

Продукция карбапенемаз нозокомиальными штаммами *K. pneumoniae* в Санкт-Петербурге

Е.П. Баранцевич, Н.Е. Баранцевич, Е.В. Шляхто

ФГБУ «Северо-Западный федеральный медицинский исследовательский центр им. В. А. Алмазова» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Резистентные к карбапенемам нозокомиальные штаммы *K. pneumoniae* представляют серьезную проблему для практического здравоохранения. В Санкт-Петербурге в период проведения исследования частота выделения штаммов *K. pneumoniae*, резистентных к карбапенемам, в стационарах составила 2,8%. Наибольшее распространение получили штаммы, продуцирующие карбапенемазы NDM-1. *K. pneumoniae*

с bla_{OXA-48} выявляли реже, с bla_{KPC-2} обнаружили в 2 случаях. Ген NDM-1 идентифицировали у разнообразных сиквенс-типов *K. pneumoniae* (ST340, ST147, ST11, ST307). Ген OXA-48 присутствовал в *K. pneumoniae* ST395, ген KPC-2 — в *K. pneumoniae* ST15 и ST258.

Ключевые слова: нозокомиальные инфекции, *K. pneumoniae*, резистентность, карбапенемы, NDM, OXA-48, KPC.

Production of Carbapenemases in *Klebsiella pneumoniae* Isolated in Saint-Petersburg

E.P. Barantsevich, N.E. Barantsevich, E.V. Shlyakhto

Federal Almazov North-West Medical Research Center, Saint-Petersburg, Russia

Carbapenem-resistant nosocomial *K. pneumoniae* isolates are a significant problem in clinical practice. Carbapenem resistance in *K. pneumoniae* isolated from hospitalized patients was 2.8% over the study period. NDM-1 carbapenemase-producing strains were the most prevalent ones. *K. pneumoniae* strains with OXA-48 were isolated more rarely, and KPC-2 was determined in 2 cases. NDM-1 gene was detected in multiple *K. pneu-*

moniae sequence types (ST340, ST147, ST11, ST307). OXA-48 gene was determined in *K. pneumoniae* ST395 and KPC-2 gene was determined in *K. pneumoniae* ST15 and ST258.

Key words: nosocomial infections, *K. pneumoniae*, antimicrobial resistance, carbapenems, NDM, OXA-48, KPC.

Введение

В современном мире значение проблемы антибиотикорезистентности у микроорганизмов, вызывающих внутрибольничные инфекции, невозможно переоценить [1]. Распространение резистентности к антимикробным препаратам у нозокомиальных

штаммов сопровождается увеличением продолжительности пребывания больных на стационарном лечении, а также летальности при развитии тяжелых инфекций. Это не только приводит к дополнительным затратам системы здравоохранения, но и к значительным непрямым экономическим потерям [1].

Klebsiella pneumoniae, являясь представителем нормальной микробиоты человека, у иммунокомпromетированных больных способна вызывать тяжелые инфекции: сепсис, инфекции мягких тканей, мочевых путей, легких.

Контактный адрес:
Елена Петровна Баранцевич
Эл. почта: lenabara2003@inbox.ru

Сообщения о нарастающей резистентности *K. pneumoniae* к карбапенемам — препаратам выбора при тяжелых нозокомиальных инфекциях, обусловленных грамотрицательными микроорганизмами, поступают из различных регионов мира. В ряде европейских стран (Греция, Италия) распространение данного микроорганизма в лечебных учреждениях, согласно данным ВОЗ, приобрело эндемичный характер [2]. Только в Италии в последние годы отмечался значительный рост распространенности данного микроорганизма: если уровень резистентности к карбапенемам среди *K. pneumoniae* в 2009 году составлял лишь 2%, то уже к 2010 году он возрос до 15% [2]. В последующие годы подобная тенденция сохранилась, и к 2013 году доля карбапенеморезистентных штаммов данного микроорганизма в Италии уже составляла 35% [2]. Подавляющее большинство карбапенеморезистентных штаммов *K. pneumoniae* обладают генами ферментов — карбапенемаз (KPC, NDM, OXA-48 и др.), располагающимися на плазидах, что способствует быстрому внутривидовому и межвидовому переносу [3].

