

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ КАРБАПЕНЕМАЗА-ПРОДУЦИРУЮЩИХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ В ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

УО «Гомельский государственный медицинский университет»¹,
ГУ «Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии
и общественного здоровья»²,
УО «Белорусский государственный медицинский университет»³

Для 343 клинических изолятов *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* и *Klebsiella pneumoniae* с множественной антибиотикорезистентностью, выделенных в Гомеле и Гомельской области, выполнена детекция генов карбапенемаз методом ПЦР в реальном времени и определена чувствительность к антибиотикам. Выявлено 111 продуцентов карбапенемаз: VIM – 14 изолятов, OXA-23 – 1 изолят, OXA-40 – 60 изолятов, OXA-48 – 24 изолята, KPC – 1 изолят, NDM – 11 изолятов. Продуценты карбапенемаз обнаружены в 9 организациях здравоохранения Гомеля и 7 центральных районных больницах районных центров Гомельской области. Все они имели ассоциированную устойчивость к большинству антибиотиков и сохраняли чувствительность только к колистину. Экстремальная антибиотикорезистентность выявлена у 69,4% карбапенемаза-продуцирующих изолятов, панрезистентность – у 1,8% изолятов.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, карбапенемазы, антибиотикорезистентность, меропенем, колистин

D. V. Tapalski, N. A. Bonda, O. V. Osipkina, I. A. Karpov

PREVALENCE OF CARBAPENEMASE-PRODUCING GRAM-NEGATIVE BACTERIA IN THE GOMEL REGION

For 343 *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates with multiple drug resistance isolated in Gomel and the Gomel region in 2016–2017 years, carbapenemase genes were detected by real time PCR method and antibiotic susceptibility was determined. 111 carbapenemase producers were identified: VIM – 14 isolates, OXA-23 – 1 isolate, OXA-40 – 60 isolates, OXA-48 – 24 isolates, KPC – 1 isolate, NDM – 11 isolates. Carbapenemase producers were detected in 9 Gomel public health organizations and in 7 central district hospitals of the regional

centers in the Gomel region. All of them had associated resistance to most antibiotics and remained sensitive only to colistin. 69.4% of carbapenemase-producing isolates were extensively drug-resistant and 1.8% of isolates were pandrug-resistant.

Key words: *Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa, Acinetobacter baumannii, carbapenemases, antimicrobial resistance, meropenem, colistin.*

К. *pneumoniae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa* относятся к наиболее распространенным и наиболее проблемным возбудителям инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП), и входят в группу «ESKAPE» [11]. По данным многоцентрового исследования антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций МАРАФОН, проведенного в 2013–2014 гг. в 35 стационарах 22 городов Российской Федерации, эти 3 возбудителя суммарно занимают более 50% в этиологической структуре ИСМП и характеризуются устойчивостью к большинству антимикробных препаратов (АМП) [3, 4]. Важной современной проблемой антибиотикотерапии инфекций, вызываемых этими микроорганизмами, является значительное увеличение устойчивости возбудителей к карбапенемам, связанное с продукцией приобретенных карбапенемаз. Наиболее распространенными и клинически важными в настоящее время являются сериновые карбапенемазы KPC и GES (молекулярный класс А), металло-β-лактамазы VIM, IMP, NDM (молекулярный класс В), отделенные ОХА-ферменты (молекулярный класс D). Для продуцентов карбапенемаз (кроме устойчивости практически ко всем β-лактамам характерна ассоциированная устойчивость к АМП других групп, особенно к аминогликозидам и фторхинолонам. Гены, кодирующие продукцию приобретенных карбапенемаз, входят в состав мобильных генетических элементов и способны к быстрому внутри- и межвидовому распространению. За счет присутствия в составе интегров генов других β-лактамаз, а также дополнительных генных каскадов, несущих детерминанты устойчивости к не β-лактамам АМП, происходит одномоментная горизонтальная передача сложного фенотипа антибиотикорезистентности. Очевидно, что сдерживание распространения карбапенемаз в бактериальных популяциях следует отнести к наиболее актуальным задачам современного здравоохранения [1, 6].

