Научная статья
https://doi.org/10.23934/2223-9022-2024-13-1-22-28

BY 4.0

Карбапенемазы, продуцируемые полирезистентными штаммами *Klebsiella pneumoniae*, выделенными от пациентов реанимационного профиля

Т.В. Черненькая* ✉, *Л.А. Борисова, Т.Ю. Воробьева, М.А. Годков, А.К. Шабанов

Научная лаборатория клинической микробиологии
ГБУЗ «Научно-исследовательский институт скорой помощи им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»
Российская Федерация, 129090, Москва, Большая Сухаревская пл., д. 3

✉ **Контактная информация:** Черненькая Татьяна Витальевна, кандидат медицинских наук, заведующая научной лабораторией клинической микробиологии ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ». Email: chernenkayat@rambler.ru

АКТУАЛЬНОСТЬ

Klebsiella pneumoniae — один из основных возбудителей внутрибольничных инфекций. Госпитальные штаммы этого патогена характеризуются высокой частотой устойчивости ко многим антибиотикам, в том числе и карбапенемам. Основной механизм формирования устойчивости к карбапенемам — продукция бактериями карбапенемаз. На сегодняшний день *K. pneumoniae* считается одним из основных «распространителей» клинически важных генов антибиотикорезистентности.

ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Изучить частоту встречаемости наиболее распространенных генов карбапенемаз у полирезистентных штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов реанимационных отделений различного профиля в стационаре скорой медицинской помощи.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

Проанализировано 4708 проб различных видов клинического материала от пациентов 5 реанимационных отделений НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. Микробиологические исследования проводились с использованием стандартных общепринятых методов. Для целей настоящего исследования отбирали уникальные последовательные штаммы *K. pneumoniae*, устойчивые к имипенему и (или) меропенему. Выделение ДНК проводили с использованием набора «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия). Детекцию генов карбапенемаз осуществляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с помощью наборов реагентов «АмплиСенс *MDR-MBL-FL*» и «АмплиСенс *MDR-KPC/OXA-48-FL*» (ФБУН ЦНИИЭ) на приборе ˝*Rotor Gene*˝ (*Corbett Research*, Австралия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Этиологически значимые микроорганизмы выявлены в 64,7% изученных проб. В четверти проб выделяли *K. pneumoniae*. Отобрано 194 уникальных карбапенемрезистентных штамма *K. pneumoniae*. Из них у 11,3% гены исследуемых карбапенемаз не обнаружены. У 38,1% штаммов обнаружена 1 карбапенемаза, у 29,9% — две, а у 20,6% — три и более. Среди штаммов с одним геном карбапенемаз преобладали продуценты *OXA*-48 (19,1%) и *KPC* (13,4%). Штаммы-продуценты только *NDM* беталактамазы встречались в 5,7% случаев. Изолированное выделение *VIM* и *IMP* не обнаружили. В 34% выделяли металлобекталамазы в комбинации с сериновыми карбапенемазами. Продукция только сериновых карбапенемаз выявлена у 48,5% штаммов. В зависимости от профиля реанимационного отделения имеются различия в частоте выявления сериновых и металлобеталактамаз у штаммов карбапенемрезистентных клебсиелл.

ВЫВОДЫ

K. pneumoniae является возбудителем внутрибольничных инфекций в 25% случаев. У 11,3% карбапенемрезистентных штаммов продукция генов *KPC*, *OXA*-48, *NDM*, *VIM* и *IMP* не обнаружена. При разработке алгоритмов антибактериальной терапии необходимо учитывать, что от 25,7 до 60,6% штаммов *K. pneumoniae* в разных отделениях реанимационного профиля являются продуцентами металлобеталактамаз.

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, полирезистентные штаммы, карбапенемазы, сериновые беталактамазы, металлобеталактамазы

Ссылка для цитирования Черненькая Т.В., Борисова Л.А., Воробьева Т.Ю., Годков М.А., Шабанов А.К. Карбапенемазы, продуцируемые полирезистентными штаммами Klebsiella pneumoniae, выделенными от пациентов реанимационного профиля. *Журнал им. Н.В. Склифосовского Неотложная медицинская помощь*. 2024;13(1):22–28. https://doi.org/10.23934/2223-9022-2024-13-1-22-28

Конфликт интересов Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Благодарность, финансирование Исследование не имеет спонсорской поддержки

© Черненькая Т.В., Борисова Л.А., Воробьева Т.Ю., Годков М.А., Шабанов А.К. М., 2024

БЛРС — беталактамазы расширенного спектра
ВБИ — внутрибольничные инфекции
МБЛ — металло-β-лактамазы
НХР — нейрохирургическая реанимация
ОР — ожоговая реанимация
ХР — хирургическая реанимация
ЭР — экстренная реанимация
IMP — *Imipenemase*-металло-β-лактамазы, разрушающие имипенем
KPC — *Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase* — карбапенемаза, продуцируемая *K. Pneumoniae*
NDM — *New Delhi metallo*-β-*lactamase* — металлобеталактамаза из Нью-Дели
OXA — *The oxacillinase-type* β-*lactamase* — β-лактамазы, разрушающие оксациллин
SHV — *SulphHydryl Variable* — хромосомная беталактамаза
SME — *Serratia Marcescens Enzyme* — карбапенемаза, продуцируемая *S. marcescens*
TEM — *Temoneira* — беталактамаза
VIM — *Verona integron-encoded metallo*-β-*lactamase* — Веронская интегрон-кодируемая металлобеталактамаза

