

Информационный бюллетень

Для врачей-бактериологов
центров гигиены и
эпидемиологии,
клинических больниц

В рамках выполнения задания «Разработать и внедрить алгоритм определения генов резистентности клинически значимых грамотрицательных бактерий и установить частоту выявления генов бета-лактамаз различных молекулярных классов» подпрограммы «Инфекции и биологическая безопасность» ГНТП «Новые методы оказания медицинской помощи» в РНПЦ эпидемиологии и микробиологии проведены научные исследования по определению ассоциированной устойчивости грамотрицательных бактерий (*P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*) к антибиотикам различных классов и получены данные о распространенности генов сериновых карбапенемаз среди карбапенем-нечувствительных штаммов грамотрицательных бактерий.

В связи с повышением доступности медицинской помощи, а также всё более широким внедрением в практику здравоохранения новых методов диагностики и лечения (в том числе, инвазивных), особое значение приобретают инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП).

ИСМП чаще наблюдается в стационарах хирургического профиля и в отделении реанимации интенсивной терапии (ОРИТ), которое считается отделением повышенного риска. Это связано с рядом особенностей, характерных для данных пациентов, таких как наличие ран, парентеральное питание, применение катетеров, интубационных трубок, дренажей, аппаратов искусственной вентиляции легких и т.д.

Одними из наиболее распространённых возбудителей ИСМП являются условно-патогенные микроорганизмы. При этом, значимая роль в этиологии инфекционных заболеваний в целом, и ИСМП в частности, принадлежит

грамотрицательным микроорганизмам - представителям семейства *Enterobacteriaceae* (в частности, *Klebsiella pneumoniae*) и группы неферментирующих глюкозу бактерий, включая *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*.

В 2017 г. Всемирной организацией здравоохранения был составлен и опубликован список приоритетных патогенов, в котором перечислены группы микроорганизмов, для борьбы с которыми на сегодняшний день практически не существует средств. Согласно этому списку, к группе с максимальным приоритетом относятся три группы микроорганизмов – карбапенем-резистентные *Acinetobacter baumannii*, карбапенем-резистентные *Pseudomonas aeruginosa*, а также карбапенем-резистентные и продуцирующие β -лактамазы расширенного спектра (БЛРС) *Enterobacteriaceae*.

A. baumannii может являться причиной инфекций дыхательных путей, кровотока, мочевыводящих путей, раневой и хирургической инфекций, инфекций кожи и мягких тканей. Ацинетобактерии продуцируют β -лактамазы, аминогликозидазы, тетрациклиназы, хинолоназы, активируют эффлюксные механизмы, осуществляют модификацию мишени макролидов путем рибосомального метилирования рРНК.

Инфекции, обусловленные *Pseudomonas aeruginosa*, характеризуются широким разнообразием клинических проявлений от местных раневых процессов до тяжёлых случаев системной инфекции. *P. aeruginosa* характеризуется наличием низкопроницаемой наружной оболочки, а также множественных транспортных систем, обуславливающих широкую природную резистентность микроорганизма к антимикробным средствам. Помимо природной резистентности, одной из основных отличительных черт синегнойной палочки является способность к быстрому развитию приобретённой резистентности практически ко всем известным антибиотикам.

Klebsiella pneumoniae - условно-патогенный микроорганизм, который является частой причиной инфекций мочевыводящих, дыхательных путей, ран и кровотока, особенно у пациентов с тяжёлыми сопутствующими заболеваниями. Среди карбапенемаз, продуцируемых *K. pneumoniae*, широкое распространение имеют карбапенемазы классов KPC и OXA-48, а также металло- β -лактамазы (IMP, VIM и NDM). Штаммы, синтезирующие ферменты вышеперечисленных классов, способны разрушать практически все известные β -лактамные антибиотики, в том числе пенициллины, цефалоспорины, карбапенемы и монобактамы.

Своевременное выявление изменений в распространении бета-лактамаз имеет важное практическое и теоретическое значение, так как позволяет корректировать рекомендации по антибактериальной терапии нозокомиальных инфекций, разрабатывать экспрессные молекулярные методы детекции антибактериальной резистентности, дает важную информацию для создания новых препаратов, преодолевающих резистентность.

Продукция бета-лактамаз находится под контролем хромосомных или плазмидных генов, и их выработка может быть индуцирована антибиотиками. Гены, кодирующие резистентность к антибиотикам, возникают в результате мутаций либо передаются/распространяются в популяциях микробов посредством горизонтального переноса генов, т.е. механизмами генетических рекомбинаций. Наибольшую проблему вызывают карбапенемазы - группа ферментов, которая инактивирует бета-лактамные антибиотики. На основании структуры активного центра карбапенемазы делят на две группы:

- сериновые - содержащие серин в своем активном центре. К ним относятся бета-лактамазы KPC класса A и оксациллиназы класса D.
- металло- β -лактамазы, содержащие в активном центре атом цинка (молекулярный класс B).