На сегодняшний день сложно оценить динамику изменения частоты встречаемости продуцентов карбапенемаз среди возбудителей ИСМП в Беларуси в связи с ограниченным периодом наблюдения и небольшим количеством ранее выполненных исследований. Так, было показано, что 91,5% клинических изолятов *A. baumannii*, выделенных в Минске в 2008–2009 гг., являлись продуцентами карбапенемазы ОХА-40 [2]. С 2007 года в стационарах Гомеля, Минска и Могилева отмечается циркуляция экстремально-антибиотикорезистентных *P. aeruginosa*, продуцирующих металло-β-лактамазу VIM и относящихся к международному эпидемическому клону ST-235 [7]. Выявлено присутствие карбапенемаз ОХА-48 и NDM у 30 госпитальных изолятов *K. pneumoniae*, выделенных в трех регионах Беларуси в 2013–2014 гг. [5]. В настоящее время возникла необходимость не только отслеживать общий уровень антибиотикорезистентности микроорганизмов, но и проводить систематические многоцентровые микробиологические исследования, направленные на выявление экстремально-антибиотикорезистентных

грамотрицательных бактерий, относящихся к клону высокого риска, с определением у них ключевых механизмов антибиотикорезистентности.

Цель исследования – в рамках программы микробиологического мониторинга оценить распространенность карбапенемаза-продуцирующих бактерий в Гомельской области и оценить уровни их устойчивости к АМП.

Материал и методы

Организована система микробиологического мониторинга, направленная на выявление и типирование экстремально-антибиотикорезистентных грамотрицательных бактерий, выделяемых от пациентов в Гомеле и Гомельской области. В рамках функционирования системы в 2016–2017 гг., для проведения дальнейших исследований было отобрано 343 клинических изолята *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae* с множественной или экстремальной устойчивостью к АМП, выделенных от пациентов 12 организаций здравоохранения Гомеля и 11 организаций здравоохранения (центральных районных больниц) районных центров Гомельской области (Добруш, Житковичи, Жлобин, Калинковичи, Лельчицы, Мозырь, Петриков, Речица, Рогачев, Светлогорск, Хойники). Все изоляты были выделены в диагностически значимых количествах из различных видов клинического материала – мокроты, крови, раневого отделяемого, экссудатов, интраоперационного материала, мочи.

Идентификация и определение чувствительности к АМП выполнены на микробиологическом анализаторе VITEK 2 Compact (bioMérieux, Франция). Детекция генов KPC, ОХА-48, VIM, IMP, NDM, ОХА-23, ОХА-40, ОХА-56 выполнена методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием диагностических наборов АмплиСенс MDR KPC/ОХА-48-FL, АмплиСенс MDR MBL-FL, АмплиСенс MDR A.b.-ОХА (Центральный НИИ эпидемиологии, Москва) на амплификаторе RotorGene 3000 (Corbett Research, Австралия). Для изолятов с выявленной продукцией карбапенемаз дополнительно определены минимальные подавляющие концентрации (МПК) колистина и меропенема методом последовательных микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтона (BD, США) в соответствии с ISO 20776-1:2006 [9]. При учете и интерпретации результатов руководствовались стандартами EUCAST [8]. Качество исследований контролировали штаммами *E. coli* ATCC 25922 и *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Результаты и обсуждение

Наличие генов карбапенемаз выявлено у 14 изолятов *P. aeruginosa*, 61 изолята *A. baumannii* и 36 изолятов *K. pneumoniae*, выделенных в 9 организациях здравоохранения Гомеля и 7 центральных районных больницах (рисунки 1–3). В 5 организациях здравоохранения отмечена одновременная циркуляция продуцентов карбапенемаз 3–4 различных групп, в 4 организациях здравоохранения – продуцентов карбапенемаз 2 различных групп. Так, в Жлобинской ЦРБ на протяжении 2017 года