ВВЕДЕНИЕ

Klebsiella pneumoniae — грамотрицательные бактерии, обитающие в окружающей среде, в том числе в почве и поверхностных водах; входят в состав нормальной микрофлоры кишечника человека и животных [1]. Впервые этот микроорганизм описан Карлом Фридлендером в 1882 году как этиологический агент пневмонии, и длительное время назывался «палочка Фридлендера». В настоящее время *K. pneumoniae* являются одними из основных возбудителей нозокомиальных пневмоний, инфекций мочевыводящих путей и кровотока. Госпитальные штаммы этого патогена характеризуются высокой частотой устойчивости к противомикробным препаратам [2].

Карбапенемы — β-лактамные антибиотики, которые обладали самым широким спектром противомикробной активности на момент их внедрения в клиническую практику и представляли собой последнюю линию защиты при лечении тяжелых жизнеугрожающих инфекций. На момент выхода в клиническую практику в 1985 году имипенема, первого антибиотика из класса карбапенемов, к нему были чувствительны около 98% грамотрицательных возбудителей. Однако уже с начала 1990-х годов стали появляться сообщения о распространении клинических штаммов, устойчивых к имипенему [3]. Сообщения о резистентности к карбапенемам были первоначально спорадическими. Такая резистентность объяснялась, прежде всего, высоким уровнем продукции β-лактамазы расширенного действия *AmpC* в сочетании с модификацией пориновых каналов внешней мембраны бактерий. В крайне редких случаях фиксировали выработку бактериями гидролизующих карбапенем β-лактамаз (карбапенемаз).

В настоящее время распространение устойчивых к карбапенемам микроорганизмов считается одной из наиболее актуальных проблем здравоохранения во всем мире. Основным механизмом формирования устойчивости грамотрицательных патогенов к карбапенемам является продукция бактериями карбапенемаз. Большинство генов, кодирующих продукцию карбапенемаз, распространяется между разными видами микроорганизмов с помощью плазмид, несущих в своем составе детерминанты устойчивости к антибиотикам разных групп. Так происходит очень быстро одномоментная передача фенотипа множественной лекарственной устойчивости [4, 5].

K. pneumoniae является микроорганизмом, у которого впервые были обнаружены несколько новых генов устойчивости к карбапенемам (самые известные — *KPC* и *NDM*). В последующем эти β-лактамазы широко распространились и среди других видов бактерий.

K. pneumoniae имеет значительно больший геном, чем другие энтеробактерии, и отличается высоким разнообразием приобретенных генов устойчивости к противомикробным препаратам. На сегодняшний день *K. pneumoniae* считается одним из основных «распространителей» клинически важных генов антибиотикорезистентности [6].

Цель исследования: изучить частоту встречаемости наиболее распространенных генов карбапенемаз у полирезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от пациентов реанимационных отделений различного профиля в стационаре скорой медицинской помощи.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

За период с 1 января по 31 декабря 2021 года проанализировано 4708 проб различных видов клинического материала, полученного от пациентов 5 реанимационных отделений НИИ СП им. Н.В. Склифосовского. В хирургической реанимации (ХР) проводилось лечение больных с медиастинитами, распространенными перитонитами, открытой травмой груди и живота. В нейрохирургической реанимации (НХР) помощь оказывалась пациентам с разорвавшимися аневризмами головного мозга, артериовенозными мальформациями на высоте кровотечения, с изолированной и сочетанной черепно-мозговой травмой; в неврологической реанимации (НР) — с геморрагическими и ишемическими инсультами. В экстренной реанимации (ЭР) находились на лечении пострадавшие с тяжелой сочетанной травмой, а в ожоговой реанимации (ОР) — с тяжелой термической травмой.

Показания к проведению микробиологических исследований определял лечащий врач больного. Микробиологические исследования проводились с использованием стандартных общепринятых методов.

Первичный посев проводили в зависимости от вида исследуемого клинического материала на 5% кровяной, шоколадной и маннит-солевой агары, а также на среды Эндо и Сабуро. Посев крови проводили во флаконы *Bactec™ Plus Aaerobic/F Culture Vials* (для аэробных бактерий) и *Bactec™ Plus Anaerobic/F Culture Vials* (для анаэробных микроорганизмов), которые инкубировали в анализаторе *Bactec FX* (*BD*, США). Стандартный протокол культивирования флаконов в приборе — 5 суток.

Идентификацию возбудителей проводили с использованием масс-спектрометра *VITEK MS* (биоМерье, Франция), определение чувствительности к антибиотикам — на анализаторе *VITEK*-2 *Compact* (биоМерье, Франция) или анализаторе *WalkAway*-40 (*Beckman Coulter*, США). Для целей настоящего исследования отбирали штаммы *Klebsiella pneumoniae*, устойчивые к имипенему и (или) к меропенему. При выделении от одного пациента в нескольких пробах карбапенемре-

зистентных *K. pneumoniae* для дальнейших исследований отбирали только первый полученный штамм.