Цель настоящего исследования — определение распространенности резистентных к карбапенемам штаммов *K. pneumoniae* в стационарах Санкт-Петербурга и наиболее часто встречающихся у них генов карбапенемаз.

Материал и методы

K. pneumoniae выделяли из биосубстратов пациентов с гнойно-септическими инфекциями, находящихся на стационарном лечении в медицинских учреждениях Санкт-Петербурга. Идентификацию *K. pneumoniae* проводили фенотипически (Vitek, bioMerieux) или методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (MALDI-BioTyper, Bruker Daltonics). Все резистентные к карбапенемам штаммы идентифицировали с использованием секвенирования первых 500 пар нуклеотидов гена 16S РНК как было описано ранее [4]. Резистентность штаммов *K. pneumoniae* к карбапенемам при скрининговых исследованиях определяли диско-диффузионным методом и/или методом серийных разведений с использованием автоматических систем (Vitek 2, bioMerieux; MicroScan, Siemens) по критериям EUCAST.

У всех резистентных к карбапенемам изолятов была исследована чувствительность к антибиотикам с помощью планшетов SensiTitre (Trek Diagnostic Systems).

Присутствие генов карбапенемаз определяли у всех изолятов, демонстрировавших резистентность к карбапенемам. Методом полимеразной цепной реакции с использованием ранее описанных методик и праймеров исследовали следующие

гены резистентности: GES, OXA-48, IMP, VIM, KPC, NDM, BIC, SPM, SIM, AIM, GIM и DIM [5]. Нуклеотидную последовательность всех выявленных генов, кодирующих продукцию карбапенемаз, изучали с помощью метода секвенирования по Сэнгеру, как было описано ранее [5]. Сиквенстыпы всех карбапенемазопродуцирующих штаммов *K. pneumoniae* были определены согласно общепринятой методике [6].

Результаты исследования

Исследовали 754 штамма *K. pneumoniae*, выделенные последовательно у пациентов с нозокомиальными инфекциями в 6 медицинских учреждениях Санкт-Петербурга в 2012–2014 гг. Штаммы *K. pneumoniae* были выделены из различных образцов: 282 штамма (37,4%) — из респираторных биосубстратов (bronхоальвеолярный лаваж, мокрота, ткань легкого), 213 (28,2%) — из отделяемого послеоперационных ран, 175 (23,2%) — из мочи, 46 (6,1%) — из крови и 38 (5,0%) — из перитонеального экссудата. Резистентными к карбапенемам были 21 (2,8%) штамм *K. pneumoniae*.

В Северо-Западном федеральном медицинском исследовательском центре им. В.А. Алмазова в 2012–2015 гг. были криоконсервированы и исследованы 100 резистентных к карбапенемам изолятов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов в стационарах Санкт-Петербурга. Все резистентные к карбапенемам штаммы *K. pneumoniae* продемонстрировали устойчивость к следующим антимикробным препаратам: ингибиторозащищенным пенициллинам, цефалоспорином, меропенему, эртапенему, гентамицину, тобрамицину, ципрофлоксацину, левофлоксацину, моксифлоксацину. К азтреонаму и нитрофурантоину были устойчивы 93 и 96% карбапенеморезистентных штаммов *K. pneumoniae* соответственно. Устойчивость к триметоприму/сульфаметоксазолу выявили у 83% штаммов. К амикацину были устойчивы 74% и к имипенему — 76% штаммов. Все изоляты, устойчивые к карбапенемам, были чувствительны к колистину (полимикмину Е), тигециклину и тетрациклинам (тетрациклин, миноциклин, доксициклин).