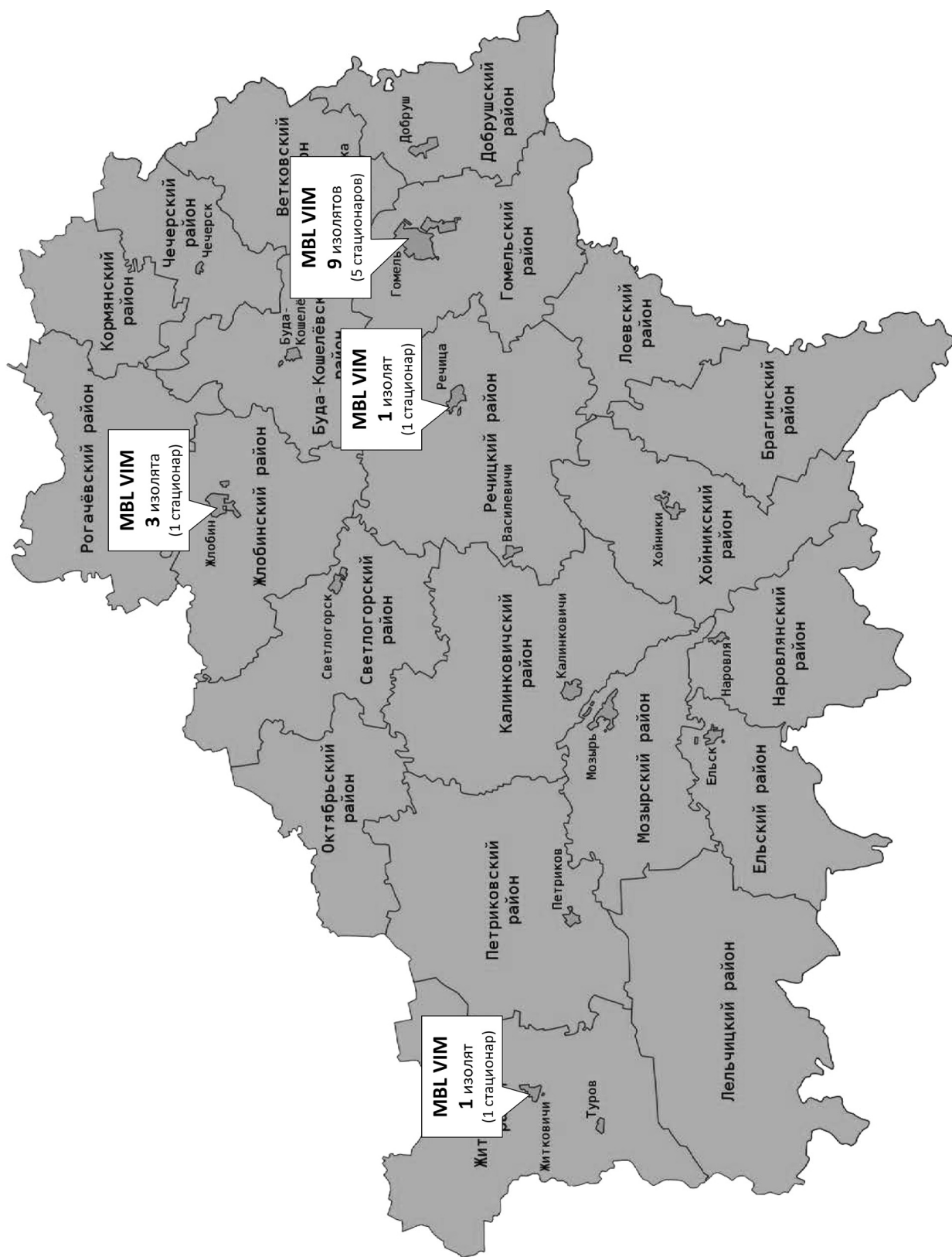


Рисунок 1. Распространенность *R. aegyptiosa* – продуцентов карбапенемаз в организациях здравоохранения Гомельской области

