

Молекулярно-генетические характеристики *Escherichia coli* с продукцией β-лактамаз расширенного спектра, выделенных от больных гемобластозами при цитостатической терапии

А.Г. Коробова, С.А. Хрульнова, К.С. Тандилова, А.А. Новикова, Г.А. Клясова

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский проезд, 4

Контакты: Анна Геннадьевна Коробова atalofeeva@yandex.ru

Цель исследования – изучить генетическое родство изолятов *Escherichia coli* с продукцией β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС), выделенных со слизистой оболочки кишечника от больных острыми миелоидными лейкозами и лимфомами при первом поступлении в стационар и в процессе цитостатической терапии.

Материалы и методы. В проспективное исследование (2013–2014 гг.) были включены 73 больных (медиана возраста 39 лет), из них 25 больных острыми миелоидными лейкозами и 48 больных лимфомами. Период наблюдения составил 96 дней. Материалом исследования были изоляты *E. coli* с продукцией БЛРС, выделенные со слизистой оболочки прямой кишки. Детекцию БЛРС проводили фенотипическими методами, генов *bla*_{CTX-M} и *bla*_{TEM} – методом полимеразной цепной реакции, генотипирование – методом ERIC (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus) полимеразной цепной реакции.

Результаты. Изоляты *E. coli* с продукцией БЛРС были выделены у 39 (53 %) из 73 больных, из них у 12 (16 %) – при первом поступлении, у 27 (37 %) – в период цитостатической терапии. Гены *bla*_{CTX-M} были определены у 67 % изолятов *E. coli*, *bla*_{TEM} – у 41 %, оба гена – у 26 %. Среди 12 БЛРС-положительных *E. coli*, выделенных при первом поступлении в стационар, не было выявлено генетически родственных изолятов. У 16 (59 %) из 27 изолятов, полученных в процессе пребывания в стационаре, отмечено наличие генетического родства. Генетически родственные изоляты были выделены от больных, находившихся на лечении не только в одном, но и в разных отделениях, и характеризовались наличием как идентичных, так и разных детерминант устойчивости.

Заключение. Исследование доказало возможность передачи изолятов *E. coli* с продукцией БЛРС, колонизирующих слизистую оболочку кишечника, от одного больного к другому в период их пребывания в стационаре.

Ключевые слова: β-лактамазы расширенного спектра, *Escherichia coli*, генотипирование, колонизация слизистой оболочки кишечника, гемобластозы

Для цитирования: Коробова А.Г., Хрульнова С.А., Тандилова К.С. и др. Молекулярно-генетические характеристики *Escherichia coli* с продукцией β-лактамаз расширенного спектра, выделенных от больных гемобластозами при цитостатической терапии. Онкогематология 2019;14(1):31–9.

DOI: 10.17650/1818-8346-2019-14-1-31-39

Molecular characterization of extended-spectrum β-lactamase-producing *Escherichia coli* collected from patients with hematological malignancies during chemotherapy cycles

A. G. Korobova, S. A. Khurulnova, K. S. Tandilova, A. A. Novikova, G. A. Klyasova

National Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia

Objective: to evaluate the genetic relatedness of extended-spectrum β-lactamase (ESBL) producing *Escherichia coli* isolated from the gut in patients with acute myeloid leukemia and lymphoma at admission and during chemotherapy cycles.

Materials and methods. The prospective study (2013–2014) included 73 patients (median age 39 years) with acute myeloid leukemia ($n = 25$) and lymphoma ($n = 48$). The follow-up period lasted for 96 days. ESBL-producing *E. coli* isolated from the gut were included in this study. ESBL-production was confirmed by phenotypic tests, *bla*_{CTX-M} and *bla*_{TEM} genes were detected by polymerase chain reaction, and genotyping was performed by ERIC (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus) polymerase chain reaction.

Results. ESBL-producing *E. coli* were detected in 39 (53 %) of 73 patients: of them 12 (16 %) patients were colonized at admission and 27 (37 %) patients – during chemotherapy cycles. Gene *bla*_{CTX-M} was detected in 67 % of *E. coli*, *bla*_{TEM} – in 41 %, both genes – in 26 %. There was no genetically related ESBL-producing *E. coli* among 12 isolates detected at admission. Genetic relatedness was detected in 16 (59 %) of 27 isolates obtained during a hospital stay. Genetically related ESBL-producing *E. coli* were isolated from patients hospitalized in the same and different departments, these isolates were characterized by the presence of both identical and various determinants of resistance.

Conclusion. Our data demonstrated the possibility of patient-to-patient transmission of ESBL-producing *E. coli* isolated from the gut during a hospital stay.

Key words: extended spectrum β-lactamases, *Escherichia coli*, genotyping, colonization of gut, hematological malignancies

For citation: Korobova A.G., Khrulnova S.A., Tandilova K.S. et al. Molecular characterization of extended-spectrum β -lactamase-producing *Escherichia coli* collected from patients with hematological malignancies during chemotherapy cycles. *Onkologematologiya = Oncohematology* 2019;14(1):31–9.

Введение

Нозокомиальные инфекции являются серьезной проблемой современного здравоохранения по причине увеличения периода госпитализации больных и их летальности. Неудачи в лечении этих инфекций часто обусловлены приобретенной устойчивостью бактерий к противомикробным препаратам. Потенциальным резервуаром полирезистентных микроорганизмов в стационаре могут быть как сами больные с инфекцией или колонизацией слизистых оболочек данными бактериями, так и контаминированное медицинское оборудование и предметы ухода за больными. Существуют экзогенный и эндогенный пути инфицирования больных в стационаре. Экзогенная передача бактерий происходит от пациента к пациенту или из окружающей среды, включая употребление контаминированных продуктов. При эндогенном варианте возникает транслокация бактерий в кровотоки со слизистой оболочки кишечника, и этот путь развития инфекции преобладает у больных опухолями системы крови.

