

Оценка распространения ректального носительства генов вирулентности и карбапенемаз у пациентов, поступивших на плановую госпитализацию

И. В. ЛАЗАРЕВА¹, П. С. СТАРКОВА², В. А. АГЕЕВЕЦ¹, М. О. ВОЛКОВА¹, М. С. ЛЕБЕДЕВА³,
А. С. НАВАЦКАЯ³, Е. Б. МЯСНИКОВА³, Г. В. МИТРОШИНА³, С. В. СИДОРЕНКО^{1,4}

¹ Детский научно-клинический центр инфекционных болезней, Санкт-Петербург

² Санкт-Петербургский национальный исследовательский институт информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург

³ Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург

⁴ Северо-Западный государственный медицинский университет им. И. И. Мечникова, Санкт-Петербург

Assessment of the Distribution of Rectal Carriage of Virulence and Carbapenemases Genes in Patients Enrolled for Planned Hospitalization

I. V. LAZAREVA¹, P. S. STARKOVA², V. A. AGEEVETS¹, M. O. VOLKOVA¹, M. S. LEBEDEVA³,
A. S. NAVATSKAYA³, E. B. MYASNIKOVA³, G. V. MITROSHINA³, S. V. SIDORENKO^{1,4}

¹ Pediatric Research and Clinical Center for Infectious Diseases, Saint Petersburg

² Saint Petersburg National Research Institute of Information Technologies, Mechanics and Optics, Saint Petersburg

³ Saint Petersburg Clinical Scientific and Practical Center of Specialized Types of Medical Care (Oncologic), Saint Petersburg

⁴ North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint Petersburg

Klebsiella pneumoniae являются наиболее частой причиной внутрибольничных инфекций. Выделяют два основных типа *K.pneumoniae* (Кр) — классические *K.pneumoniae* (сКр) и гипervирулентные *K.pneumoniae* (hvКр). В 2015 г. в Китае впервые была зарегистрирована вспышка госпитальных инфекций, вызванных Кр, проявляющей одновременно признаки гипervирулентности и множественной устойчивости (продукцию blaKPC-2). Целью настоящей работы была оценка частоты ректальной колонизации у пациентов, поступающих на плановое лечение в онкологический стационар вирулентными и множественно устойчивыми штаммами Кр и *Pseudomonas aeruginosa*. В исследование было включено 168 пациентов, из ректальных проб которых было выделено 156 изолятов грамотрицательных бактерий. Только один изолят *P.aeruginosa* оказался продуцентом bla_{VIM}. Было выделено 30 изолятов *Klebsiella* spp.: Кр n=25; *K.oxytoca* n=3; *K.planticola* n=1; *K.variicola* n=1. Среди них продуцентов карбапенемаз выявлено не было. В двух из трёх изолятов *K.oxytoca* были обнаружены маркеры гипervирулентности: в одном (string-test «-») — все 5 генов (*iucA*, *prmpA*, *prmpA2*, *iroB*, *peg-344*), а также два дополнительных гена вирулентности — *terB* и *irp2*; во втором (string-test «+») — *rmpA* и *irp2*. Гипермукоидный фенотип наблюдался у шести изолятов Кр и одного *K.oxytoca*. В изолятах Кр были обнаружены маркеры гипervирулентности, предположительно плазмидной локализации: *iucA* (аэробактин), n=3; *prmpA*, n=3 (регулятор гипермукоидного фенотипа); *iroB*, n=2 (сальмохелин); а также *peg-344* (внутренний мембранный транспортер), n=4; а также детерминанты вирулентности предположительно хромосомной локализации: *terB*, n=1 и *irp2*, n=8. В изоляте *K.variicola* также были обнаружены — *terB* и *irp2*. Очевидно, что постоянным резервуаром и источником генов вирулентности, наряду с генами резистентности, может быть ректальное носительство.

Ключевые слова: ректальное носительство, *Klebsiella pneumoniae*, гены карбапенемаз, маркеры гипervирулентности.