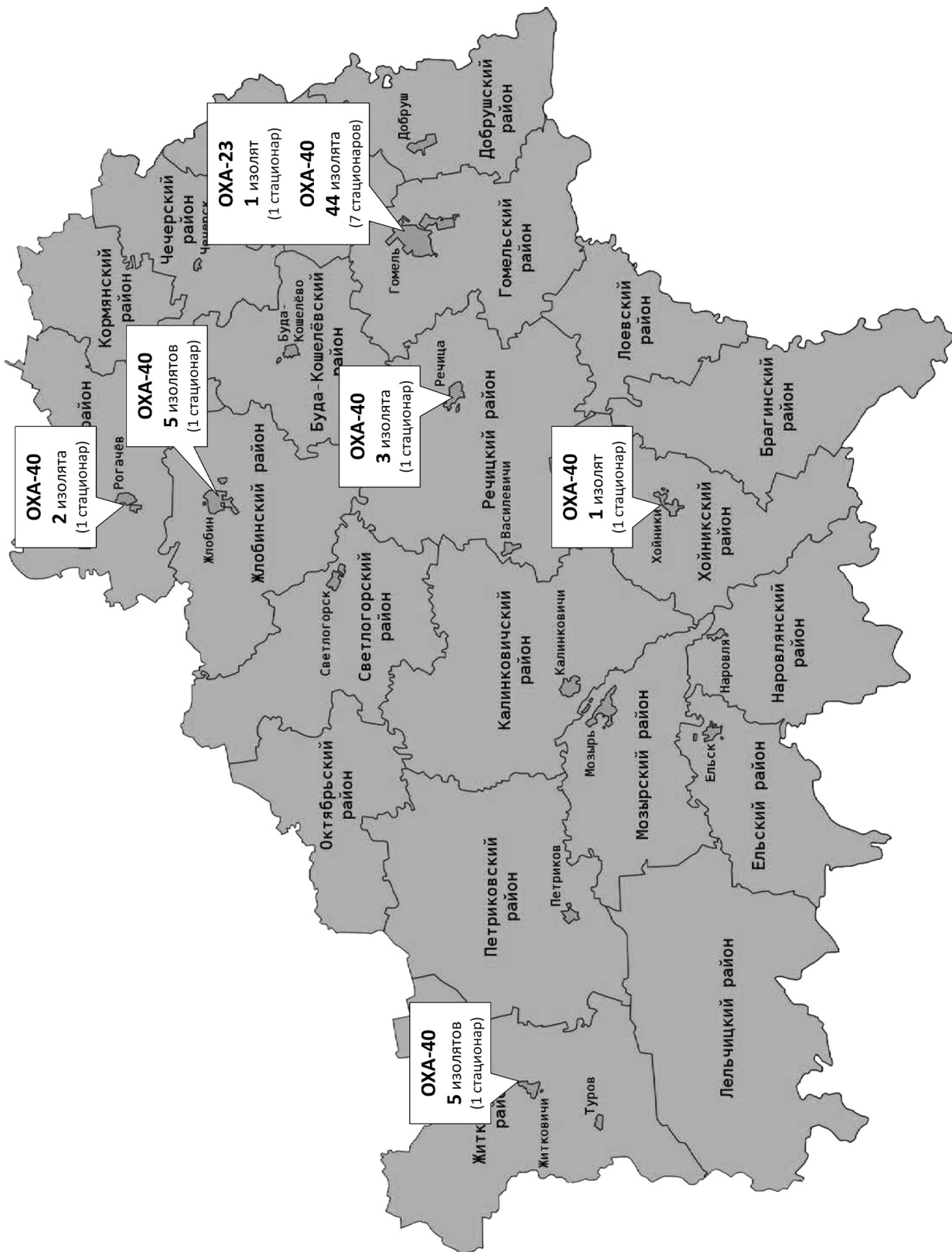


Рисунок 2. Распространенность A. baumannii – продуцентов карбапенемов в организациях здравоохранения Гомельской области

