OXA-40-подобных карбапенемаз, 20 продуцентов МБЛ NDM и 1 продуцент KPC.

Распространенность карбапенемазопродуцирующих *K.pneumoniae* в Гомельской области

Район	KPC	OXA-48	NDM	Всего	Население, тыс. чел.	Инцидентность, на 100 тыс. в год
Брагинский					11,9	0,0
Буда-Кошелёвский					29,6	0,0
Ветковский					17,8	0,0
Гомель		27	15	42	602,8	3,5
Добрушский		2		2	36,8	2,7
Ельский					15,2	0,0
Житковичский					35,7	0,0
Жлобинский	1	11	1	13	102,3	6,4
Калинковичский					59,6	0,0
Кормянский					13,4	0,0
Лельчицкий					23,9	0,0
Лоевский					11,9	0,0
Мозырский					133,6	0,0
Наровлянский					10,5	0,0
Октябрьский					13,5	0,0
Петриковский		1	1	2	27,2	3,7
Речицкий		1		1	98,3	0,5
Рогачевский			1	1	57,1	0,9
Светлогорский		2	2	4	84,2	2,4
Хойникский		2		2	19,2	5,2
Чечерский		1		1	14,4	3,5
Всего	1	47	20	68	1419,1	2,4

В 4 организациях здравоохранения Гомеля и 3 ЦРБ отмечена одновременная циркуляция продуцентов карбапенемаз 2 различных групп (OXA-40-подобных и NDM). В Жлобинской ЦРБ на протяжении 2-летнего периода были выделены *K.pneumoniae* — продуценты карбапенемаз OXA-48 (11 изолятов), KPC и NDM (по одному изоляту). У госпитализированных пациентов продуценты карбапенемаз были выделены из раневого отделяемого и интраоперационного материала — 45,5% изолятов, материалов из дыхательной системы (мокроты, браш-биоптатов) — 39,4%, мочи — 9,1%. Из крови было выделено 4 изолята (6,1%), среди них 2 продуцента карбапенемазы OXA-48 и 2 продуцента МБЛ NDM. От пациентов реанимации и интенсивной терапии выделено 56,1% продуцентов карбапенемаз, от пациентов отделений хирургического профиля — 33,3%, ожогового отделения — 6,1%, отделений терапевтического профиля — 4,5%.

Карбапенемазопродуцирующие *K.pneumoniae* были устойчивы к цефалоспорином III-IV поколений, меропенему, имипенему, амикацину, левофлоксацину, моксифлоксацину. Сохраняли чувствительность к тетрациклину 45 изолятов (66,2%), к тигециклину — 67 изолятов (98,5%), к фосфомицину — 18 изолятов (26,5%). Поскольку определение чувствительности к колистину с помощью автоматизированных систем не позволяет получать надежные результаты [11], для получения истинных значений МПК дополнительно использован метод последовательных микроразведений.

Чувствительными к колистину (МПК 0,125—2,0 мкг/мл) были 62 изолята (91,2%). Вместе с тем, выявлен 1 изолят *K.pneumoniae*, продуцирующий МБЛ NDM и имеющий МПК колистина 32 мкг/мл (значение МПК в 8 раз превышает рекомендованную EUCAST пороговую концентрацию), а также устойчивый ко всем другим включенным в исследование антибактериальным препаратам.

Наиболее распространенными карбапенемазами *K.pneumoniae* в настоящем исследовании явились ОХА-48 (69,1% от всех карбапенемазопродуцирующих штаммов) и NDM (29,4%), что сопоставимо с результатами российского многоцентрового исследования МАРАФОН [2]. Вместе с тем, выявлен только 1 продуцент карбапенемазы КРС (1,5%), широко распространенной в странах Европейского союза (присутствовала у 44,6% карбапенемазопродуцирующих штаммов в исследовании EuSCAPE) [4]. Впервые показана продукция карбапенемаз нозокомиальными штаммами *K.pneumoniae*, выделенными у пациентов, госпитализированных в ЦРБ районных центров с численностью населения 15—30 тыс. человек (Петриковский, Хойникский, Чечерский). В указанных ЦРБ всего было выделено 5 карбапенемазопродуцирующих изолятов *K.pneumoniae*, все — из мокроты пациентов отделений реанимации и интенсивной терапии.

Заслуживают внимания факты выделения карбапенемазопродуцирующих штаммов *K.pneumoniae* от пациентов амбулаторно-поликлинических учреждений Гомеля. Так, изолят *K.pneumoniae* с продукцией МБЛ NDM был выделен из мочи 60-летнего амбулаторного пациента с острым циститом, еще 1 NDM-продуцирующий изолят выделен из раневого отделяемого 58-летней пациентки со свищем передней брюшной стенки. В обоих случаях отсутствовали указания о предшествующих госпитализациях пациентов.

Ранее было показано, что отдельные продуценты карбапенемаз могут иметь значения МПК ниже рекомендованных EUCAST пороговых значений и формально сохранять чувствительность. Так, в многоцентровом исследовании МАРАФОН из 130 карбапенемазопродуцирующих госпитальных изолятов энтеробактерий сохраняли чувствительность к имипенему и меропенему соответственно 34,6% и 35,6% изолятов (МПК 0,125—2,0 мкг/мл) [2]. Отсутствие карбапенемочувствительных изолятов среди продуцентов карбапенемаз в настоящем исследовании объясняется преселекцией на этапе включения (критерием отбора для выполнения ПЦР-детекции генов карбапенемаз являлась устойчивость или умеренная устойчивость к карбапенемам).