Klebsiella pneumoniae is the most common cause of nosocomial infections. There are two main types of *K.pneumoniae* (Кр) — classical *K.pneumoniae* (сКр) and hypervirulent *K.pneumoniae* (hvКр). In 2015, an outbreak of nosocomial infections caused by Кр was recorded in China for the first time, showing signs of hypervirulence and multidrug resistance (production of blaKPC-2). The purpose of this work is to assess the frequency of rectal colonization of patients admitted to a planned treatment in a cancer hospital with virulent and multidrug resistant strains of Кр and *Pseudomonas aeruginosa*. The study included 168 patients, 156 isolates of gram-negative bacteria were isolated from their rectal samples. Only one *P.aeruginosa* isolate turned out to be a bla_{VIM} producer. 30 isolates of *Klebsiella* spp.: Кр n=25; *K.oxytoca* n=3; *K.planticola* n=1; *K.variicola* n=1. Producers of carbapenemases have not been identified among them. Hypervirulence markers were detected in two of the three *K.oxytoca* isolates: in one (string-test «-») — all 5 genes (*iucA*, *prmpA*, *prmpA2*, *iroB*, *peg-344*), as well as two additional virulence genes, *terB* and *irp2*; in the second (string-test «+») — *rmpA* and *irp2*. A hypermucooid phenotype was observed in six Кр isolates and one *K.oxytoca*. Markers of hypervirulence, presumably with plasmid localization, were found in the Кр isolates: *iucA* (aerobactin), n=3; *prmpA* (hypervirulence phenotype regulator), n=3; *iroB* (salmohelin), n=2; and also, *peg-344* (inner membrane conveyor), n=4; virulence determinants of presumably chromosomal localization: *terB*, n=1 and *irp2*, n=8. *TerB* and *irp2* were also found in the *K.variicola* isolate. It is obvious that rectal carriage of bacteria is a real problem as it may be a constant reservoir and source of virulence genes, along with resistance genes.

Keywords: rectal carriage, *Klebsiella pneumoniae*, carbapenemases genes, hypervirulence markers.

© Коллектив авторов, 2018

Адрес для корреспонденции: 197022, Санкт-Петербург, ул. Профессора Попова, д. 9. Детский научно-клинический центр инфекционных болезней

Введение

Грамотрицательные бактерии, в частности, *Klebsiella pneumoniae*, на сегодняшний день являются наиболее частой причиной внутрибольничных инфекций в стационарах Санкт-Петербурга [1]. В настоящее время принято выделять два основных типа *K. pneumoniae* — это классические *K. pneumoniae* (сКр) и гипервирулентные *K. pneumoniae* (hvКр). Распространение детерминант резистентности, посредством мобильных генетических элементов, во внутрибольничной среде, как правило, связано именно с сКр. Они способны вызывать инвазивные, плохо поддающиеся лечению обычными антибиотиками, инфекции различной локализации у ослабленных реанимационных пациентов. С другой стороны, hvКр, которые характеризуются гипермукоидным фенотипом, поражают ранее здоровых пациентов и вызывают тяжёлые инфекции, такие как абсцессы печени, менингит, эндофтальмит, некротизирующий фасциит и т.д. Вспышки подобных инфекций с инвазивным синдромом, вызванные hvКр, связаны, в основном, с азиатскими странами [2-4]. В европейской части России подобные инфекции с характерным для данного возбудителя синдромом, пока описаны не были. Особое беспокойство вызывает тот факт, что штаммы hvКр способны эволюционировать в карбапенемаз-продуцирующие hvКр, за счёт приобретения плазмиды, несущей гены карбапенемаз [5]. Существует также альтернативный вариант приобретения гигантской плазмиды гипервирулентности штаммами сКр [6].

Как известно, ректальное носительство является постоянным резервуаром генов карбапенемаз для грамотрицательных бактерий, которые могут стать реальной угрозой эпидемиологическому благополучию стационара в случае их распространения и закрепления в нём [7]. Опасность ректального носительства зачастую связана также с последующим развитием инфекций у пациентов [8].

Поэтому, для предотвращения распространения резистентности во многих европейских стационарах существует практика детекции генов карбапенемаз в мазках из прямой кишки у пациентов, поступающих на госпитализацию, и последующая индивидуальная либо когортная изоляция пациентов с положительными результатами.

И если опасность ректального носительства *K. pneumoniae*, обладающих генами карбапенемаз не вызывает сомнения, то роль изолятов, обладающих генами вирулентности в распространении тяжёлых инфекций мало изучена. Описано множество генов, связанных с вирулентностью, однако их значение в формировании гипервирулентного фенотипа окончательно не установлено. В недавно опубликованной работе Т. А. Russo и соавт., 2018 [9], были выявлены пять генов (*iucA*,

prmpA, *prmpA2*, *peg344*, *iroB*), наличие которых с высокой чувствительностью и специфичностью позволяет определить принадлежность *K. pneumoniae* к hvКр-типу.