Наиболее значимым из известных механизмов резистентности к карбапенемам является продукция приобретённых карбапенем-гидролизующих бета-лактамаз класса D: ОХА-23-подобных, ОХА-40- и ОХА-58- подобных карбапенемаз.

В настоящее время детекция антибиотикорезистентности и продукции бета-лактамаз основана на микробиологических методах, таких как диско-диффузионный, метод серийных разведений в бульоне, метод двух дисков, а также с применением различных коммерческих тестов, основанных на ферментативных колориметрических реакциях. Указанные традиционные микробиологические методы дают фенотипическую характеристику микроорганизма. При этом нельзя оценить механизмы формирования и распространения антимикробной резистентности. Также фенотипические методы являются слишком вариабельными и медленными для успешного применения в эпидемиологической практике.

Ввиду этого одним из перспективных направлений в изучении и диагностики молекулярных механизмов антибиотикоустойчивости является использование молекулярно-генетических подходов.

В 2020 году в Республиканский референс-центр мониторинга резистентности к антибиотикам поступило 240 штаммов микроорганизмов (*P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*), резистентных к нескольким классам антибиотиков, из различных областей РБ выделенных от взрослых пациентов хирургических отделений и отделений реанимации.

Анализ полученных культур микроорганизмов показал, что наибольшее количество изолятов было выделено от пациентов с раневой инфекцией (58,3%).

Было проведено определение ассоциированной устойчивости изученных грамотрицательных бактерий к антибиотикам различных классов для выявления штаммов с фенотипом множественной (MDR) и экстремальной (XDR) устойчивости. Множественная лекарственная устойчивость (MDR) определяется как резистентность к ≥ 1 агенту в ≥ 3

противомикробных категориях; экстремальная лекарственная устойчивость (XDR) - резистентность к ≥ 1 препарату во всех классах антибиотиков кроме 1-2 категорий.

Экстремально резистентные бактерии являются эпидемиологически значимыми не только из-за их устойчивости к множественным противомикробным препаратам, но также из-за вероятности их устойчивости ко всем или почти всем одобренным антимикробным агентам.

Множественная лекарственная устойчивость бактерий обусловлена функционированием в микробной клетке нескольких молекулярных механизмов, а также тем, что гены антибиотикорезистентности включены в состав высоко мобильных интегронов, способных быстро распространяться между бактериями с помощью плазмид и транспозонов.

Штаммы *K. pneumoniae* с фенотипом множественная устойчивость составили большую часть выделенных культур – 98,7%, включая 81,4% экстремально резистентных штаммов.

Псевдомонады характеризовались большим разнообразием спектров антибиотикорезистентности. В нашем исследовании множественной устойчивостью обладали 92,1% изолятов, а экстремальной – 54%.

Нечувствительность *A. baumannii* к трем и более классам антибиотиков была выявлена у 98,9% штаммов, из них 81,3% обладали экстремальной устойчивостью.

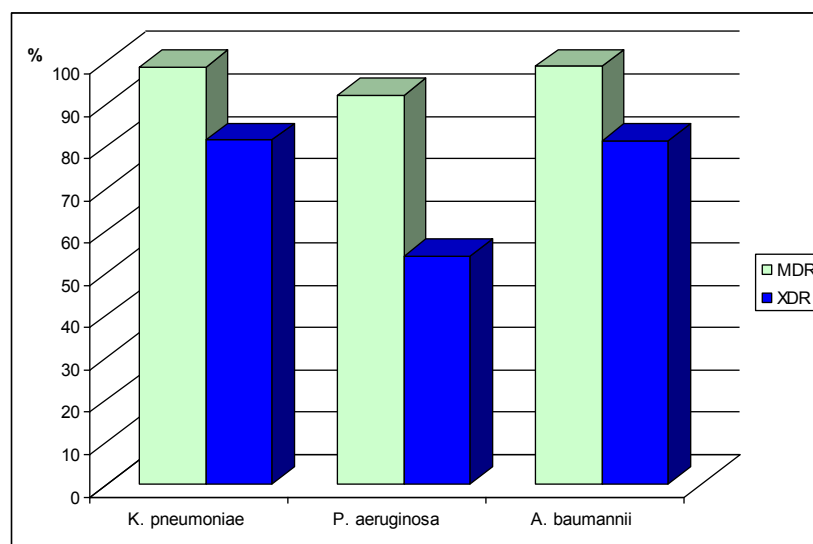


Рисунок – Частота выявления штаммов с фенотипом множественной (MDR) и экстремальной (XDR) устойчивости среди микроорганизмов резистентных к антибиотикам