Среди полирезистентных бактерий весомую долю составляют энтеробактерии с продукцией β -лактамаз расширенного спектра (БЛРС). По результатам многоцентрового исследования, проведенного в России в 2000–2015 гг., частота продукции БЛРС среди энтеробактерий, выделенных из гемокультуры от больных гемобластозами, была равна 41 % [1]. Одним из основных предикторов развития инфекций, вызванных БЛРС-положительными энтеробактериями, является колонизация слизистой оболочки кишечника этими бактериями [2]. При анализе 173 эпизодов инфекции, возникших у больных острыми миелоидными лейкозами (ОМЛ), было выявлено, что бактериемию, вызванную продуцентами БЛРС, диагностировали только у больных с колонизацией слизистой оболочки кишечника данными микроорганизмами с частотой 7,3 %, и не было случаев бактериемии у больных без колонизации [3]. Вероятность детекции БЛРС-положительных бактерий со слизистой оболочки кишечника в течение первых 6 мес цитостатической терапии достигала 91 % у больных ОМЛ и 84 % у больных лимфомами [4]. Среди продуцентов БЛРС, выделенных со слизистой оболочки кишечника, преобладали *Escherichia coli* (59 %).

Цель исследования – изучение генетического родства изолятов *E. coli* с продукцией БЛРС, выделенных со слизистой оболочки кишечника от больных ОМЛ и лимфомами при первом поступлении в стационар и в процессе цитостатической терапии.

Материалы и методы

Проспективное исследование было проведено с апреля 2013 г. по ноябрь 2014 г. в НИИЦ гематологии

и включало больных ОМЛ и лимфомами с впервые установленными диагнозами. Мониторинг колонизации энтеробактериями с продукцией БЛРС был выполнен у всех больных в течение 96 дней. Мазки со слизистой оболочки прямой кишки брали в течение первых 2 дней госпитализации в НИИЦ гематологии, далее каждые 7 ± 2 дня во время пребывания больного в стационаре, повторяли при очередной госпитализации.

Идентификацию микроорганизмов проводили методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции/ионизации – времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) на анализаторе Microflex (Bruker Daltonics, Германия). Для идентификации брали изолированные колонии микроорганизмов. Ионизацию бактериальных белков осуществляли с помощью специального реагента – матрицы (α -циано-4-гидроксикоричная кислота и раствор, содержащий 50 % ацетонитрила и 2,5 % трифторуксусной кислоты). Идентификацию бактерий проводили в автоматическом режиме с использованием программного обеспечения Bruker Biotyper Real Time Classification, версия 3.1 (Bruker Daltonics, Германия). Результат учитывали по данным значения коэффициента видовой идентификации. Результаты считали достоверными, если коэффициент совпадения (Score) имел значение от 2,0 и выше. До проведения молекулярных исследований изоляты хранили при температуре -70°C в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 20 % глицерина.

Детекцию БЛРС у всех энтеробактерий, выделенных со слизистой оболочки прямой кишки, проводили на хромогенной селективной среде CHROMagar™ESBL и далее подтверждали методом «двойных дисков» согласно методическим рекомендациям МУК 4.21890–04 [5]. Для внутреннего контроля качества использовали референтные штаммы *E. coli* ATCC®25922 и *Klebsiella pneumoniae* ATCC®700603.

Наличие генов резистентности bla_{TEM} и $bla_{\text{CTX-M}}$ определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов (Литех, Россия).

Для определения генетического родства изолятов энтеробактерий с продукцией БЛРС был применен метод ERIC (Enterobacterial Repetitive Intergenic Consensus) ПЦР с использованием праймера ERIC1 (3'-CACTTAGGGGTCCTCGAATGTA-5') [6]. Полученные продукты амплификации разделяли с помощью электрофореза в 1 % агарозном геле в трис-ацетатном-ЭДТА (этилендиаминтетрауксусная кислота) буфере. В качестве стандарта молекулярных длин использовали ДНК-маркер 100bp GeneRuler™ (Thermo Fisher Scientific, США). Для кластерного анализа

ПЦР-профилей и построения дендрограммы применяли программное обеспечение GeI (GeI v. 1.3) [7] с использованием метода невзвешенных попарных средних (UPGMA) с коэффициентом Dice, толерантность 1,5 %. Дискриминирующую способность метода типирования оценивали с помощью индекса Хантера–Гастона (D) [8]. Изоляты считали генетически родственными, если коэффициент сходства между ними составлял ≥ 80 %.

