

УДК [616-022.7:579.84]-085.33:616-006

## КОЛОНИЗАЦИЯ ACINETOBACTER BAUMANNII – ПРОДУЦЕНТА ОХА-КАРБАПЕНЕМАЗ СЛИЗИСТОЙ ОБОЛОЧКИ РОТОГЛОТКИ И ПРЯМОЙ КИШКИ СРЕДИ ПАЦИЕНТОВ ОНКОЛОГИЧЕСКОГО СТАЦИОНАРА

<sup>1</sup>Кит О.И., <sup>1</sup>Маслов А.А., <sup>1</sup>Зыкова Т.А., <sup>2</sup>Савочкина Ю.А.,  
<sup>1</sup>Туманян С.В., <sup>1</sup>Богомолова О.А., <sup>1</sup>Шульга А.В.

<sup>1</sup>Ростовский научно-исследовательский онкологический институт Министерства здравоохранения Российской Федерации, Ростов-на-Дону, e-mail: tatiana2904@yandex.ru;

<sup>2</sup>ФБУН «Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии» Роспотребнадзора, Москва, e-mail: savochkina@pcr.ru

В работе представлены результаты исследований клинического материала (мазки со слизистой ротоглотки и прямой кишки), взятого в первые сутки поступления в онкологический стационар. Определяли наличие ДНК *A. baumannii* и генов ОХА-карбапенемаз (ОХА-51, ОХА-23, ОХА-40, ОХА-58). Установлен высокий уровень колонизации пациентов онкологического стационара *A. baumannii* (20,0%), в том числе несущими генетические детерминанты резистентности к карбапенемам (35,9%). Установлены различия в уровне колонизации слизистой ротоглотки (12,2%) и прямой кишки (8,0%), а также уровнем колонизации пациентов с различной локализацией опухолевого процесса. Прямое определение ДНК *A. baumannii* и генов ОХА-карбапенемаз в клиническом материале с использованием метода ПЦР в реальном времени может быть рекомендовано для определения тактики эмпирической терапии.

**Ключевые слова:** *A. baumannii*, карбапенемазы, колонизация слизистых оболочек, гены резистентности, ПЦР в реальном времени

## COLONIZATION WITH ACINETOBACTER BAUMANNII – PRODUCING OXA-CARBAPENEMASES IN OROPHARYNGEAL MUCOSA AND RECTUM OF PATIENTS IN CANCER HOSPITAL

<sup>1</sup>Kit O.I., <sup>1</sup>Maslov A.A., <sup>1</sup>Zykova T.A., <sup>2</sup>Savochkina Yu.A.,  
<sup>1</sup>Tumanyan S.V., <sup>1</sup>Bogomolova O.A., <sup>1</sup>Shulga A.V.

<sup>1</sup>Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, e-mail: tatiana2904@yandex.ru;

<sup>2</sup>Central Research Institute of Epidemiology, Moscow, e-mail: savochkina@pcr.ru

The article presents the results of a study of the clinical material (oropharyngeal and rectal swabs) obtained on the first day of admission to a cancer hospital. *A. baumannii* DNAs and OXA-carbapenemase (OXA-51, OXA-23, OXA-40 and OXA-58) genes were detected. A high level of colonization of the patients with *A. baumannii* was found (20.0%), including the ones carrying genetic determinants of carbapenem resistance (35.9%). Differences were found between colonization levels in the oropharyngeal mucosa (12.2%) and rectal mucosa (8.0%), as well as between colonization levels in patients with various tumor locations. The direct detection of *A. baumannii* DNAs and OXA-carbapenemase genes in the clinical material using Real-Time PCR can be recommended for determination of the empirical therapy tactics.