Выделение ДНК из штаммов микроорганизмов проводили согласно инструкции к набору «РИБО-преп» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия). Детекцию генов металло-β-лактамаз (МБЛ) групп *VIM*, *IMP*, *NDM* и сериновых карбапенемаз групп *KPC* и *OXA*-48 осуществляли методом полимеразной цепной реакции в режиме реального времени с помощью наборов реагентов «АмплиСенс *MDR-MBL-FL*» и «АмплиСенс *MDR-KPC/OXA*-48-*FL*» (ФБУН ЦНИИЭ, Россия) на приборе *"Rotor Gene"* (*Corbett Research*, Австралия).

РЕЗУЛЬТАТЫ

Исследовано 4708 проб различных видов клинического материала, полученного от пациентов указанных реанимационных отделений. Рост этиологически значимых микроорганизмов получен в 64,7% проб. Общая структура возбудителей внутрибольничных инфекций (ВБИ) у реанимационных больных представлена на рис. 1. Как видно на рисунке, основными патогенами у пациентов реанимационного профиля являются грамотрицательные бактерии, такие как *Klebsiella pneumoniae* (25,05%), *Acinetobacter spp*. (14,71%) и *Pseudomonas aeruginosa* (14,65%).

Для целей настоящего исследования отобрано 194 последовательных уникальных карбапенемрезистентных штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов реанимационного профиля НИИ СП им. Н.В. Склифосовского: от пациентов НР — 30; от больных ОР и ЭР — по 33; из ХР — 35 и из НХР — 63 штамма.

Из 194 изученных штаммов, устойчивых к карбапенемам клебсиелл, у 22 (11,3%) гены исследуемых карбапенемаз не обнаружены. У 38,1% штаммов обнаружена одна карбапенемаза, у 29,9% — две и у 20,6% — три и более карбапенемаз. Вместе с тем в разных реанимационных отделениях частота выделения различных генов карбапенемаз у резистентных штаммов клебсиелл отличается (рис. 2). Как видно на рисунке, у всех штаммов клебсиелл, выделенных от пациентов ЭР, были обнаружены тестируемые гены карбапенемаз. У штаммов, выделенных от пациентов ожогового профиля, изучаемые гены отсутствовали в 21,2%, а у пациентов ХР, НХР и НР — в 8,6%; 14,3% и 10% случаев соответственно.

Среди штаммов, у которых обнаружен один ген карбапенемаз, преобладали продуценты *OXA*-48 (*OXAcillinase*) (19,1%) и *KPC* (*Klebsiella Pneumoniae Carbapenemase*) (13,4%). Штаммы-продуценты только *NDM* беталактамазы встречались в 5,7% случаев. Изолированное выделение *VIM* и *IMP* у штаммов карбапенемрезистентных клебсиелл не обнаружили. Чаще всего гены, кодирующие продукцию металлобеталактамаз (*NDM*, *VIM* и *IMP*), выделяли в комбинации с генами сериновых карбапенемаз (34%). Продукция только сериновых карбапенемаз выявлена у 48,5% изученных штаммов *K. pneumoniae*, устойчивых к карбапенемам. Продукция металлобеталактамаз зафиксирована в 40,2% случаев. В зависимости от профиля реанимационного отделения имеются различия в частоте выявления сериновых и металлобеталактамаз у штаммов карбапенемрезистентных клебсиелл (рис. 3). В ХР, НХР и НР преобладают сериновые карбапенемазы и выделяются в 65,7%; 47,6% и 60% соответственно. Штаммы, выделенные от пациентов ЭР и ОР, чаще

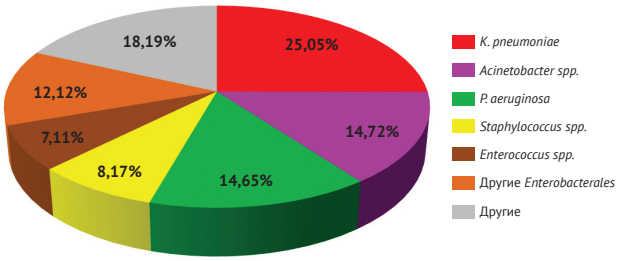

Рис. 1. Структура основных возбудителей внутрибольничных инфекций у пациентов реанимационного профиля в 2021 году
Fig. 1. Structure of the main nosocomial pathogens in intensive care patients in 2021

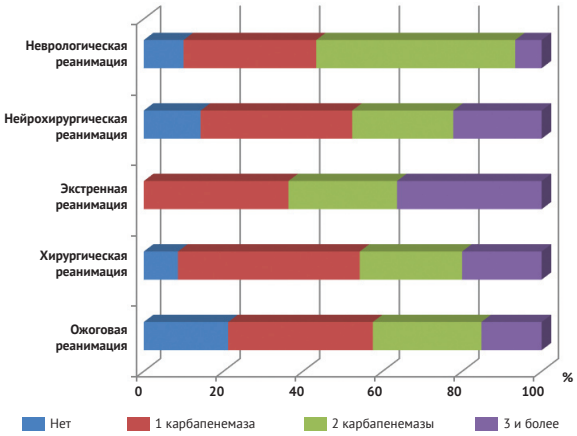

Рис. 2. Доля генов карбапенемаз *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от пациентов различных реанимационных отделений НИИ СП им. Н.В. Склифосовского в 2021 году (%)
Fig. 2. The percentage of Klebsiella pneumoniae carbapenemase genes isolated from patients of various intensive care units of the N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine in 2021 (%)