Результаты

В исследование были включены 73 больных в возрасте 17–76 лет (медиана 39 лет), из них 25 (34 %) больных ОМЛ и 48 (66 %) больных лимфомами. Больным ОМЛ были проведены курсы цитостатической терапии по программе «7 + 3», больным лимфомами – курсы блоковой терапии по протоколу NHL-BFM-90 или mNHL-BFM-90 (46 %) и ECHOP (42 %) [9]. За 96 дней наблюдения изоляты *E. coli* с продукцией БЛРС были выявлены у 39 (53 %) из 73 больных, из них у 12 (16 %) при первом поступлении в НМИЦ гематологии, у 27 (37 %) в период цитостатической терапии. В течение 96 дней мониторинга неоднократное выделение со слизистой оболочки кишечника БЛРС-положительных *E. coli* было у 37 (95 %) из 39 больных, однократное – у 2 (5 %). Первые изоляты *E. coli*, продуцирующие БЛРС, были представлены у 31 (79,5 %) из 39 больных в монокультуре, а у 8 (20,5 %) – в сочетании с другими видами продуцентов БЛРС (*K. pneumoniae* ($n = 5$), *Klebsiella oxytoca* ($n = 2$), *Citrobacter* spp. ($n = 1$)). В процессе мониторинга БЛРС-положительные *E. coli* продолжали выделять в монокультуре только у 11 (35 %) из 31 больного, а у 18 (58 %) пациентов произошло добавление новых видов продуцентов БЛРС (*K. pneumoniae* ($n = 9$), *Enterobacter* spp. ($n = 7$), *Citrobacter* spp. ($n = 3$), *K. oxytoca* ($n = 2$)).

У всех изолятов *E. coli* ($n = 39$) с продукцией БЛРС было проведено определение генов *bla*_{CTX-M} и *bla*_{TEM}. Наличие хотя бы одного из исследуемых генов отмечалось у 32 (82 %) из 39 БЛРС-положительных изолятов *E. coli*, сочетание генов – у 26 % изолятов (табл. 1). Гены *bla*_{CTX-M} преобладали и были выявлены у 67 % изолятов, причем у 41 % изолировано.

Дальнейший этап исследования включал генотипирование *E. coli* с продукцией БЛРС, выделенных при первом поступлении в НМИЦ гематологии и в процессе цитостатической терапии. При генотипировании 12 БЛРС-положительных изолятов *E. coli*, выделенных при первом поступлении, не было выявлено генетически родственных изолятов, и коэффициент сходства между ними варьировал от 50 до 75 % (рис. 1).

Далее было проведено генотипирование 27 изолятов *E. coli* с продукцией БЛРС, выделенных в течение 96 дней мониторинга в период цитостатической терапии и пребывания больных в стационаре (рис. 2). В результате анализа определено 16 (59 %) генетически

Таблица 1. Гены β-лактамаз у *Escherichia coli* с продукцией β-лактамаз расширенного спектра ($n = 39$), выделенных со слизистой оболочки кишечника от больных острыми миелоидными лейкозами и лимфомами, в течение 96 дней мониторинга

Table 1. β-lactamase genes among extended spectrum β-lactamases producing *Escherichia coli* ($n = 39$) isolated from gut in patients with acute myeloid leukemia and lymphoma during 96 days

| Гены β-лактамаз β-lactamase genes | n | % |
|---|----|----|
| <i>bla</i> _{TEM} | 6 | 15 |
| <i>bla</i> _{CTX-M} | 16 | 41 |
| <i>bla</i> _{CTX-M} + <i>bla</i> _{TEM} | 10 | 26 |
| Всего <i>bla</i> _{TEM} Total <i>bla</i> _{TEM} | 16 | 41 |
| Всего <i>bla</i> _{CTX-M} Total <i>bla</i> _{CTX-M} | 26 | 67 |
| Не определены <i>bla</i> _{CTX-M} и <i>bla</i> _{TEM} <i>bla</i> _{CTX-M} and <i>bla</i> _{TEM} not detected | 7 | 18 |

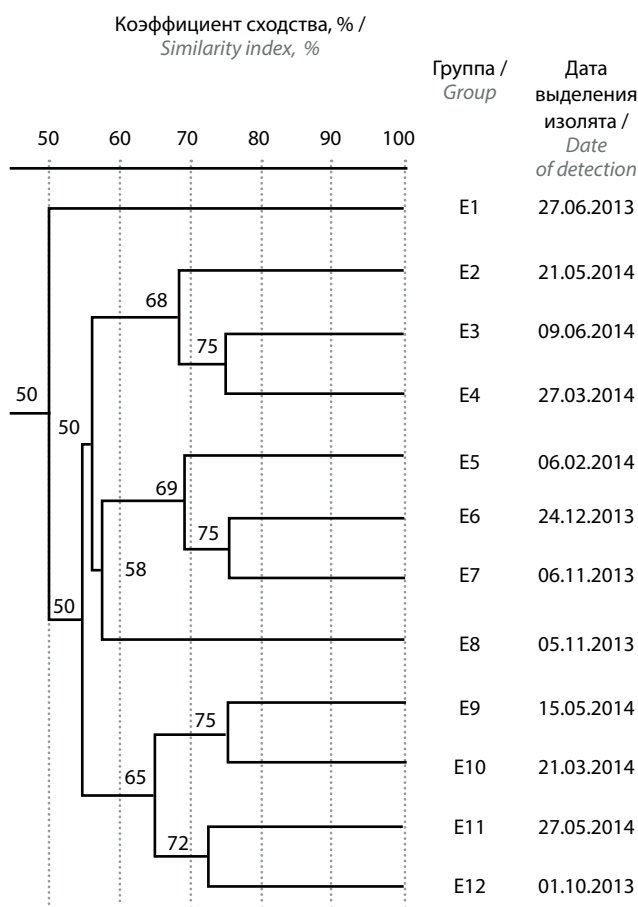


Рис. 1. Результаты генотипирования *Escherichia coli* с продукцией β-лактамаз расширенного спектра ($n = 12$), выделенных при первом поступлении в НМИЦ гематологии. Горизонтальная ось (коэффициент сходства) отражает степень генетического родства изолятов

Fig. 1. The results of genotyping of extended spectrum β-lactamases producing *Escherichia coli* ($n = 12$) detected at admission in National Research Center for Hematology. Horizontal axis (similarity index) revealed the genetic relationship of isolates