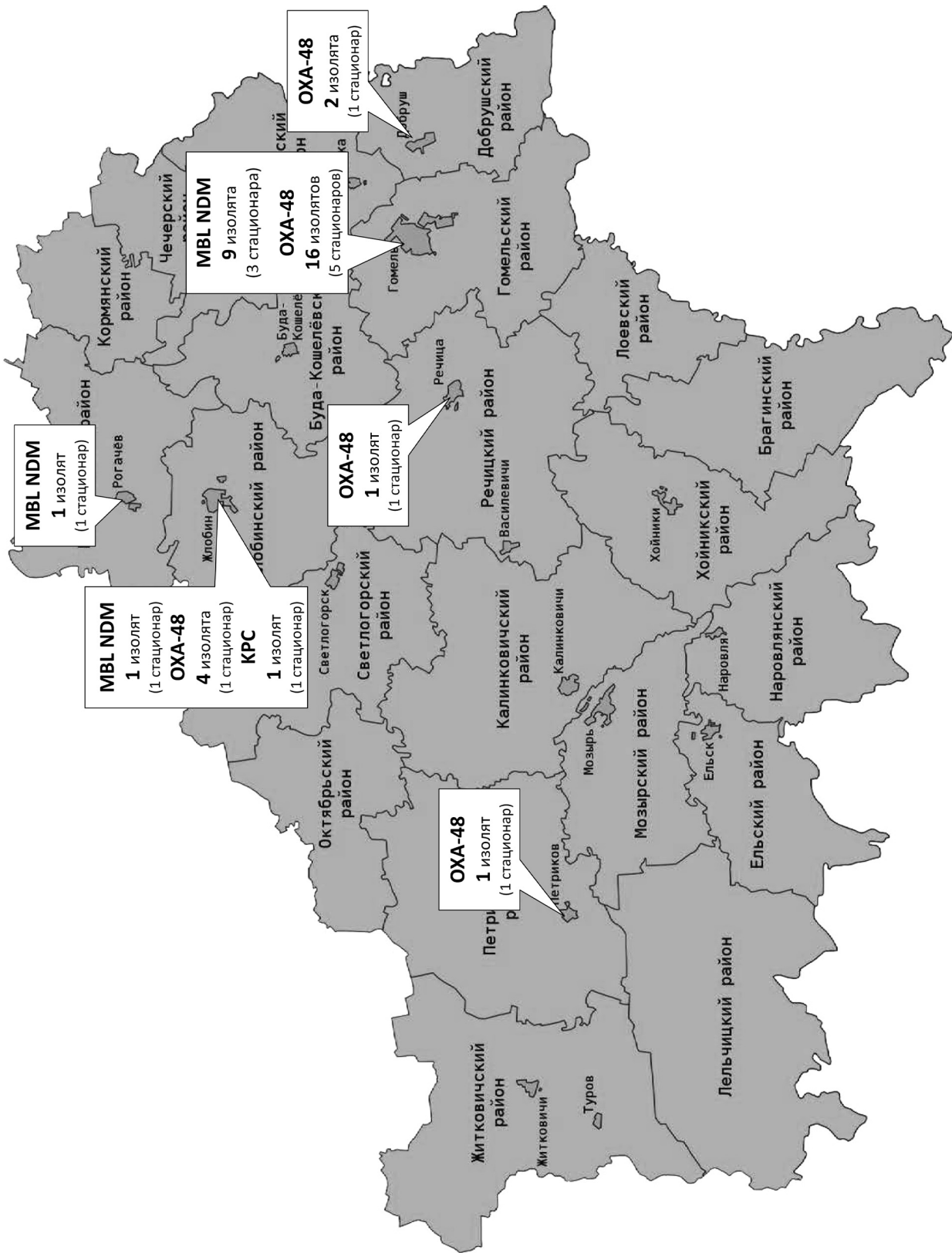


Рисунок 3. Распространенность K. pneumoniae – продуцентов карбапенемаз в организациях здравоохранения Гомельской области

были выделены *P. aeruginosa* – продуценты МБЛ VIM, *A. baumannii* – продуценты карбапенемазы OXA-40, *K. pneumoniae* – продуценты карбапенемаз OXA-48, KPC, NDM. Похожая ситуация отмечена в трех крупных многопрофильных больницах и одном специализированном стационаре Гомеля.

Продуценты карбапенемаз были выделены из раневого отделяемого и интраоперационного материала – 37,8% изолятов, материалов из дыхательной системы (мокроты, промывных вод бронхов, браш-биоптатов) – 35,1%, мочи – 11,7%. Из крови было выделено 8 изолятов (7,2%), в том числе 5 изолятов *A. baumannii* с продукцией карбапенемазы OXA-40 и 3 изолята *K. pneumoniae* с продукцией карбапенемаз NDM (2 изолята) и OXA-48 (1 изолят). От пациентов реанимации и интенсивной терапии выделено 45,9% продуцентов карбапенемаз, от пациентов отделений хирургического профиля и ожогового отделения – соответственно 35,1 и 13,5%. Заслуживает факт выделения карбапенемаза-продуцирующих штаммов от пациентов амбулаторно-поликлинических учреждений: так, 1 изолят *P. aeruginosa* с продукцией метало-β-лактамазы VIM был выделен из мочи 79-летней амбулаторной пациентки с острым циститом, 1 изолят *A. baumannii* с продукцией карбапенемазы OXA-40 был выделен из мочи 78-летнего амбулаторного пациента с хроническим пиелонефритом.