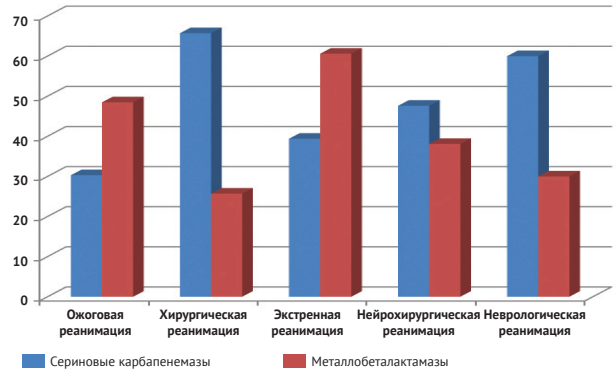

Рис. 3. Частота продукции различных типов беталактамаз устойчивых к карбапенемам *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов реанимационных отделений различного профиля
Fig. 3. Frequency of production of various types of betalactamases by carbapenem-resistant K. pneumoniae isolated from patients of various intensive care units

являются продуцентами металлобеталактамаз (60,6% и 48,5% соответственно).

ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

β-лактамные антибиотики являются самым многочисленным классом противомикробных препаратов для лечения инфекционно-воспалительных заболеваний и осложнений. История создания новых препаратов этого класса неразрывно связана с историей появления беталактамаз, являющихся основной причиной

Russian Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care. 2024;13(1):22–28. https://doi.org/10.23934/2223-9022-2024-13-1-22-28

устойчивости возбудителей к представителям класса беталактамных антибиотиков.

Бензилпенициллин был первым β-лактамом, который стал широко применяться в клинической практике с 1944 года. Распространение штаммов стафилококков, продуцирующих пенициллиназу, стимулировало ученых к созданию метициллина, оксациллина и цефалоспоринов I генерации, которые были устойчивы к стафилококковым β-лактамазам.

Внедрение в клиническую практику в 1960-х годах ампициллина позволило успешно лечить заболевания, вызванные энтеробактериями. Но вместе с тем это способствовало распространению штаммов *Escherichia coli*, продуцирующих β-лактамазу *TEM*-1 (название от имени пациента, у которого выделена впервые — *Temoneira*), гидролизующую ампициллин. Ген, кодирующий продукцию фермента *TEM*, локализовался на плазмиде бактерий. Одновременно с этим в структуре возбудителей внутрибольничных инфекций стала увеличиваться доля штаммов *K. pneumoniae*, которые обладали природной устойчивостью к аминопенициллинам за счет естественной продукции хромосомной беталактамазы *SHV*-1 (*SulphHydryl Variable*). В последующем было зафиксировано выделение β-лактамаз *TEM*-1 и *SHV*-1 от других видов бактерий (например, *Haemophilus influenzae* и *Neisseria gonorrhoeae*). Вероятно, хромосомно-кодируемые эндогенные гены устойчивости к противомикробным препаратам были транслоцированы в плазмиды и стали легко передаваться между разными видами бактерий [7].

Снижение клинической эффективности пенициллинов и цефалоспоринов I генерации стимулировало ученых к созданию и внедрению в клинику в 1980-х годах цефалоспоринов II–III генераций, устойчивых к гидролизу β-лактамаз *TEM*-1 и *SHV*-1. Однако несколько лет спустя были выделены микроорганизмы, продуцирующие ферменты, которые разрушали беталактамные антибиотики, включая цефалоспорины III генерации [8]. Эти новые ферменты были названы беталактамазами расширенного спектра (БЛРС).

Внедрение в клиническую практику в 1985 году карбапенемов позволило эффективно бороться с микроорганизмами, продуцирующими БЛРС. Но еще в 1982 году, до внедрения в широкую клиническую практику имипенема, у двух клинических изолятов *Serratia marcescens* были выделены беталактамазы *SME*-1 (*Serratia Marcescens Enzyme*), гидролизующие пенициллины, цефалоспорины и карбапенемы. С начала 1990-х годов стали появляться публикации о выделении клинических штаммов микроорганизмов с приобретенной устойчивостью к карбапенемам за счет различных беталактамаз. В 1991 году в Японии у клинического штамма *Serratia marcescens* была выделена металлобеталактамаза *IMP*-1 (*IMiPenem* — гидролизующая беталактамаза). Затем в Италии из клинического штамма *Pseudomonas aeroginossa* была выделена металлобеталактамаза *VIM*-1 (*Verona Imipenemase*). В 1996 году в США был описан штамм *K. pneumoniae*, продуцирующий карбапенемазу *KPC*. Вскоре *K. pneumoniae*, продуцирующая КРС, быстро распространилась в больницах США, а в последующем и в других странах мира. Параллельно с распространением продуцентов *KPC* в США в 2000-х годах в странах Средиземноморья появилась и распространилась еще одна группа карбапенемаз, *OXA*-48. В 2008 году у гражданина Швеции индийского происхождения был выделен штамм *K. pneumoniae*, продуцирующий новую металлобеталактамазу *NDM* (*New Delhi metallo*-β-*lactamase*). С тех пор карбапенемаза *NDM* распространилась по всему миру и выделяется от разных видов бактерий [9].