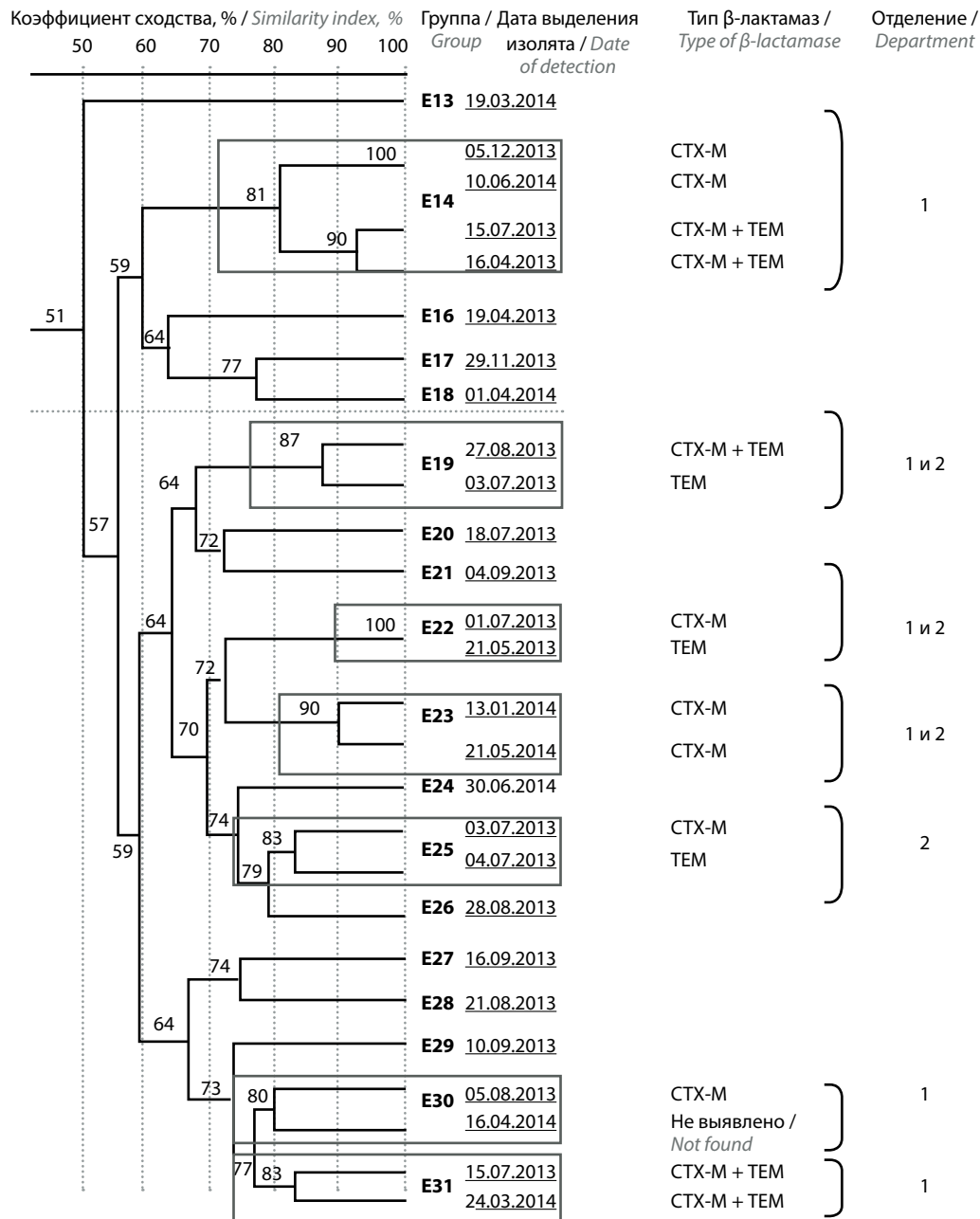


Рис. 2. Результаты генотипирования *Escherichia coli* с продукцией β-лактамаз расширенного спектра ($n = 27$), выделенных при цитостатической терапии в течение 96 дней мониторинга. В прямоугольные рамки обведены изоляты с коэффициентом сходства $\geq 80\%$. Квадратными скобками обозначены отделения, в которых были выделены генетически родственные изоляты. Дискриминирующая способность метода 0,9658

Fig. 2. The results of genotyping of extended spectrum β-lactamases producing *Escherichia coli* ($n = 27$) detected during chemotherapy cycles (96 days of monitoring). Frames mark isolates with similarity index $\geq 80\%$. Square brackets mark departments in which genetically related isolates were detected. Discriminatory power of the method was 0.9658

родственных изолятов, объединенных в 7 групп с коэффициентом сходства $\geq 80\%$, которые содержали от 2 (E19, E22, E23, E25, E30, E31) до 4 (E14) изолятов (табл. 2). Медиана времени от первого поступления больных в НИИЦ гематологии до детекции БЛРС-положительных *E. coli*, входящих в состав генетически родственных групп ($n = 16$), составила 40,5 дня (8–89 дней), генетически неродственных изолятов ($n = 11$) – 38 дней (8–82 дней). Интервал детекции генетически родственных изолятов внутри группы варьировал от 1

дня (E25) до 1 года 2 мес (E14). Изоляты, входящие в генетически родственные группы, были выделены у 12 (67 %) из 18 больных лимфомами и у 4 (44 %) из 9 больных ОМЛ, различия статистически незначимые.