Полученные данные свидетельствуют о том, что изоляты *K.pneumoniae*, несущие гены карбапенемаз ОХА-48 и NDM, широко распространены в организациях здравоохранения Гомельской области. Настораживает факт обнаружения инфекций, вызванных карбапенемазопродуцирующими штаммами, в небольших организациях здравоохранения, расположенных в районных центрах с численностью населения менее 30 тыс. человек, а также выделение карбапенемазопродуцирующих штаммов у амбулаторных пациентов. Показана приемлемая микробиологическая активность тигециклина и колистина в отношении *K.pneumoniae* — продуцентов карбапенемаз, отмечено появление отдельных штаммов, устойчивых ко всем антибиотикам. Требуется внедрение адекватных мер инфекционного контроля, направленных на сдерживание распространения карбапенемазопродуцирующих микроорганизмов в госпитальной среде.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кузьменков А.Ю., Трушин И.В., Авраменко А.А., Эйдельштейн М.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. AMRmap: Интернет-платформа мониторинга антибиотикорезистентности. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017, 19 (2): 84-90.
2. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013—2014. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017, 19 (2): 49-56.
3. Тапальский Д.В., Осипов В.А., Евсеенко Е.О., Савельева А.К., Козловская И.В., Козик А.П., Левшина Н.Н., Осипкина О.В., Соловей Н.В., Карпов И.А. Металло-бета-лактамазы и кар-

- бапенмазы экстремально-антибиотикорезистентных энтеробактерий: распространение в Беларуси. *Здравоохранение*. 2017, 3: 40-47.
- Grundmann H., Glasner C., Albiger B. et al. Occurrence of carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in the European survey of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae (EuSCAPE): a prospective, multinational study. *Lancet Infect. Dis.* 2017, 17 (2): 153-163.
 - Gupta N., Limbago B.M., Patel J.B., Kallen A.J. Carbapenem-resistant Enterobacteriaceae: epidemiology and prevention. *Clin. Infect. Dis.* 2011, 53 (1): 60-67.
 - ISO 20776-1:2006 «Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems — Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices» — Part 1: Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.
 - Magiorakos A.P., Burns K., Rodriguez Bano J. et al. Infection prevention and control measures and tools for the prevention of entry of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae into healthcare settings: guidance from the European Centre for Disease Prevention and Control. *Antimicrob. Resist. Infect. Control.* 2017; 6: 113.
 - Nordmann P., Naas T., Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing Enterobacteriaceae. *Emerg. Infect. Dis.* 2011, 17 (10): 1791-1798.
 - Tacconelli E., Carrara E., Savoldi A. et al. Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *Lancet Infect. Dis.* 2018, 18 (3): 318-327.
 - The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.0, 2018. <http://www.eucast.org>.
 - Vasoo S. Susceptibility testing for the polymyxins: two steps back, three steps forward? *J. Clin. Microbiol.* 2017, 55 (9): 2573-2582.
 - Woodford N., Turtton J.F., Livermore D.M. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev.* 2011, 35 (5): 736-755.

Поступила 04.03.19

Контактная информация: Тапальский Дмитрий Викторович, к.м.н.,
Беларусь, 246050, Гомель, ул. Ланге, 5, р.т. 375 29 7354293

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2019

С.В.Святченко, А.Г.Дурьманов, Н.П.Колосова, А.С.Гудымо, Н.И.Гончарова, П.Ю.Торжкова, Ю.А.Буланович, А.В.Епанчинцева, А.В.Даниленко, В.Ю.Марченко, А.В.Сысоева, И.М.Суслопаров, Т.В.Трегубчак, А.Б.Рыжиков, Р.А.Максютов, Т.Н.Ильичева

ТЯЖЕЛЫЕ СЛУЧАИ ЗАБОЛЕВАНИЯ ГРИППОМ НА ТЕРРИТОРИИ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ В ЭПИДЕМИЧЕСКОМ СЕЗОНЕ 2017-2018

ГНЦ вирусологии и биотехнологии «Вектор», р.п. Кольцово, Новосибирская область

Цель. Оценка популяционного иммунитета к гриппу накануне эпидемического сезона 2017-2018 и характеристика вирусов гриппа, выделенных в данном сезоне от людей с тяжелым течением заболевания и от лиц, привитых осенью 2017. *Материалы и методы.* Исследование сывороток крови в реакции торможения гемагглютинации. Выделение изолятов вирусов гриппа. Их антигенный и генетический анализ. *Результаты.* Накануне эпидемического сезона от 33 до 47% сывороток крови, собранных в разных регионах РФ, имели защитные титры антител к вакцинным сезонным штаммам вируса гриппа А. К вирусу В/Victoria защитные титры имели 24-30% обследуемых. В эпидемическом сезоне 2017-2018 нами выделено 87 изолятов вирусов гриппа А и В. Штаммы А(H1N1)pdm09 вошли в кладу 6В.1, штаммы В/Yamagata — в кладу 3, а штаммы В/Victoria — в кладу 1А; по антигенным свойствам они не отличались от вакцинных штаммов соответствующих подтипов. Изоляты А(H3N2) отнесены к кладе 3С.2а, антигенная характеристика которой затруднена. Выявлен один штамм А(H1N1)pdm09 с аминокислотной заменой N275Y в нейраминидазе, резистентный к осельтамивиру. Все остальные штаммы были чувствительны