Принимая во внимание потенциальную угрозу распространения карбапенемаз-продуцирующих hvКр штаммов и необходимость поиска источника и постоянного резервуара генов гипервирулентности и карбапенемаз, целью нашего исследования явилась оценка распространения ректального носительства как резистентных к карбапенемам грамотрицательных бактерий, так и основных маркеров гипервирулентности у *K. pneumoniae* на момент плановой госпитализации пациентов в стационар.

Материал и методы

У пациентов, поступающих на плановую госпитализацию в стационар, в течение двух недель (с 22 по 26.10.18, с 21 по 25.01.19) были получены мазки из прямой кишки. Собранные образцы инкубировались при 37°C в течение 18–24 ч в бульоне Мюллера–Хинтон с меропенемом (концентрация — 8 мкг/мл). Для дальнейшей селекции устойчивых к меропенему штаммов грамотрицательных бактерий образцы высевали на селективную среду с меропенемом в той же концентрации и инкубировали в течение 18–24 ч при 37°C. Выросшие после инкубации на средах с меропенемом изоляты, считались потенциально резистентными к меропенему. Идентификация выросших изолятов проводилась с помощью масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS, Bruker, Германия). Определение чувствительности к антибиотикам проводили методом серийных микроразведений в бульоне Мюллера–Хинтон, согласно рекомендациям ISO 20776-1:2006 и критериям EUCAST (EUCAST. Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters. Version 9.0 January 2019. http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/), в 96-луночных планшетах. МПК определяли для следующих антибиотиков: амикацин (AN), гентамицин (GEN), цефтазидим (CAZ), цефтазидим–авибактам (CZA), азтреонам–авибактам (AZA), цефотаксим (CTX), ципрофлоксацин (CIP), имипенем (IP), меропенем (MEM), доприпенем (DP), триметоприм–сульфометоксазол (SXT), тигецилин (TIG), полимиксин В (PB), цефоперазон–сульбактам (CFS), фосфомицин (FOS). Приготовление каждой новой партии планшет для определения чувствительности к антибиотикам сопровождалась рядом контролей: контроль пригодности используемых субстанций антибиотиков и их навесок с использованием *E. coli* ATCC 25922, и контроль стерильности бульона. Постановка эксперимента для каждой новой партии изолятов также сопровождалась рядом контролей: контролем роста тестируемых изолятов и контролем стерильности используемого бульона.

Наличие генов наиболее распространённых карбапенемаз детектировали с помощью готовых наборов для реал-тайм ПЦР, («АмплиСенс», InterLabService, Россия). Отсутствие карбапенемазной активности изолятов подтверждали методом инактивации карбапенемов (carbapenem inactivation method — CIM) [9]. Маркеры гипервирулентности — *iucA*, *iroB*, *terB*, *peg-344*, *prmpA*, *prmpA2*, *irp2* — детектировали с помощью ПЦР с использованием последовательности праймеров и условий амплификации, в соответствии с Russo et al., 2018.

Результаты и обсуждение

Всего за время проведения эксперимента было обследовано 168 пациентов ($n=85$, с 22.10.2018 по 26.10.2018; $n=83$, с 21.01.2019 по 25.01.2019). По-

Таблица 1. Видовой состав и количество выделенных грамотрицательных бактерий

Период исследования	Вид м/о	Количество выделенных м/о
с 22.10.2018 по 26.10.2018	<i>Acinetobacter baumannii</i>	1
	<i>Aeromonas veronii</i>	2
	<i>Citrobacter freundii</i>	3
	<i>Citrobacter braaki</i>	3
	<i>Citrobacter diversus</i>	1
	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1
	<i>Enterobacter cloacae</i>	2
	<i>Escherichia coli</i>	46
	<i>Enterobacter</i> sp.	3
	<i>Klebsiella variicola</i>	1
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	2
	<i>Klebsiella planticola</i>	1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	18
	<i>Morganella morganii</i>	5
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11
	<i>Proteus mirabilis</i>	3
	<i>Paenibacillus</i> sp.	1
<i>Shewanella putrefaciens</i>	1	
с 21.01.2019 по 25.01.2019	<i>Acinetobacter baumannii</i>	2
	<i>Aeromonas hydrophila</i>	1
	<i>Escherichia coli</i>	34
	<i>Klebsiella oxytoca</i>	1
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	7
	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3
	<i>Proteus mirabilis</i>	2
	<i>Pseudomonas putida</i>	1

сле культивирования на селективных средах с меропенемом было выделено 156 изолятов грамотрицательных бактерий. Из них, в октябре 2018 — 105 изолятов, относящихся к 19 видам; в январе 2019 — 51 изолят, относящийся к 8 видам (табл. 1).