В нашем исследовании генетически родственные *E. coli* с продукцией БЛРС были получены от больных, находившихся на лечении не только в одном отделении, но и в разных, у них были определены как идентичные, так и различные комбинации генов bla_{CTX-M} и bla_{TEM} . Генетически родственные изоляты, входящие

Таблица 2. Генетически родственные изоляты *Escherichia coli* с продукцией β-лактамаз расширенного спектра, выделенные из мазков со слизистой оболочки кишечника в период цитостатической терапии

Table 2. Genetically related extended spectrum β-lactamases producing *Escherichia coli* isolated from gut during chemotherapy cycles

| Группа, включающая генетически родственные изоляты Genetically related group | Число изолятов Number of isolates | Коэффициент сходства, % Similarity index, % |
|---|--------------------------------------|--|
| E14 | 4 | 93–100 |
| E22 | 2 | 100 |
| E23 | 2 | 90 |
| E19 | 2 | 87 |
| E25 | 2 | 83 |
| E31 | 2 | 83 |
| E30 | 2 | 80 |

в состав 4 (57 %) из 7 групп (E14, E25, E30, E31), были выделены от больных, находившихся на лечении в одном отделении, а 3 (43 %) группы (E19, E22, E23) включали изоляты от больных из разных отделений. В 2 (29 %) из 7 групп (E23, E33) у БЛРС-положительных изолятов *E. coli* были определены идентичные детерминанты устойчивости, а в 5 (71 %) группах (E14, E19, E22, E25, E30) были выявлены отличия. В группе E30 один из изолятов имел СТХ-М тип β-лактамаз, а у другого отсутствовали исследуемые гены. Различные комбинации генов β-лактамаз были отмечены в том числе и среди изолятов, имеющих коэффициент сходства 100 %. Так, в группу E22 вошли генетически родственные изоляты с разными генами β-лактамаз, у одного из них были определены гены *bla*_{СТХ-М}, у другого — гены *bla*_{ТЕМ}. Интервал детекции между этими изолятами составил 40 дней.

Обсуждение

Частота колонизации слизистой оболочки кишечника продуцентами БЛРС является вариабельной у разных категорий больных. В данном исследовании у больных гемобластозами частота колонизации слизистой оболочки кишечника БЛРС-положительными *E. coli* составила 16 % при первом поступлении в стационар (до начала цитостатической терапии) и возросла до 53 % в течение 96 дней мониторинга во время цитостатического лечения. Другими исследователями также было зарегистрировано увеличение доли больных с колонизацией энтеробактериями с продукцией БЛРС во время пребывания их в стационаре. Так, исследователями из Испании отмечено увеличение случаев детекции колонизации БЛРС-положительными бактериями с 14,3 % при поступлении до 31,8 % на момент завершения лечения [10].

В нашем исследовании большинство *E. coli* с продукцией БЛРС (67 %) были продуцентами β-лактамаз типа СТХ-М. Преобладание генов *bla*_{СТХ-М} среди энтеробактерий с продукцией БЛРС отмечено в российских [11] и международных [12] исследованиях. Глобальное распространение β-лактамаз типа СТХ-М связано как с распространением эпидемических клонов БЛРС-продуцирующих бактерий, например *E. coli* ST131, так и с горизонтальной передачей детерминант устойчивости между микроорганизмами с помощью мобильных генетических элементов [12].

Интересно отметить, что у 58 % больных с колонизацией слизистой оболочки кишечника БЛРС-положительными *E. coli* в процессе мониторинга происходило добавление других видов продуцентов БЛРС. В исследовании E. Titelman и соавт. при мониторинге колонизации слизистой оболочки кишечника продуцентами БЛРС в течение 12 мес после регистрации инфекционного эпизода появление дополнительных видов БЛРС-положительных бактерий было отмечено у 7 (11 %) из 61 больного, находившегося на лечении в университетском госпитале в Стокгольме [13]. Колонизация слизистой оболочки кишечника несколькими видами продуцентов БЛРС может свидетельствовать как об обмене генами между микроорганизмами, так и о приобретении новых штаммов энтеробактерий с продукцией БЛРС в процессе пребывания больного в стационаре.

Немалое значение в распространении полирезистентных микроорганизмов в стационаре имеет экзогенная передача штаммов от одного больного к другому, и в рамках нашего исследования было проведено изучение генетических характеристик изолятов *E. coli* с продукцией БЛРС, выделенных со слизистой оболочки прямой кишки при первом поступлении больного в стационар и в процессе цитостатической терапии. При генотипировании изолятов, выделенных от больных при первом поступлении в центр, не выявлено генетического сходства между БЛРС-положительными *E. coli*. Отсутствие генетически родственных изолятов БЛРС-положительных *E. coli* свидетельствовало о разных источниках колонизации слизистой оболочки прямой кишки этими микроорганизмами. В то время как среди БЛРС-положительных *E. coli*, выделенных в процессе цитостатической терапии в течение 96 дней мониторинга, было детектировано 59 % генетически родственных изолятов, объединенных в 7 групп. Детекция генетически родственных изолятов была не только от больных, находившихся в одном отделении, но и в разных отделениях, часть изолятов имела разные детерминанты устойчивости.