В зависимости от молекулярного строения активного центра ферментов β-лактамазы делят на сериновые и металлобеталактамазы. Первые используют сериновый остаток для инактивации антибиотиков. В активном центре вторых присутствуют атомы цинка. По классификации Амблера, к сериновым беталактамазам относятся ферменты из классов *A*, *C* и *D*. Металлобеталактамазы составляют класс B. Карбапенемазы входят в классы *A*, *B* и *D*. На данный момент описано более 50 видов различных беталактамаз, способных гидролизовать карбапенемы. Самые распространенные ферменты из класса *A* — *KPC*; из класса *B* — *IMP*, *VIM*, *NDM*; из класса *D* — *OXA*.

Карбапенемазы не чувствительны к традиционным ингибиторам беталактамаз (клавулановая кислота, тазобактам, сульбактам). При этом действие большинства сериновых карбапенемаз может подавляться ингибитором авибактамом, а карбапенемаз класса *A* — ваборбактамом и релебактамом. Действие ферментов класса B не блокируется доступными на сегодняшний день в клинической практике ингибиторами беталактамаз. Поэтому для корректного подбора антибактериальной терапии важна информация о типах карбапенемаз, продуцируемых возбудителями.

В нашем исследовании у 11,3% штаммов клебсиелл, обладающих фенотипической устойчивостью к карбапенемам, не обнаружены беталактамазы *KPC*, *OXA*-48, *IMP*, *VIM*, *NDM*. При этом в разных реанимационных отделениях этот показатель колебался от 0 до 21,2%. Аналогичные данные получены и в работах других исследователей [10]. Это обстоятельство может быть связано с двумя причинами. Прежде всего, кроме изучаемых нами карбапенемаз возможна продукция других, более редких ферментов. Кроме того, ферментативная инактивация беталактамных антибиотиков считается основной, но не единственной причиной развития устойчивости бактерий. Более редкими причинами резистентности грамотрицательных микроорганизмов к карбапенемам являются дефекты пориновых каналов наружной мембраны бактерий, активное выведение препарата из бактериальной клетки и гиперпродукция хромосомных ферментов (*AmpC*). Эти мутации кодируются хромосомами. Поэтому такие типы резистентности распространяются очень медленно и выявляются у незначительного числа штаммов бактерий.

Выделяемые от разных родов бактерий карбапенемазы, располагающиеся на плазмидах, изначально были связаны с определенными географическими регионами. Однако в эпоху многочисленных международных поездок и медицинского туризма связь между конкретным механизмом резистентности и данным регионом быстро утрачивается.

Изначально *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующая *KPC*, была широко распространена в США и некоторых европейских странах, таких как Греция и Италия. Штаммы, продуценты *OXA*-48, эндемичны в Турции, Бельгии, Франции и Северной Африке [11]. Ферменты металло-β-лактамаз *VIM* и *IMP* чаще всего обнаруживали в Испании, Италии и Венгрии, а *NDM* — в Индии, Пакистане и Бангладеш [12]. На сегодняшний день

выделение всех видов карбапенемаз регистрируется во множестве стран мира.

В России отмечаются региональные различия в структуре основных механизмов резистентности бактерий к карбапенемам. Так, по данным нескольких авторов в Санкт-Петербурге, у госпитальных штаммов *K. pneumoniae* в большинстве случаев выделяли ген, кодирующий продукцию *NDM*-беталактамазы. Значительно реже встречались штаммы — продуценты *OXA*-48 и *KPC* [10, 13]. А в Екатеринбурге более половины штаммов энтеробактерий, выделенных от реанимационных пациентов, являлись носителями гена *bla OXA*-48 и 21% — *NDM* [14]. В Московских стационарах также преобладают штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие беталактамазу *OXA*-48 [12, 15].

Полученные нами результаты сопоставимы с данными, характерными для московских стационаров. Основными ферментами, разрушающими карбапенемы, являются сериновые карбапенемазы (изолированно встречаются у 48,5% штаммов). Однако в НИИ СП им. Н.В. Склифосовского имеются свои локальные особенности: более половины штаммов клебсиелл являлись носителями одновременно двух и более различных генов карбапенемаз; а 40,2% штаммов — продуцентами металлобеталактамазы *NDM*, причем в большинстве случаев в сочетании с сериновыми карбапенемазами *OXA*-48 и *KPC*. При этом имеются различия в частоте выделения изученных карбапенемаз у пациентов различных реанимационных отделений института. Так, в НР штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие сериновые карбапенемазы, встречались в 2 раза чаще, а в ХР почти в 3 раза чаще, чем продуценты металлобеталактамаз. Штаммы клебсиелл, выделенные от пациентов ЭР и ОР, продуцировали металлобеталактамазы в 2 раза чаще, чем сериновые. Это может быть связано как с разными контингентами переводимых в реанимационные отделения пациентов, так и с локальными особенностями соблюдения принципов инфекционного контроля и тактики антибактериальной терапии в каждом отделении.