Таблица 2. МПК антибиотиков для *K.pneumoniae*

Наименование антибиотика	Контрольная точка		R, %	I, %	S, %	МПК ₅₀	МПК ₉₀	Диапазон МПК
Амикацин	S<=8	R>=32	25,9	0	74,1	2	128	0,25–512
Гентамицин	S<=2	R>=8	25,9	0	74,1	1	256	0,5–512
Цефтазидим	S<=1	R>=8	40,7	0	59,3	1	256	0,5–256
Цефотаксим	S<=1	R>=4	37	3,7	59,3	0,25	64	0,125–256
Ципрофлоксацин	S<=0,5	R>=2	37	14,8	48,1	1	128	0,125–128
Имипенем	S<=2	R>=8	3,7	0	96,3	0,064	2	0,06–32
Меропенем	S<=2	R>=16	3,7	18,5	77,8	0,064	4	0,06–32
Триметоприм/сульфаметоксазол	S<=2	R>=8	22,2	0	77,8	0,25	128	0,06–128
Тигециклин	S<=1	R>=4	0	0	100	0,032	0,25	0,03–0,5
Полимиксин В	S<=2	R>=4	18,5	0	81,5	0,25	32	0,06–32
Цефоперазон/сульбактам	S<=1	R>=4	29,3	0	70,7	1	32	0,06–128
Фосфомицин	S<=64	R>=256	18,5	7,4	74,1	16	256	2–1024
Цефтазидим/Авибактам	S<=8	R>=16	0	0	100	0,25	8	0,12–8
Азтреонам/Авибактам	S<=8	R>=16	0	0	100	0,125	8	0,015–8

Таблица 3. МПК антибиотиков для *P.aeruginosa*

Наименование антибиотика	Контрольная точка		R, %	I, %	S, %	МПК ₅₀	МПК ₉₀	Диапазон МПК
Амикацин	S<=8	R>=32	15,4	0	84,6	2	32	1–128
Гентамицин	S<=4	R>=8	53,8	0	46,2	8	>256	0,5–512
Цефтазидим	S<=8	R>=16	53,8	0	46,2	16	256	1–256
Ципрофлоксацин	S<=0,5	R>=2	76,9	0	23,1	16	64	0,25–28
Имипенем	S<=4	R>=8	38,5	7,7	53,8	4	32	0,06–64
Меропенем	S<=2	R>=16	30,8	15,4	53,8	1	32	0,06–64
Полимиксин В	S<=2	R>=4	0	0	100	1	2	0,06–2
Цефтазидим/Авибактам	S<=8	R>=16	7,7	0	92,3	2	16	0,5–32
Азтреонам/Авибактам	S<=8	R>=16	0	0	100	0,5	4	0,06–4

Из всех 156 изолятов, только один — *P.aeruginosa*, оказался продуцентом *bla*_{VIM}. Дополнительно был проведён СИМ, поскольку все изоляты были получены после культивирования на средах с меропенемом и считались потенциальными продуцентами карбапенемаз. Однако только у одного изолята *P.aeruginosa*, продуцента *bla*_{VIM}, была обнаружена карбапенемазная активность.

Для всех изолятов *Klebsiella* sp. и *P.aeruginosa* была определена чувствительность к антибиотикам (табл. 2, 3, соответственно). Надо отметить, что несмотря на культивирование посевов на средах с меропенемом в концентрации 8 мкг/мл, изоляты характеризовались высоким уровнем чувствительности к карбапенемам. Суммарная доля изолятов *K.pneumoniae*, проявляющих чувствительность и промежуточную устойчивость к карбапенемам, составила 96,3% как для имипенема, так и для меропенема. Больше половины от общего количества изолятов *P.aeruginosa* проявляли чувствительность и промежуточную устойчивость к карбапенемам (61,5 и 69,2%, соответственно). Кроме того, наблюдались относительно низкие уровни резистентности к остальным группам антибиотиков как у *K.pneumoniae*, так и у *P.aeruginosa*.