Возможность передачи полирезистентных изолятов от одного больного к другому во время госпитализации была отмечена и другими исследователями. Так, в многопрофильном стационаре в Швейцарии была проанализирована колонизация продуцентами БЛРС

у 133 больных, находившихся в одной палате с пациентами, имевшими инфекцию или колонизацию БЛРС-положительными бактериями, с медианой совместного пребывания 3 дня (1–37 дней) [14]. Колонизация слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС появилась у 7 (5,3 %) из 133 больных, но из них только 2 изолята были генетически родственны изолятам, выделенным от больных, имевших ранее колонизацию данными бактериями. Таким образом, передача продуцентов БЛРС от одного больного к другому была подтверждена при генотипировании только у 2 (1,5 %) из 133 больных после 8 дней совместного пребывания их в одной палате. Исследователи продемонстрировали возможность передачи изолятов от одного пациента к другому, но в то же время сделали вывод о том, что обмен микроорганизмами между пациентами не является ведущим фактором распространения энтеробактерий с продукцией БЛРС в стационаре. Авторами этого исследования было высказано сомнение о необходимости изоляции пациентов с колонизацией слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС.

Однако следует отметить, что в этой работе медиана времени госпитализации больных была короткой и составила всего 3 дня, и можно предположить, что при увеличении периода госпитализации вероятность обмена бактериями между больными может возрастать. Непрерывное пребывание в стационаре больных гемобластозами, особенно острыми лейкозами, может достигать нескольких месяцев, и по нашим данным, медиана детекции изолятов, входящих в генетически родственные группы, составила 40,5 дня от момента первого поступления больных в стационар. По результатам наших исследований, опубликованным ранее, непрерывное пребывание больного в стационаре (медиана 70 дней) являлось статистически значимым фактором риска колонизации слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией БЛРС ($p = 0,002$) [4]. Вполне определенно, что при длительной, неоднократной госпитализации больных в стационар возрастает риск передачи полирезистентных бактерий от одного больного к другому и создаются условия для обмена генетической информацией между микроорганизмами, колонизирующими слизистую оболочку желудочно-кишечного тракта.

Генетически родственные изоляты энтеробактерий могут обладать разными наборами генов резистентности, расположенных на плаزمиде. В данной работе в 5 (71 %) из 7 генетически родственных групп были определены различные комбинации изучаемых генов bla_{CTX-M} и bla_{TEM} . Наличие разных генов β -лактамаз у генетически родственных энтеробактерий с продукцией БЛРС было отмечено и другими исследователями. Так, в исследовании А. Apisarnthanarak и соавт. было выделено 6 попарно генетически родственных изолятов, из них 2 изолята *K. pneumoniae* имели разные гены резистентности, у одного было сочетание

$bla_{CTX-M-14}$ и bla_{SHV-12} , а у другого — $bla_{CTX-M-15}$ и bla_{SHV-12} [15].

В рекомендациях Европейского общества по клинической микробиологии и инфекционным заболеваниям (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, ESCMID) отражены меры инфекционного контроля, которые необходимо соблюдать при выявлении колонизации слизистой оболочки кишечника разными видами БЛРС-положительных бактерий в случае эндемичной ситуации в стационаре и при эпидемической вспышке [16]. Согласно этим рекомендациям ситуация считается эндемичной, когда не наблюдается существенного увеличения частоты случаев инфекций или колонизации слизистой оболочки кишечника полирезистентными бактериями, а также отсутствует подтверждение о наличии единого источника инфицирования такими микроорганизмами. В этих случаях для предупреждения распространения БЛРС-положительных бактерий необходимо строго соблюдать правила гигиены рук, меры предосторожности при контакте с больными, имеющими колонизацию или инфекцию, вызванную продуцентами БЛРС, осуществлять строгий контроль над назначением антибиотиков. К мерам предосторожности при контакте с носителями энтеробактерий с продукцией БЛРС эксперты ESCMID относят применение одноразовых халатов и перчаток, а также использование одноразовых медицинских предметов, включая манжеты тонометров и стетоскопы.

Для эпидемической вспышки характерно внезапное существенное увеличение числа инфекций, обусловленных полирезистентными бактериями, которые ранее выявляли в конкретном стационаре или их регистрация констатирована впервые. В этих случаях перечень необходимых мер инфекционного контроля существенно расширяется, дополнительно следует проводить мониторинг колонизации полирезистентными бактериями, регистрировать случаи инфекции, вызванные этими бактериями. Для предупреждения распространения полирезистентных микроорганизмов рекомендовано изолировать больных с инфекциями и колонизацией в отдельные палаты, проводить маркировку помещений, где находятся такие пациенты, кроме этого, необходимо выделять отдельный медицинский персонал по уходу за такими больными. Во время эпидемических вспышек необходимо проводить строгий контроль по выполнению мер дезинфекции поверхностей и медицинских предметов [16]. Одной из важных мер инфекционного контроля является обучение медицинского персонала проведению необходимых мероприятий, таких как гигиена рук, меры предосторожности при контакте с больными, регулярная дезинфекция поверхностей и медицинских предметов (тонометры, стетоскопы и др.).

Следует отметить, что в рекомендациях ESCMID изоляция пациентов с колонизацией *E. coli* с продукцией БЛРС предусмотрена только в случае эпидемической

вспышки, вызванной этими бактериями. Результаты проведенных исследований подтверждают оправданность такого подхода. Так, в 2006–2010 гг. был выполнен анализ случаев колонизации и инфекций, вызванных энтеробактериями с продукцией БЛРС, в 2 стационарах Франции [17]. В 1-й период исследования (2006–2008 гг.) в обоих лечебных учреждениях больных с инфекциями или колонизацией слизистой оболочки кишечника, вызванной продуцентами БЛРС, изолировали в отдельные палаты. Во 2-м периоде (2008–2010 гг.) в одном из стационаров пациентов с колонизацией или инфекцией, вызванной БЛРС-положительными *E. coli*, перестали изолировать в отдельные палаты. Частота случаев детекции *E. coli* с продукцией БЛРС была сопоставимой в 1-м и 2-м периодах исследования, а также не было зарегистрировано значимых различий в частоте колонизации слизистых оболочек кишечника у больных в 2 стационарах, в которых применяли разные подходы по изоляции пациентов. Таким образом, по мнению авторов, размещение пациентов в отдельных палатах не вносит значительного вклада в сдерживание распространения *E. coli* с продукцией БЛРС, в то время как необходимость такой изоляции не вызывает сомнений для предотвращения передачи метициллин-устойчивых *Staphylococcus aureus* [18], ванкомицин-устойчивых *Enterococcus* [19] и *K. pneumoniae* с продукцией БЛРС.