При молекулярно-генетическом исследовании штаммов *K. pneumoniae*, резистентных к карбапенемам, наличие генов карбапенемаз выявлено во всех изолятах. bla_{NDM-1} были обнаружены у 69, bla_{OXA-48} — у 29, bla_{KPC-2} — у 2 штаммов. Среди изолятов *K. pneumoniae*, обладающих геном NDM-1, 26 относились к ST340, 22 к ST147, 12 к ST307, и 9 к ST11. Все штаммы, имеющие bla_{OXA-48} , относились к ST395, изоляты с bla_{KPC-2} — к ST15 и ST258.

Обсуждение результатов

Наиболее частым механизмом резистентности к карбапенемам у *K. pneumoniae* в мире является наличие bla_{KPC} [7]. В частности, для итальянских медицинских учреждений характерно широкое распространение штаммов *K. pneumoniae*, несущих ген КРС [2]. Присутствие гена КРС наблюдали у 41,7% исследованных штаммов в Бразилии, в то же время гена NDM у исследованных штаммов не выявили [8]. В нашем исследовании ген КРС-2 был выявлен только у 2 изолятов из 2 различных медицинских учреждений Санкт-Петербурга. Наиболее частым механизмом резистентности *K. pneumoniae* в исследованных медицинских учреждениях являлось наличие гена NDM-1, который часто встречается в Индии, Пакистане, на Балканах и в Великобритании [9].

Вместе с тем, обнаружение этого гена резистентности в штаммах *K. pneumoniae*, выделенных в Санкт-Петербурге в 2012–2013 гг., все из которых относились к ST340, не позволяет сделать заключение о возможном заносе инфекционных агентов из этих регионов, так как данный сиквенс-тип для них не характерен [10]. Ограниченное количество описанных случаев инфекций, связанных с ST340, было, как правило, местного происхождения, что позволяет сделать вывод о возможности местного происхождения выявленных нами возбудителей; при этом нам не удалось обнаружить связи с поездками за пределы Российской Федерации ни в первом описанном случае выявления гена NDM-1 у *K. pneumoniae*, ни в последующих случаях [5].

Большее разнообразие сиквенс-типов было нами зафиксировано с 2014 года, что может свидетельствовать о начале активного внутривидового переноса мобильных генетических элементов с данным геном резистентности. Характерным для описываемого периода наблюдений было присутствие гена OXA-48 исключительно у штаммов *K. pneumoniae* ST395, выделенных от пациентов, находящихся на стационарном лечении в медицинских учреждениях федерального подчинения, в которые госпитализируются больные из различных регионов Российской Федерации. Этот факт может свидетельствовать о распространении *K. pneumoniae* ST395, несущего ген OXA-48, в Российской Федерации.

В нашем исследовании для карбапенемазопродуцирующих штаммов *K. pneumoniae* был характерен высокий уровень резистентности к различным группам антибиотиков с сохранением чувствительности к колистину, тетрациклинам и тигециклину. Для карбапенемазопродуцирующих *K. pneumoniae*, согласно общемировой статистике, характерна

высокая чувствительность к колистину, применение которого приводит к положительному терапевтическому эффекту [11, 12]. Однако частое применение данного препарата может приводить к появлению резистентности. Согласно итальянскому исследованию, частота резистентности к колистину может быть значительной — до 43%. Появление резистентности к колистину в Италии выявили в 2010 году, общий показатель резистентности к колистину среди карбапенеморезистентных штаммов *K. pneumoniae* при широком национальном исследовании в Италии в 2011 году был равен 22,4%, колистинорезистентные штаммы *K. pneumoniae* были выделены в 13 из 25 участвовавших в исследовании медицинских учреждений [2].

Тигециклин, относящийся к глицилциклинам, а также тетрациклины могут оказывать положительный эффект при терапии инфекций, вызванных карбапенемазопродуцирующими *K. pneumoniae* [11]. Тем не менее, в 2001–2006 гг. в Великобритании было отмечено повышение резистентности к тигециклину у *Klebsiella* spp. [11]. Хотя наше исследование и не показало наличие резистентности к тигециклину или тетрациклинам у исследованных штаммов, в будущем можно ожидать появления резистентности к тетрациклинам, колистину и тигециклину у карбапенеморезистентных штаммов *K. pneumoniae* в Санкт-Петербурге. Это свидетельствует о необходимости неотложного поиска новых методов профилактики и лечения инфекций, обусловленных резистентными к карбапенемам микроорганизмами семейства *Enterobacteriaceae*.