Всего было выделено 30 изолятов *Klebsiella* sp.: *K.pneumoniae*, n=25; *K.oxytoca*, n=3; *K.planticola*, n=1; *K.variicola*, n=1. Детекция маркеров гипервирулентности осуществлялась во всех четырёх видах клебсиелл. У пяти изолятов *K.pneumoniae* было обнаружено по одному гену вирулентности, из этих изолятов только один демонстрировал

Таблица 4. Признаки и маркеры гипервирулентности изолятов *Klebsiella* sp.

Период выделения	№	Вид*	Гиперму- коидность	Карбапе- немазы	Маркеры гипервирулентности для hvKp T. Russo et al., 2018					Дополнительные гены вирулентности	
					<i>iucA</i>	<i>rmpA2</i>	<i>rmpA</i>	<i>iroB</i>	<i>peg 344</i>	<i>terB</i>	<i>irp2</i>
с 22.10.2018 по 26.10.2018	1	kpn	—	—	—	—	—	—	—	+	—
	2	kpn	+	—	+	—	+	—	—	—	+
	4	kpn	—	—	+	—	+	+	—	—	+
	13	kpn	—	—	+	—	—	+	+	—	+
	9	kpn	+	—	—	—	+	—	—	—	+
	15	kpn	—	—	—	—	—	—	+	—	—
	55	kpn	+	—	—	—	—	—	—	—	+
	35	kpn	—	—	—	—	—	—	+	—	—
	39	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	37	kox	—	—	+	+	+	+	+	+	+
	36	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	31	kpn	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	22	kox	+	—	—	—	+	—	—	—	+
	26	kpn	—	—	—	—	—	—	+	—	—
	24	kpn	+	—	—	—	—	—	—	—	—
	25	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	+
	23	kpn	+	—	—	—	—	—	—	—	+
	44	kpl	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	61	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	+
	68	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	72	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
71	klv	—	—	—	—	—	—	—	+	+	
с 21.01.2019 по 25.01.2019	14	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	9	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	10	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	17	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	30	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	27	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	57	kpn	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	54	kox	—	—	—	—	—	—	—	—	—

мукоидный фенотип. У одного изолята были обнаружены два гена вирулентности, изолят демонстрировал мукоидный фенотип. У одного изолята были три гена вирулентности и мукоидный фенотип. У двух изолятов по четыре гена вирулентности, но мукоидный фенотип не проявлялся. Мукоидный фенотип проявлялся у двух из 13 изолятов, лишённых генов вирулентности.

В одном из трёх изолятов *K. oxytoca* были обнаружены все пять основных маркеров гипервирулентности и два дополнительных гена вирулентности — *terB*, обуславливающий устойчивость к теллуриду, и *irp2*, относящийся к сидерофорам (иерсиниабактин). Данный изолят не проявлял гипермукоидного фенотипа. Во втором изоляте *K. oxytoca* обнаружены две детерминанты вирулентности — *rmpA* и *irp2*, однако у данного изолята, наблюдался гипермукоидный фенотип. В третьем изоляте, выделенном из биологических образцов в январе, детерминанты вирулентности обнаружены не были.

В изоляте *K. variicola* также были обнаружены две детерминанты вирулентности — *terB* и *irp2*, но мукоидный фенотип не проявлялся.

Долгое время штаммы сKp с множественной лекарственной устойчивостью, циркулирующие во внутрибольничной среде, и распространённые во всем мире клональные комплексы hvKp, связанные с развитием инвазивного синдрома мультилокусного поражения у здоровых людей (менингит,

абсцесс печени, эндофтальмит и т.д.), считались независимыми, предполагалось, что одновременное проявление у одного изолята признаков гипервирулентности и множественной устойчивости невозможно [10]. Однако в 2015 г. в Китае впервые была описана вспышка, связанная с hvKp ST1797-K1, продуцирующей *blaKPC-2*. Актуальность данного исследования связана с глобальным распространением CP-hvKp, которое наблюдается в настоящее время [11, 12] и вполне реально может затронуть также и стационары в России. Зачастую гипервирулентность связывают с продукцией гиперкапсулы, что в свою очередь проявляется гипермукоидным фенотипом, который можно детектировать с помощью string-теста [13]. По неопубликованному пока данным, в стационарах Санкт-Петербурга, начиная с 2017 г., всё чаще встречаются гипермукоидные полирезистентные штаммы *K. pneumoniae*. Однако источник их появления и постоянный резервуар не известны. Мы предположили, что источником генов вирулентности, также как и генов резистентности, может быть ректальное носительство. Поэтому, было организовано проспективное обследование пациентов, поступающих на госпитализацию в один из стационаров, где наблюдается циркуляция подобных гипермукоидных полирезистентных штаммов *K. pneumoniae*.