Информация об антибиотикорезистентности продуцентов карбапенемаз представлена в таблице. Продукция карбапенемаз обеспечивала высокие значения МПК меропенема у большинства исследуемых изолятов, многократно превышающие пороговую концентрацию 8 мкг/мл [8]. У части изолятов выявлена также устойчивость к колистину – препарату резерва для лечения инфекций, вызванных экстремально-антибиотикорезистентными грамотрицательными возбудителями. Нечувствительными к колистину были 14,3% карбапенемаза-продуцирующих *P. aeruginosa* (2 изолята), 3,3% *A. baumannii* (2 изолята) и 11,1% *K. pneumoniae* (4 изолята).

Продуценты карбапенемаз проявляли ассоциированную устойчивость к большинству АМП, за исключением колистина и тигециклина. В соответствии с международными критериями [10], фенотипом множественной резистентности (MDR – устойчивости к АМП, принадлежащим как минимум к трем различным категориям) обладали 32 (28,8%) карбапенемаза-продуцирующих изолятов, фенотипом экстремальной резистентности (XDR – устойчивости к препаратам всех, за исключением одной

или двух категорий АМП) – 77 (69,4%) изолятов. Еще 2 изолята (1,8%) имели устойчивость ко всем АМП во всех категориях (PDR – панрезистентность). В отношении карбапенемаза-продуцирующих изолятов *P. aeruginosa* приемлемую антибактериальную активность сохранял только колистин. Все изоляты были устойчивы к антисинтетическим пенициллинам, цефалоспорином, азтреонаму, аминогликозидам и фторхинолонам. Только 5 (8,2%) карбапенемаза-продуцирующих изолятов *A. baumannii* были чувствительными к сульбактаму, к тигециклину – 61 (100,0%) изолятов. Среди карбапенемаза-продуцирующих *K. pneumoniae* не выявлено изолятов с устойчивостью к тигециклину, чувствительность к колистину сохраняли 88,9% изолятов. Выявлен 1 изолят *K. pneumoniae* с МПК колистина 32 мкг/мл, являющийся продуцентом МБЛ NDM (значение МПК в 8 раз превышает рекомендованную EUCAST пороговую концентрацию). В соответствии с критериями EUCAST [8], 2 изолята *K. pneumoniae* сохраняли чувствительность к меропенему (МПК 2 мкг/мл, оба – продуценты карбапенемазы OXA-48).

Таким образом, обнаружено распространение MDR и XDR изолятов *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*, несущих гены различных типов карбапенемаз, в организациях здравоохранения в Гомельской области. Присутствие карбапенемаза-продуцирующих бактерий в госпитальной среде крупных многопрофильных стационаров и специализированных больниц Минска и нескольких областных центров Беларуси было показано ранее [2, 5, 7] и уже не вызывает удивления. Вместе с тем, настораживает факт обнаружения инфекций, вызванных экстремально-антибиотикорезистентными карбапенемаза-продуцирующими штаммами, в относительно небольших организациях здравоохранения, расположенных в районных центрах с численностью населения 10–70 тыс. человек. Продуценты карбапенемазы были выделены в 7 районных центрах Гомельской области, при этом в одном из них выявлен штамм *P. aeruginosa* с полной устойчивостью к АМП, в четырех центральных районных больницах среди возбудителей ИСМП выявлены карбапенемазы сразу нескольких типов. Впервые показано выделение карбапенемаза-продуцирующих *A. baumannii* и *P. aeruginosa* у амбулаторных пациентов.