Выводы

1. Частота выделения резистентных к карбапенемам штаммов *K. pneumoniae* в Санкт-Петербурге составила 2,8%.
2. Среди генов, кодирующих продукцию карбапенемаз у *K. pneumoniae* в Санкт-Петербурге, доминировал $\text{bla}_{\text{NDM-1}}$.
3. Ген OXA-48 выявили исключительно у штаммов *K. pneumoniae* ST395.
4. Наименее распространённым в Санкт-Петербурге был ген КРС-2.
5. Все резистентные к карбапенемам штаммы *K. pneumoniae* сохраняли чувствительность к колистину, тетрациклинам и тигециклину.

Авторы выражают глубокую благодарность за сотрудничество докторам:

В.Г. Гоик, Л.В. Ивановой, Е.Н. Колобовой, Л.А. Корноуховой, Н.С. Рыбковой, И.В. Чуркиной и А.П. Шварцу.

Литература

1. Yamamoto M., Pop-Vicas A.E. Treatment for infections with carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: what options do we still have? *Critical Care* 2014; 18:229.
2. Monaco M., Giani T., Raffone M., et al. Colistin resistance superimposed to endemic carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: a rapidly evolving problem in Italy, November 2013 to April 2014. *Euro Surveill* 2014; 19(42):14-8.
3. Poirel L., Bonnin R. A., Nordmann P. Genetic features of the widespread plasmid coding for the carbapenemase OXA-48. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(1):559-62.
4. Пестова Н.Е., Баранцевич Н.Е., Рыбкова Н.С., Козлова Н.С., Баранцевич Е.П. Изучение эффективности применения метода секвенирования ДНК по фрагменту гена 16s рРНК для идентификации микроорганизмов. Профилактическая и клиническая медицина 2011; 4:57-8.
5. Barantsevich E.P., Churkina I.V., Barantsevich N.E., Pelkonen J., Schlyakhto E.V., Woodford N. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* producing NDM-1 carbapenemase in Saint Petersburg, Russia. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68(5):1204-6.
6. Diancourt L., Passet V., Verhoef J., Grimont P.A., Brisse S. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J Clin Microbiol* 2005; 43(8):4178- 82.
7. Falagas M.E., Lourida P., Poulidakos P., Rafailidis P.I., Tansarli G.S. Antibiotic treatment of infections due to carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*: systematic evaluation of the available evidence. *Antimicrob Agents Chemother* 2014; 58(2):654-63.
8. Borges C.A., de Cássia de Andrade M.R., Vieira M.A., Souza L.A. C. Multidrug resistance genes, including bla_{KPC} and bla_{CTX-M-2}, among *Klebsiella pneumoniae* isolated in Recife, Brazil. *Rev Soc Bras Med Trop* 2012; 45(5):572-8.
9. Nordmann P., Naas T., Poirel L. Global spread of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae*. *Emerg Infect Dis* 2011; 17:1791-8.
10. Giske C.G., Fröding I., Hasan C.M., et al. Diverse Sequence Types of *Klebsiella pneumoniae* contribute to the dissemination of bla_{NDM-1} in India, Sweden, and the United Kingdom. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(5):2735-8.
11. Arnold R. S., Thom K. A., Sharma S., Phillips M., Johnson J.K., Morgan D.J. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing bacteria. *South Med J* 2011; 104(1):40-5.
12. Al-Qadheeb N.S., Althawadi S., Alkhalaf A., Hosaini S., Alrajhi A.A. Evolution of tigecycline resistance in *Klebsiella pneumoniae* in a single patient. *Ann Saudi Med* 2010; 30(5): 404-7.