При анализе полученных результатов обращает на себя внимание более широкое разнообразие

видов грамотрицательных бактерий, выделенных из ректальных образцов пациентов в октябре, в сравнении с перечнем бактерий, выделенных из образцов в холодное время года. Подобное явление находит косвенное подтверждение во многих работах [14]. В частности, описана положительная корреляция между частотой возникновения хирургических раневых инфекций, вызываемых грамотрицательными бактериями, в онкологических/гематологических стационарах Финляндии и летне-осенней сезонностью, а также, носительством БЛРС — продуцентов Enterobacteriaceae и значением температуры окружающей среды [15]. Принимая во внимание возможность межвидового обмена детерминантами резистентности и вирулентности, входящими в состав различных типов мобильных элементов [16], большее разнообразие видов грамотрицательных бактерий, приносимых пациентами в стационар в тёплое время года, потенциально может стимулировать и поддерживать эволюцию множественной резистентности под воздействием лекарственного прессинга, а также способствует увеличению разнообразия детерминант вирулентности. Однако необходимо отметить, что как *Klebsiella* sp., так и *Pseudomonas aeruginosa*, в настоящем исследовании показали относительно низкие (карбапенемы, полимиксин В, фосфомицин) или умеренные (аминогликозиды, цефалоспорины, фторхинолоны) уровни резистентности к различным группам антибиотиков. К отдельным антибиотикам (тигекцилин, цефтазидим/авибактам, азтреонам/авибактам) наблюдалась 100% чувствительность изолятов. Отсутствие генов карбапенемаз в изолятах *K.pneumoniae*, выделенных из ректальных образцов «плановых» пациентов, свидетельствует, в целом, о благоприятной эпидемиологической обстановке во внебольничной среде по данной проблеме. Однако надо отметить, что единственный обнаруженный в настоящем исследовании изолят *P.aeruginosa* продуцент карбапенемазы VIM-типа, выделенный у пациента из ректального образца при поступлении, был в дальнейшем выделен у того же пациента из перитонеальной жидкости, что ещё раз указывает на опасность ректального носительства продуцентов карбапенемаз для пациентов, поступающих для длительной плановой госпитализации в хирургические стационары.

Резистентность или умеренная чувствительность к карбапенемам у выделенных изолятов, по-видимому, могла быть связана с сочетанием различных механизмов устойчивости, таких как, например, экспрессия различных AmpC β -лактамаз, снижение проницаемости внешней мембраны в связи с недостаточностью пориновых каналов (Mammeri H. et al., 2010). Также выделение изолятов с низкими уровнями резистентности к карбапенемам после культивирования на средах с

меропенемом, по-видимому, могло быть связано с нестабильностью карбапенемов во внешней среде. Кроме того, обращает на себя внимание отсутствие искомым маркеров гипервирулентности в изолятах *Klebsiella* sp., выделенных в январе, что пока сложно интерпретировать и требует более масштабного и длительного наблюдения.

Известно, что *K.oxytoca*, также как и *K.pneumoniae*, способны вызывать различные внебольничные и нозокомиальные инфекции, включая септицемии, пневмонии, инфекции мочевых путей, а также являются этиологической причиной антибиотико-ассоциированного колита [17, 18]. У *K.oxytoca* также описана продукция БЛРС, AmpC бета-лактамаз [19] и карбапенемаз [20, 21] плазмидной локализации. Кроме того, как у *K.oxytoca*, так и у *K.variikola* в наличии имеется широкий перечень факторов вирулентности, таких как: фимбрии 1- и 3-го типов, эффлюксные помпы, различного вида сидерофоры, а также гены, отвечающие за синтез капсулы и ЛПС. Поэтому возможное выделение во внутрибольничную среду при ректальном носительстве таких изолятов также может представлять опасность. Кроме того, наличие у изолятов *K.oxytoca* и *K.variikola* общих с *K.pneumoniae* генов вирулентности, обнаруженных в данном исследовании в ректальных образцах пациентов, показывает возможность межвидового обмена данными генами. Особое внимание заслуживают обнаруженные в изолятах *Klebsiella* sp. маркеры гипервирулентности, свидетельствующие о том, что ректальное носительство генов вирулентности распространено во внебольничной среде и может стать источником таких генов для внутрибольничных штаммов.