Полученные данные свидетельствуют о сложной эпидемиологической обстановке в стационаре и необходимости строгого соблюдения принципов инфекционного контроля.

При разработке алгоритмов противомикробной терапии необходимо учитывать, что от 25,7 до 60,6% штаммов ведущего возбудителя внутрибольничных инфекций *K. pneumoniae* в разных отделениях реанимационного профиля являются продуцентами металлобеталактамаз и, как следствие, устойчивыми ко всем беталактамным антибиотикам, включая современные ингибитор-защищенные препараты.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Устойчивость микроорганизмов к антибиотикам представляет собой глобальную проблему и имеет огромное социально-экономическое значение. Возникновение и распространение резистентности бактерий является естественным биологическим ответом на использование противомикробных средств, которые создают селективное давление, способствующее отбору, выживанию и размножению устойчивых штаммов. Противомикробные препараты — это незаменимый класс лекарств и без их использования невозможно существование современной медицины. Поэтому «продление срока жизни» антибиотиков является важной задачей, для решения которой необходимы комплексные мероприятия.

Понимание причин появления и механизмов развития устойчивости микробов к антибиотикам позволит разрабатывать наиболее эффективные способы преодоления распространения резистентности бактерий.

ВЫВОДЫ

1. *K. pneumoniae* является возбудителем внутрибольничных инфекций в 25% случаев.

2. У 11,3% карбапенемрезистентных штаммов продукция генов *KPC*, *OXA*-48, *NDM*, *VIM* и *IMP* не обнаружена.

3. При разработке алгоритмов антибактериальной терапии необходимо учитывать, что от 25,7% до 60,6% штаммов *K. pneumoniae* в разных отделениях реанимационного профиля являются продуцентами металлобеталактамаз.

СПИСОК ИСТОЧНИКОВ

1. Sneath PHA, Bergey DH, Holt J. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams&Wilkins; 1986. Vol. 2. p. 1165–1167.
2. Effah CY, Sun T, Liu S, Wu Y. Klebsiella pneumoniae: an increasing threat to public health. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2020;19(1):1. PMID: 31918737 https://doi.org/10.1186/s12941-019-0343-8
3. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(3):440–458. PMID: 17630334 https://doi.org/10.1128/CMR.00001-07
4. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(2):306–325. PMID: 15831827 https://doi.org/10.1128/CMR.18.2.306-325.2005
5. Bennett PM. Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 1999;43(1):1–4. PMID: 10381094
6. Wyres KL, Holt KE. Klebsiella pneumoniae as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria. *Curr Opin Microbiol*. 2018;45:131–139. PMID: 29723841 https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.04.004
7. Arakawa Y. Systematic research to overcome newly emerged multidrug-resistant bacteria. *Microbiol Immunol*. 2020;64(4):231–251. PMID: 32068266 https://doi.org/ 10.1111/1348-0421.12781
8. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-Spectrum β-Lactamases: a Clinical Update. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(4):657–686. PMID: 16223952 https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005
9. Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect*. 2002;8(6):321–331. PMID: 12084099 https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2002.00401.x
10. Егорова С.А., Липская Л.В., Коноваленко И.Б., Оксема Е.В., Смирнова М.В., Н.Б. Ведерникова и др. Карбапенемазы, продуцируемые штаммами K.pneumoniae–возбудителями ИСМ в стационарах Санкт-Петербурга. *Инфекция и иммунитет*. 2016;6(3):22.
11. Bonomo RA, Burd EM, Conly J, Limbago BM, Poirel L, Segre JA, et al. Carbapenemase-Producing Organisms: A Global Scourge. *Clin Infect Dis*. 2018;66(8):1290–1297. PMID: 29165604 https://doi.org/10.1093/cid/cix893
12. Яковлев С.В., Суворова М.П., Быков А.О. Инфекции, вызванные карбапенеморезистентными энтеробактериями: эпидемиология, клиническое значение и возможности оптимизации антибактериальной терапии. *Антибиотики и химиотерапия*. 2020;65(5–6):41–69. https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-5-6-41-69
13. Божкова С.А., Гордина Е.М., Шнейдер О.В., Рукина А.Н., Шабанова В.В. Резистентность продуцирующих карбапенемазы штаммов Klebsiella pneumoniae, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2020;22(1):47–52. https://doi.org/10.36488/cmac.2020.1.47-52
14. Розанова С.М., Бейкин Я.Б., Кырф М.В., Перевалова Е.Ю., Шевелева Л.В., Вакалюк А.В., и др. Распространение энтеробактерий, продуцирующих карбапенемазы, в реанимационных отделениях Екатеринбурга. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019;21(S1):55–56.
15. Тимофеева О.Г., Поликарпова С.В. Локальный микробиологический мониторинг штаммов Enterobacterales, продуцирующих карбапенемазы. *Лабораторная служба*. 2019;8(3):14–19. https://doi.org/10.17116/labs2019803114