Имеющиеся возможности для системной антибактериальной терапии инфекций, вызванных карбапенемаза-продуцирующими бактериями, представляются крайне скудными (колистин, реже тигециклин). Наличие различных типов карбапенемаз и эпидемиологически успешных

Таблица. Чувствительность к антимикробным препаратам изолятов *P. aeruginosa*, *A. baumannii* и *K. pneumoniae* – продуцентов карбапенемаз

Микроорганизм	Карбапенемаза	Количество изолятов	Чувствительность к АМП						MDR, %	XDR, %	PDR, %
			меропенем			колистин					
			НЧ, %*	МПК ₅₀ , мкг/мл	МПК ₉₀ , мкг/мл	НЧ, %	МПК ₅₀ , мкг/мл	МПК ₉₀ , мкг/мл			
<i>P. aeruginosa</i>	VIM	14	100,0	512	1024	14,3	2	4		85,7	14,3
<i>A. baumannii</i>	OXA-23	1	100,0			0,0				100,0	
	OXA-40	60	100,0	128	512	3,3	0,5	2	21,7	78,3	
<i>K. pneumoniae</i>	OXA-48	24	91,7	64	128	8,3	1	2	75,0	25,0	
	KPC	1	100,0			0,0			100,0		
	NDM	11	100,0	128	256	18,2	1	4		100,0	

Примечание. * НЧ – нечувствительные (устойчивые и умеренно устойчивые) изоляты

клонов, участвующих в их распространении, создает неблагоприятный прогноз относительно возможности сдерживания экстремальной и полной антибиотикорезистентности возбудителей ИСМП. Отмечено появление отдельных штаммов с устойчивостью к колистину (7,2% в настоящем исследовании). Требуется внедрение адекватных мер инфекционного контроля для ограничения распространения карбапенемаза-продуцирующих микроорганизмов в тех стационарах, где уже было зафиксировано их присутствие.

Авторы выражают благодарность старшему научному сотруднику ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии (г. Москва) Ю. А. Савочкиной за предоставленные наборы для выявления генов карбапенемаз.

Исследование выполнялось в рамках задания «Внедрить в практику здравоохранения Гомельской области систему микробиологического тестирования комбинаций антибиотиков в отношении экстремально-антибиотикорезистентных возбудителей бактериальных инфекций», заказчик – Управление здравоохранения Гомельского областного исполнительного комитета, № госрегистрации 20164463 от 05.12.2016.

Литература

1. Агеевец, В. А., Лазарева И. В., Сидоренко С. В. Проблема устойчивости к карбапенемным антибиотикам: распространение карбапенемаз в мире и России, эпидемиология, диагностика, возможности лечения // Фарматека. – 2015. – Т. 307, № 14. – С. 9–16.

2. Горбич, Ю. Л., Карпов И. А., Мартинович А. А., Левшина Н. Н. Особенности резистентности *Acinetobacter baumannii* к карбапенемам в Республике Беларусь // Здравоохранение. – 2011. – № 5. – С. 25–30.

3. Сухорукова, М. В. Эйдельштейн М. В., Склеенова Е. Ю. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–

2014 // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2017. – Т. 19, № 1. – С. 42–48.

4. Сухорукова, М. В., Эйдельштейн М. В., Склеенова Е. Ю. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014 // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2017. – Т. 19, № 1. – С. 49–56.

5. Тапальский, Д. В., Осипов В. А., Евсеенко Е. О. и др. Металло-бета-лактамазы и карбапенемазы экстремально-антибиотикорезистентных энтеробактерий: распространение в Беларуси // Здравоохранение. – 2017. – № 3. – С. 40–47.

6. Тапальский, Д. В., Осипов В. А., Жаворонок С. В. Карбапенемазы грамотрицательных бактерий: распространение и методы детекции // Медицинский журнал. – 2012. – № 2. – С. 10–15.

7. Edelstein, M. V., Skleenova E. N., Shevchenko O. V. et al. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study // Lancet Infect. Dis. – 2013. – Vol. 13, № 10. – P. 867–876.

8. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 8.0 2018. // http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/.

9. 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.

10. Magiorakos, A. P., Srinivasan A., Carey R. B. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance // Clin. Microbiol. Infect. – 2012. – Vol. 18, № 3. – P. 268–281.

11. Pendleton, J. N., Gorman S. P., Gilmore B. F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens // Expert Rev. Anti Infect. Ther. – 2013. – Vol. 11, № 3. – P. 297–308.