В 2016 году была предложена классификация, определяющая трудные для лечения (DTR) штаммы - резистентные к ≥ 1 карбапенемам, ≥ 1 цефалоспорином и ≥ 1 фторхинолонам. Определение группы штаммов трудных для лечения указывает на их невосприимчивость ко всем препаратам первого ряда, что имеет важное клиническое значение, так как указывает на отсутствие высокоэффективных и малотоксичных вариантов лечения. Штаммы *A. baumannii* обладают значительно более низкой природной чувствительностью к большинству бета-лактамовых антибиотиков, включая пенициллины и цефалоспорины, по сравнению с представителями семейства *Enterobacteriaceae*. В связи с этим для лечения инфекций, вызванных данными возбудителями, обычно используются карбапенемы.

Результаты проведенного исследования свидетельствуют о том, что 100% исследованных резистентных к различным классам антибиотиков штаммов *A. baumannii* относятся к категории трудно поддающихся лечению.

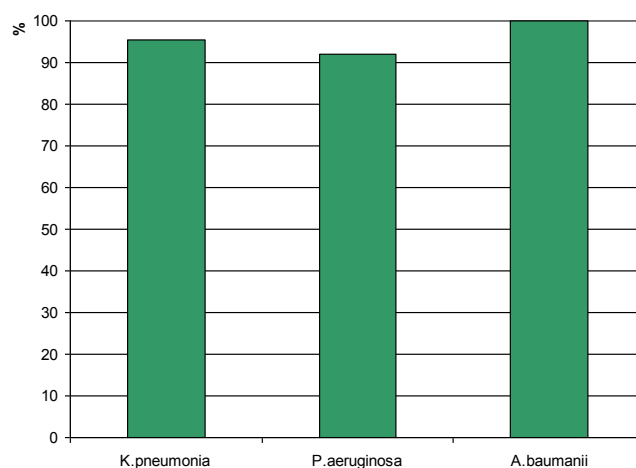


Рисунок - Частота выявления трудных для лечения штаммов грамотрицательных бактерий среди микроорганизмов резистентных к антибиотикам

Было проведено определение частоты выявления генов сериновых карбапенемаз в изолятах *P. aeruginosa*, *A. baumannii*, *K. pneumoniae*.

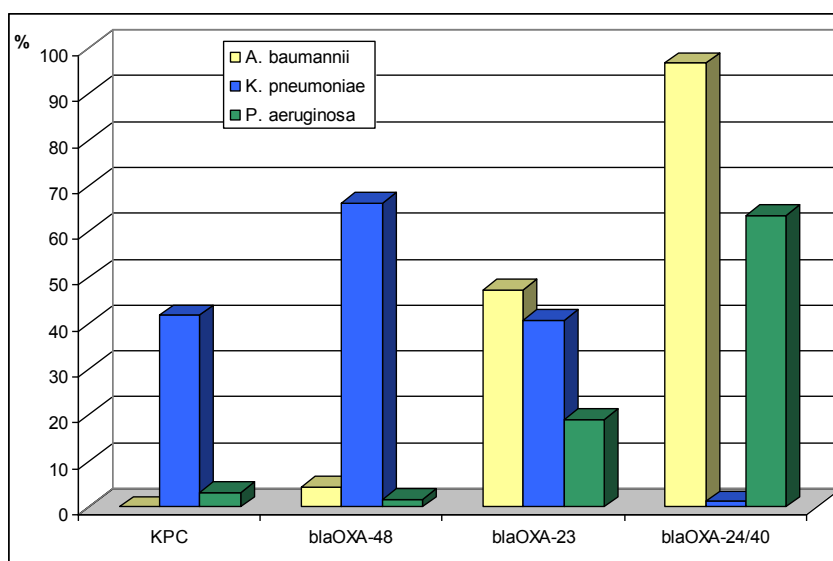


Рисунок – Частота встречаемости генов сериновых карбапенемаз среди штаммов грамотрицательных бактерий резистентных к антибиотикам

Показано, что:

- Основным механизмом, наделяющим исследованные изоляты *A. baumannii* устойчивостью к карбапенемам, является карбапенемаза OXA-24/40.

- Основным механизмом устойчивости к карбапенемам у клебсиелл является продукция карбапенемазы ОХА-48. Ее носителями были около 66,3% исследованных штаммов, в основном в сочетании с карбапенемазами других типов.

- Выявлено расширение спектра карбапенемаз у *P. aeruginosa*, а именно, детекция генов КРС и ОХА-48.

Таким образом, представленные данные указывают на необходимость проведения мониторинга АР как в части диагностики и лечения пациентов с ИСМП, так и в части предотвращения распространения возбудителей в окружающей среде.