Заключение

Наличие среди изолятов *Klebsiella* sp., выделенных из ректальных образцов «плановых» пациентов, генов, относящихся к маркерам гипервирулентности, может представлять потенциальную угрозу для данного и других стационаров, поскольку многие из них имеют предположительно плазмидную локализацию и могут с лёгкостью передаваться от гипервирулентных к множественно резистентным штаммам и наоборот, формируя гипервирулентные полирезистентные внутрибольничные генетические линии.

Уведомление. Данное исследование поддержано Российским научным фондом в рамках Конкурса 2018 года «Проведение исследований научными группами под руководством молодых учёных» Президентской программы исследовательских проектов, реализуемых ведущими учёными, в том числе молодыми учёными по проекту «Механизмы формирования успешных генетических линий множественно резистентных гипервирулентных *Klebsiella pneumoniae*», проект № 18-75-10117».

ЛИТЕРАТУРА

1. Лазарева И.В., Агеевец В.А., Ершова Т.А., Зуева Л.П., Гончаров А.Е., Дарьина М.Г., Светличная Ю.С., Сидоренко С.В. Распространение и антибактериальная резистентность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, в Санкт-Петербурге и некоторых других регионах Российской Федерации. Антибиотики и химиотерапия. — 2016. — Т. 61. — № 11—12. — С. 28—38. / Lazareva I.V., Ageevets V.A., Ershova T.A., Zueva L.P., Goncharov A.E., Dar'ina M.G., Svetlichnaya Yu.S., Sidorenko S.V. Rasprostraneniye i antibakterial'naya rezistentnost' gramotritsatel'nykh bakterij, produtsentov karbapenemaz, v Sankt-Peterburge i nekotorykh drugikh regionakh Rossijskoj Federatsii. Antibiotiki i khimioter 2016; 61: 11—12: 28—38. [in Russian]
2. Siu L.K., Yeh K.M., Lin J.C., Fung C.P., Chang F.Y. *Klebsiella pneumoniae* liver abscess: a new invasive syndrome. *Lancet Infect Dis* 2012; 12: 881—887.
3. Fang C.T., Chuang Y.P., Shun C.T., Chang S.C., Wang J.T. A novel virulence gene in *Klebsiella pneumoniae* strains causing primary liver abscess and septic metastatic complications. *J Exp Med* 2004; 199: 697—705.
4. Liu C., Shi J., Guo J. High prevalence of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* infection in the genetic background of elderly patients in two teaching hospitals in China. *Infection and drug resistance* 2018; 11: 1031—1041.
5. Siu L.K., Huang D.B., Chiang T. Plasmid transferability of KPC into a virulent K2 serotype *Klebsiella pneumoniae*. *BMC Infect Dis* 2014; 14: 176.
6. Gu D., Dong N., Zheng Z., Lin D., Huang M., Wang L., Chan E.W., Shu L., Yu J., Zhang R., Chen S. A fatal outbreak of ST11 carbapenem-resistant hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* in a Chinese hospital: a molecular epidemiological study. *Lancet Infect Dis* 2018; 18: 37—46.
7. Arhoune B., Oumokhtar B., Hmami F., Barguigua A., Timinouni M., El Fakir S., Chami F., Bouharrou A. Rectal carriage of extended-spectrum beta-lactamase- and carbapenemase-producing Enterobacteriaceae among hospitalized neonates in a neonatal intensive care unit in Fez, Morocco. *J Glob Antimicrob Resist* 2017; 8: 90—96.
8. Swaminathan M., Sharma S., Poliansky Blash S., Patel G., Banach D.B., Phillips M., LaBombardi V., Anderson K.F., Kitchel B., Srinivasan A., Calfee D.P. Prevalence and risk factors for acquisition of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the setting of endemicity. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2013; 34: 809—817.
9. Russo T.A., Olson R., Fang C.T., Stoesser N., Miller M., MacDonald U., Hutson A., Barker J.H., La Hoz R.M., Johnson J.R. Identification of Biomarkers for Differentiation of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* from Classical *K.pneumoniae*. *J Clin Microbiol* 2018; 56.
10. van der Zwaluw K., de Haan A., Pluister G.N., Bootsma H.J., de Neeling A.J., Schouls L.M. The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods. *PLoS One* 2015; 10: e0123690.
11. Turton J.F., Payne Z., Coward A., Hopkins K.L., Turton J.A., Doumith M., Woodford N. Virulence genes in isolates of *Klebsiella pneumoniae* from the UK during 2016, including among carbapenemase gene-positive hypervirulent K1-ST23 and 'non-hypervirulent' types ST147, ST15 and ST383. *J Med Microbiol* 2018; 67: 118—128.
12. Sargers L., Boyd A., Girard P.M., Arlet G., Decre D. ESBL-Producing Strain of Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* K2, France. *Emerg Infect Dis* 2016; 22: 1687—1688.
13. Hadano Y. String test. *BMJ case reports*. 2013; 2013.
14. Richet H. Seasonality in Gram-negative and healthcare-associated infections. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18: 934—940.
15. Pitout J.D., Laupland K.B. Extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae: an emerging public-health concern. *Lancet Infect Dis* 2008; 8: 159—166.
16. Ramirez M.S., Traglia G.M., Lin D.L., Tran T., Tolmashy M.E. Plasmid-Mediated Antibiotic Resistance and Virulence in Gram-negatives: the *Klebsiella pneumoniae* Paradigm. *Microbiol Spectr* 2014; 2: 1—15.
17. Zollner-Schwetz I., Hogenauer C., Joainig M., Weberhofer P., Gorkiewicz G., Valentin T., Hinterleitner T.A., Krause R. Role of *Klebsiella oxytoca* in antibiotic-associated diarrhea. *Clin Infect Dis* 2008; 47: e74—8.
18. Hogenauer C., Langner C., Beubler E., Lippe I.T., Schicho R., Gorkiewicz G., Krause R., Gerstgrasser N., Krejs G.J., Hinterleitner T.A. *Klebsiella oxytoca* as a causative organism of antibiotic-associated hemorrhagic colitis. *N Engl J Med* 2006; 355: 2418—2426.
19. Philippon A., Arlet G., Jacoby G.A. Plasmid-determined AmpC-type beta-lactamases. *Antimicrob Agents Chemother* 2002; 46: 1—11.
20. Hoenigl M., Valentin T., Zarfel G., Wuerstl B., Leitner E., Salzer H.J., Posch J., Krause R., Grisold A.J. Nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *Klebsiella oxytoca* in Austria. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56: 2158—2161.
21. Lai C.C., Lin T.L., Tseng S.P., Huang Y.T., Wang J.T., Chang S.C., Teng L.J., Wang J.T., Hsueh P.R. Pelvic abscess caused by New Delhi metallo-beta-lactamase-1-producing *Klebsiella oxytoca* in Taiwan in a patient who underwent renal transplantation in China. *Diagn Microbiol Infect Dis* 2011; 71: 474—475.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