REFERENCES

1. Sneath PHA, Bergey DH, Holt J. *Bergey's manual of systematic bacteriology*. Williams&Wilkins; 1986. Vol. 2. p. 1165–1167.
2. Effah CY, Sun T, Liu S, Wu Y. Klebsiella pneumoniae: an increasing threat to public health. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2020;19(1):1. PMID: 31918737 https://doi.org/10.1186/s12941-019-0343-8
3. Queenan AM, Bush K. Carbapenemases: the versatile beta-lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20(3):440–458. PMID: 17630334 https://doi.org/10.1128/CMR.00001-07
4. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(2):306–325. PMID: 15831827 https://doi.org/10.1128/CMR.18.2.306-325.2005
5. Bennett PM. Integrons and gene cassettes: a genetic construction kit for bacteria. *J Antimicrob Chemother*. 1999;43(1):1–4. PMID: 10381094
6. Wyres KL, Holt KE. Klebsiella pneumoniae as a key trafficker of drug resistance genes from environmental to clinically important bacteria. *Curr Opin Microbiol*. 2018;45:131–139. PMID: 29723841 https://doi.org/10.1016/j.mib.2018.04.004
7. Arakawa Y. Systematic research to overcome newly emerged multidrug-resistant bacteria. *Microbiol Immunol*. 2020;64(4):231–251. PMID: 32068266 https://doi.org/ 10.1111/1348-0421.12781
8. Paterson DL, Bonomo RA. Extended-Spectrum β-Lactamases: a Clinical Update. *Clin Microbiol Rev*. 2005;18(4):657–686. PMID: 16223952 https://doi.org/10.1128/CMR.18.4.657-686.2005
9. Nordmann P, Poirel L. Emerging carbapenemases in Gram-negative aerobes. *Clin Microbiol Infect*. 2002;8(6):321–331. PMID: 12084099 https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2002.00401.x
10. Egorova SA, Lipskaya LV, Konovalenko IB, Oksema EV, Smirnova MV, Vedernikova NB, et al. Karbapenemazy, produtsiruemye shtammami K. pneumoniae – vozbuditelyami ISM v statsionarakh Sankt-Peterburga. *Russian Journal of Infection and Immunity*. 2016;6(3):22. (In Russ.)
11. Bonomo RA, Burd EM, Conly J, Limbago BM, Poirel L, Segre JA, et al. Carbapenemase-Producing Organisms: A Global Scourge. *Clin Infect Dis*. 2018;66(8):1290–1297. PMID: 29165604 https://doi.org/10.1093/cid/cix893
12. Yakovlev SV, Suvorova MP, Bykov AO. Infections Caused by Carbapenem-Resistant Enterobacterales: Epidemiology, Clinical Significance, and Possibilities for Antibiotic Therapy Optimization. *Antibiotics and Chemotherapy*. 2020;65(5–6):41–69. (In Russ.) https://doi.org/10.37489/0235-2990-2020-65-5-6-41-69
13. Bozhkova SA, Gordina EM, Schneider OV, Rukina AN, Shabanova VV. Resistance of carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae isolated from patients with orthopedic infection. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2020;22(1):47–52. (In Russ.) https://doi.org/10.36488/cmac.2020.1.47-52
14. Rozanova SM, Beykin YaB, Kyrf MV, Perevalova EYu, Sheveleva LV, Vakalyuk AV et al. Rasprostranenie enterobakteriy, produtsiruyushchikh karbapenemazy, v reanimatsionnykh otdeleniyakh Ekaterinburga. *Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy*. 2019;21(S1):55–56. (In Russ.)
15. Timofeeva OG, Polikarpova SV. Local microbiological monitoring of carbapenemases-producing Enterobacterales. *Laboratory Service*. 2019;8(3):14–19. (In Russ.) https://doi.org/10.17116/labs2019803114

ИНФОРМАЦИЯ ОБ АВТОРАХ

Черненькая Татьяна Витальевна — кандидат медицинских наук, заведующая научной лабораторией клинической микробиологии ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
https://orcid.org/0000-0002-6167-7117, chernenkayat@rambler.ru;
30%: концепция статьи, анализ полученных данных, написание текста статьи

Борисова Людмила Анатольевна — заведующая бактериологической лабораторией ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
https://orcid.org/0000-0003-0691-4519, borisovala@sklif.mos.ru;
20%: проведение экспериментальной части исследования, анализ полученных данных

Воробьева Татьяна Юрьевна — врач-бактериолог бактериологической лаборатории ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
https://orcid.org/0000-0003-4469-3497, vorobievatj@sklif.mos.ru;
20%: проведение экспериментальной части исследования, анализ полученных данных

Годков Михаил Андреевич — доктор медицинских наук, руководитель научного отдела лабораторной диагностики ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ»;
https://orcid.org/0000-0001-9612-6705, godkovma@sklif.mos.ru;
15%: редактирование первичного материала, утверждение окончательного варианта

Шабанов Аслан Курбанович — доктор медицинских наук, заместитель главного врача ГБУЗ «НИИ СП им. Н.В. Склифосовского ДЗМ» по анестезиологии и реанимации;
https://orcid.org/0000-0002-3417-2682, shabanovak@sklif.mos.ru;
15%: анализ полученных данных, утверждение окончательного варианта

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов

Carbapenemases Produced by Multidrug-Resistant Strains of Klebsiella Pneumoniae Isolated from Intensive Care Patients