Детекция генетически родственных изолятов у больных из разных отделений центра не исключает экзогенную передачу штаммов при участии медицинского персонала или в процессе диагностических исследований. Подтверждением возможности такой передачи было исследование, проведенное в отделении акушерства и гинекологии (г. Париж), в котором описана эпи-

демическая вспышка, вызванная *K. pneumoniae* с продукцией БЛРС [20]. Источником полирезистентных бактерий оказался гель, используемый при проведении ультразвукового исследования. В этом исследовании генетически родственными были 8 БЛРС-положительных *K. pneumoniae*, выделенных из клинических образцов от больных, и 1 изолят, выделенный из геля, который использовали для ультразвуковых исследований. В нашем исследовании в 3 (43 %) из 7 генетически родственных групп вошли изоляты, выделенные от больных, находившихся на лечении в разных отделениях центра, что не исключало наличие экзогенного источника инфицирования.

Заключение

Результаты молекулярно-генетического исследования изолятов *E. coli* с продукцией БЛРС, выделенных со слизистой оболочки кишечника, продемонстрировали отсутствие генетического родства между изолятами, выделенными при первом поступлении в стационар и наличие генетического сходства у 59 % изолятов, выделенных в процессе цитостатической терапии и пребывания больных в стационаре. Генетически родственные изоляты, колонизирующие слизистую оболочку кишечника, были выделены не только от больных, находившихся в одном отделении, но и в разных отделениях центра, и характеризовались наличием как идентичных, так и разных детерминант устойчивости. Исследование доказало возможность экзогенной передачи штаммов от одного больного к другому во время их пребывания в стационаре. Это подтверждает необходимость соблюдения санитарно-гигиенических мероприятий, особенно среди больных, длительно пребывающих в стационаре.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

1. Клясова Г.А., Охмат В.А. Антимикробная терапия. В кн.: Алгоритмы диагностики и протоколы лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2018. С. 1067–1113. [Klyasova G.A., Okhmat V.A. Antimicrobial therapy. In: Algorithms of diagnosing and treatment protocols of blood system diseases. Ed. V. G. Savchenko. Moscow: Praktika, 2018. Pp. 1069–1113. (In Russ.)].
2. Biehl L.M., Schmidt-Hieber M., Liss B. et al. Colonization and infection with extended spectrum beta-lactamase producing Enterobacteriaceae in high-risk patients – Review of the literature from a clinical perspective. *Crit Rev Microbiol* 2016;42(1):1–16. DOI: 10.3109/1040841X.2013.875515. PMID: 24495097.
3. Охмат В.А., Клясова Г.А., Коробова А.Г. и др. Следует ли назначать карбапенемы всем больным с фебрильной нейтропенией и колонизацией энтеробактериями с продукцией β-лактамаз расширенного спектра? Онкогематология 2016;11(3):49–57. DOI: 10.17650/1818-8346-2016-11-3-49-57. [Okhmat V.A., Klyasova G.A., Korobova A.G. et al. Should to all patients with febrile neutropenia and colonization with extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae carbapenems be appointed? *Onkogematologiya = Oncohematology* 2016;11(3):49–57. (In Russ.)].
4. Коробова А.Г., Клясова Г.А., Охмат В.А. и др. Колонизация слизистой оболочки кишечника энтеробактериями с продукцией β-лактамаз расширенного спектра при лечении острых миелоидных лейкозов и лимфом. *Гематология и трансфузиология* 2017;62(3):116–23. DOI: 10.18821/0234-5730-2017-62-3-116-123. [Korobova A.G., Klyasova G.A., Okhmat V.A. et al. Intestinal colonization with extended-spectrum β-lactamase producing Enterobacteriaceae in patients with acute myeloid leukaemia and lymphoma. *Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology* 2017;62(3):116–23. (In Russ.)].
5. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (Методические указания МУК 4.21890–04). Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия 2004;6:306–59. [Guidelines for Susceptibility testing of microorganisms to antibacterial agents. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial*