Лазарева Ирина Владимировна — к. м. н., врач-бактериолог, научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней», Санкт-Петербург

Старкова Полина Сергеевна — магистр, Биохимический кластер, Санкт-Петербургский национальный исследовательский институт информационных технологий, механики и оптики, Санкт-Петербург

Агеевец Владимир Андреевич — к. б. н., научный сотрудник отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней», Санкт-Петербург

Волкова Марина Олеговна — к. м. н., врач-бактериолог лаборатории медицинской микробиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней», Санкт-Петербург

Лебедева Марина Сергеевна — врач клинический фармаколог, Санкт-Петербургский клинический научно-прак-

тический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург

Навацкая Арина Сергеевна — врач эпидемиолог, Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург

Мясникова Елена Борисовна — руководитель эпидемиологической службы, врач эпидемиолог, Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический) Санкт-Петербург

Митрошина Галина Васильевна — врач бактериолог клинико-диагностической лаборатории, Санкт-Петербургский клинический научно-практический центр специализированных видов медицинской помощи (онкологический), Санкт-Петербург

Сидоренко Сергей Владимирович — д. м. н., профессор, ведущий научный сотрудник, руководитель отдела медицинской микробиологии и молекулярной эпидемиологии Федерального государственного бюджетного учреждения «Детский научно-клинический центр инфекционных болезней», Санкт-Петербург