T.V. Chernenkaya* ✉, *L.A. Borisova, T.Yu. Vorobieva, M.A. Godkov, A.K. Shabanov

Scientific Laboratory of Clinical Microbiology
N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine
3, Bolshaya Sukharevskaya Sq., Moscow 129090, Russian Federation

✉ **Contacts:** Tatyana V. Chernenkaya, Candidate of Medical Sciences, Head, Scientific Laboratory of Clinical Microbiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine. Email: chernenkayat@rambler.ruu

RELEVANCE Klebsiella pneumoniae is one of the main pathogens of nosocomial infections. Hospital strains of this pathogen are characterized by a high frequency of resistance to many antibiotics, including carbapenems. The main mechanism for the formation of resistance to carbapenems is the production of carbapenemases by bacteria. To date, K. pneumoniae is considered one of the main "distributors" of clinically important antibiotic resistance genes.

AIM OF THE STUDY To study the frequency of occurrence of the most common carbapenemase genes in multiresistant K.pneumoniae strains isolated from patients of intensive care units in an emergency hospital.

MATERIAL AND METHODS 4708 samples of various types of clinical material from patients of 5 intensive care units of the N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine were analyzed. Microbiological studies were carried out using standard generally accepted methods. For the purposes of this study, unique sequential K.pneumoniae strains resistant to imipenem and/or meropenem were selected. DNA isolation was carried out using the RIBO-prep kit (Russia). Carbapenemase genes were detected by real-time PCR using the kits of reagents "AmpliSens MDR-MBL-FL" and "AmpliSens MDR-KPC/OXA-48-FL" on a "Rotor Gene" device (Corbett Research, Australia).

RESULTS Etiologically significant microorganisms were detected in 64.7% of the studied samples. K. pneumoniae was isolated in a quarter of the samples. 194 unique carbapenem-resistant strains of K.pneumoniae were selected. Of these, 11.3% of the genes of the studied carbapenemases were not detected. In 38.1% of strains, 1 carbapenemase was detected, in 29.9% — two and in 20.6% — three or more. Among the strains with one carbapenemase gene, OXA-48 (19.1%) and CATTLE (13.4%) producers prevailed. Strains producing only NDM betalactamase were found in 5.7% of cases. Isolated allocation of VIM and IMP was not detected. In 34%, metallobectalamases were isolated in combination with serine carbapenemases. The production of serine carbapenemases alone was detected in 48.5% of the strains. Depending on the specialization of the intensive care unit, there are differences in the frequency of detection of serine and metallobetalactamases in strains of carbapenem-resistant Klebsiella.

CONCLUSION K. pneumoniae is the causative agent of nosocomial infections in 25% of cases. In 11.3% of carbapenem-resistant strains, the production of KPC, OXA-48, NDM, VIM and IMP genes was not detected. When developing algorithms for antibacterial therapy, it is necessary to take into account that from 25.7% to 60.6% of K. pneumoniae strains in different intensive care units are the producers of metallobetalactamases.

Keywords: Klebsiella pneumoniae, multiresistant strains, carbapenemases, serine beta-lactamases, metallo-betalactamases

For citation Chernenkaya TV, Borisova LA, Vorobieva TYu, Shabanov AK, Godkov MA. Carbapenemases Produced by Multidrug-Resistant Strains of Klebsiella Pneumoniae Isolated from Intensive Care Patients. *Russian Sklifosovsky Journal of Emergency Medical Care.* 2024;13(1):22–28. https://doi.org/10.23934/2223-9022-2024-13-1-22-28 (in Russ.)

Conflict of interest Authors declare lack of the conflicts of interests

Acknowledgments, sponsorship The study had no sponsorship

Affiliations

Tatyana V. Chernenkaya	Candidate of Medical Sciences, Head of the Scientific Laboratory of Clinical Microbiology, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; https://orcid.org/0000-0002-6167-7117, chernenkayat@rambler.ru; 30%, concept of the article, analysis of the data obtained, text writing
Lyudmila A. Borisova	Head of the Bacteriological Laboratory, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; https://orcid.org/0000-0003-0691-4519, borisovala@sklif.mos.ru; 20%, conducting the experimental part of the study, analyzing the data obtained
Tatyana Yu. Vorobieva	Bacteriologist of the Bacteriological Laboratory, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; https://orcid.org/0000-0003-4469-3497, vorobievatj@sklif.mos.ru; 20%, conducting the experimental part of the study, analyzing the data obtained
Mikhail A. Godkov	Doctor of Medical Sciences, Head of the Scientific Department of Laboratory Diagnostics, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; https://orcid.org/0000-0001-9612-6705, godkovma@sklif.mos.ru; 15%, editing of primary material, approval of the final version
Aslan K. Shabanov	Doctor of Medical Sciences, Deputy Chief Physician for Anesthesiology and Resuscitation, N.V. Sklifosovsky Research Institute for Emergency Medicine; https://orcid.org/0000-0002-3417-2682, shabanovak@sklif.mos.ru; 15%, analysis of the received data, approval of the final version

Received on 09.12.2022
Review completed on 16.10.2023
Accepted on 16.10.2023

Поступила в редакцию 09.12.2022
Рецензирование завершено 16.10.2023
Принята к печати 16.10.2023