- Chemotherapy 2004;6:306–59. (In Russ.).]
- Versalovic J., Koeuth T., Lupski J.R. Distribution of repetitive DNA sequences in eubacteria and application to fingerprinting of bacterial genomes. *Nucleic Acids Res* 1991;19(24):6823–31. PMID: 1762913.
 - Heras J., Domínguez C., Mata E. et al. GelJ – a tool for analyzing DNA fingerprint gel images. *BMC Bioinformatics* 2015;16:270. DOI: 10.1186/s12859-015-0703-0. PMID: 26307353.
 - Hunter P.R., Gaston M.A. Numerical index of the discriminatory ability of typing systems: an application of Simpson's index of diversity. *J Clin Microbiol* 1988;26(11):2465–6. PMID: 3069867.
 - Программное лечение заболеваний системы крови: Сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2012. 1056 с. [Program treatment of blood system diseases. Collection of diagnostic algorithms and treatment protocols of blood system diseases. Ed. V. G. Savchenko. Moscow: Praktika, 2012. 1056 p. (In Russ.).]
 - Calatayud L., Arnan M., Liñares J. et al. Prospective study of fecal colonization by extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* in neutropenic patients with cancer. *Antimicrob Agents Chemother* 2008;52(11):4187–90. DOI: 10.1128/AAC.00367–08. PMID: 18809942.
 - Прямчук С.Д., Фурсова Н.К., Абаев И.В. и др. Генетические детерминанты устойчивости к антибактериальным средствам в нозокомиальных штаммах *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.* и *Enterobacter spp.*, выделенных в России в 2003–2007 гг. *Антибиотики и химиотерапия* 2010;55(9–10):3–10. [Pryamchuk S.D., Fursova N.K., Abaev I.V. et al. Genetic determinants of antibacterial resistance among nosocomial *Escherichia coli*, *Klebsiella spp.*, and *Enterobacter spp.* Isolates collected in Russia within 2003–2007. *Antibiotiki i khimioterapiya = Antibiotics and Chemotherapy* 2010;55(9–10):3–10. (In Russ.).]
 - Bevan E.R., Jones A.M., Hawkey P.M. Global epidemiology of CTX-M β -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. *J Antimicrob Chemother* 2017;72(8):2145–55. DOI: 10.1093/jac/dkx146. PMID: 28541467.
 - Titelman E., Hasan C.M., Iversen A. et al. Faecal carriage of extended-spectrum β -lactamase-producing *Enterobacteriaceae* is common 12 months after infection and is related to strain factor. *Clinical Microbiol Infect* 2014;20(8):O508–15. DOI: 10.1111/1469-0691.12559. PMID: 24450760.
 - Tschudin-Sutter S., Frei R., Dangel M. et al. Rate of transmission of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae* without contact isolation. *Clin Infect Dis* 2012;55(11):1505–11. DOI: 10.1093/cid/cis770. PMID: 22955436.
 - Apisarnthanarak A., Kiratisin P., Mundy L.M. Clinical and molecular epidemiology of healthcare-associated infections due to extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) – producing strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* that harbor multiple ESBL genes. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2008;29(11):1026–34. DOI: 10.1086/591864. PMID: 18947321.
 - Tacconelli E., Cataldo M.A., Dancer S.J. et al. ESCMID guidelines for the management of the infection control measures to reduce transmission of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients. *Clin Microbiol Infect* 2014;20(Suppl. 1):1–55. DOI: 10.1111/1469-0691.12427. PMID: 24329732.
 - Zahar J.R., Poirel L., Dupont C. et al. About the usefulness of contact precautions for carriers of extended spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli*. *BMC Infect Dis* 2015;15:512. DOI: 10.1186/s12879-015-1244-x. PMID: 26563141.
 - Jarlier V., Trystram D., Brun-Buisson C. et al. Curbing methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 French hospitals through a 15-year institutional control program. *Arch Intern Med* 2010;170(6):552–9. DOI: 10.1001/archinternmed.2010.32. PMID: 20308642.
 - Aumeran C., Baud O., Lesens O. et al. Successful control of a hospital-wide vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* outbreak in France. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis* 2008;27(11):1061–4. DOI: 10.1007/s10096-008-0544-0. PMID: 18612668.
 - Gaillot O., Maruéjols C., Abachin É. et al. Nosocomial outbreak of *Klebsiella pneumoniae* producing SHV-5 extended-spectrum β -lactamase, originating from a contaminated ultrasonography coupling gel. *J Clin Microbiol* 1998;36(95):1357–60. PMID: 9574705.

Вклад авторов

А.Г. Коробова: разработка концепции исследования, сбор и обработка данных, выполнение молекулярных исследований, анализ и интерпретация результатов, дизайн и написание текста статьи;
 С.А. Хрульнова: разработка концепции исследования, выполнение молекулярных исследований, анализ и интерпретация результатов, участие в написании текста статьи;
 К.С. Тандилова: сбор данных, участие в написании текста статьи;
 А.А. Новикова: сбор и обработка данных;
 Г.А. Клясова: разработка концепции исследования, дизайн и написание текста статьи, анализ и интерпретация результатов, окончательное одобрение рукописи.

Authors' contributions

A.G. Korobova: concept, data collection, molecular testing, analysis and interpretation of results, design and article writing;
 S.A. Khrulnova: concept, molecular testing, analysis and interpretation of results, participating in article writing;
 K.S. Tandilova: data collection, participating in article writing;
 A.A. Novikova: data collection;
 G.A. Klyasova: concept, design and article writing, analysis and interpretation of results, final approval of the article.

ORCID авторов/ORCID of authors

А.Г. Коробова/A.G. Korobova: <http://orcid.org/0000-0002-6268-5282>
 С.А. Хрульнова/S.A. Khrulnova: <http://orcid.org/0000-0002-1127-3333>
 К.С. Тандилова/K.S. Tandilova: <http://orcid.org/0000-0003-3414-9316>
 А.А. Новикова/A.A. Novikova: <http://orcid.org/0000-0001-5339-2675>
 Г.А. Клясова/G.A. Klyasova: <http://orcid.org/0000-0001-5973-5763>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Исследование проведено без спонсорской поддержки.

Financing. The study was performed without external funding.

Информированное согласие. Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Informed consent. All patients gave written informed consent to participate in the study.

Статья поступила: 20.12.2018. **Принята к публикации:** 25.01.2019.

Article received: 20.12.2018. **Accepted for publication:** 25.01.2019.