**Keywords:** *A. baumannii*, carbapenemases, mucosal colonization, resistance genes, Real-Time PCR

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи, выявляют у 5-10% пациентов, находящихся в стационаре [1]. И, если ранее, наиболее частыми возбудителями нозокомиальных инфекций (НИ) были грамположительные бактерии, то в последние десятилетия в их структуре преобладают грамотрицательные микроорганизмы. В этой ситуации особую тревогу вызывает неуклонный рост числа НИ, вызванных неферментирующими грамотрицательными микроорганизмами, в том числе бактериями рода *Acinetobacter*. В Европе и США *A. baumannii* является этиологическим агентом 2-10% всех грамотрицательных инфекций [2] и до 1% всех НИ [3]. В 2006-2008 гг. *A. baumannii*

в России был третьим по частоте (15,3%) грамотрицательным возбудителем НИ [4], а по результатам многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН России в 2011-2012 гг. этот возбудитель составил 13,9% из всех выделенных бактериальных возбудителей [5].

По данным ряда авторов в стационарах городов России *A. baumannii* достигает 15,5-39,8% в спектре грамотрицательных возбудителей [6,7]. В многопрофильных стационарах Санкт-Петербурга доля карбапенемустойчивых штаммов *A. baumannii* в 2010-2014 гг. составила 41,4% к меропенему, 47,5% к имипенему и 34,3% к меропенему и имипенему [8]. Среди возбудителей раневой ожоговой инфекции к бактериям рода

*Acinetobacter* принадлежало 13,3% микроорганизмов [9]. По данным РОНЦ им. Н.Н. Блохина частота выделения *A. baumannii* в общей структуре микроорганизмов возросла от 2,5% в 2005г до 9,7% в 2010 г. [10].

Особую тревогу вызывает быстрое распространение практически во всех странах мультирезистентных штаммов *A. baumannii*, что значительно ухудшает результаты и сокращает возможности лечения инфекций, вызванных этим возбудителем. В РОНЦ им. Н.Н. Блохина в 2010 г. PDR штаммы *A. baumannii* были выделены в 40,7% случаев [10].

Наиболее эффективным и эпидемиологически значимым механизмом резистентности у нозокомиальных штаммов *A. baumannii* является продукция приобретенных карбапенем-гидролизующих  $\beta$ -лактамаз класса D (CHDL): OXA-23, OXA-40, OXA-58-подобных, а также металло- $\beta$ -лактамаз, таких как INB и VIM. Распространенность этих ферментов в разных странах существенно отличается [11]. Продукция карбапенемаз в России в настоящее время отмечается у 44% госпитальных изолятов *A. baumannii*. Особое опасение вызывает стремительное распространение на всей территории России штаммов *A. baumannii*, продуцирующих карбапенемазы группы OXA-24/40, доля которых в 2011-2012гг составила 35,7% [5]. OXA-продуцирующие *A. baumannii* были получены из Иркутска (OXA-23), Новосибирска (OXA-58), Москвы (OXA-23 и 58) [11]. Преимущественная циркуляция OXA-40-подобных карбапенемаз (85,2%) была отмечена в Минске [12] и Ростове-на-Дону [13]. В последнем случае OXA-40 карбапенемазы преобладали среди онкологических больных [14, 15]. *A. baumannii* был выделен у 27-37% пациентов, 78% выделенных культур были карбапенемрезистентными, доминировала карбапенемаза OXA-40 (97%) [16]. Было показано, что колонизация слизистых оболочек верхних дыхательных путей возбудителями госпитальных инфекций у детей с тяжелой черепно-мозговой травмой, находящихся в ОРИТ происходила после 4 дня госпитализации [16].

В свете изложенного нам представилось интересным изучить наличие колонизации *A. baumannii* пациентов с онкологической патологией еще до поступления в стационар, ведь *A. baumannii* является фактором, оказывающим влияние на исход заболевания [12, 17]. Клиническими факторами риска колонизации и/или инфицирования карбапенемрезистентными *A. baumannii* являются предшествующая терапия, включая глюкокортикостероиды, «антисинегной-

ные» карбапенемы, проведение ИВЛ, выполнение катетеризации центральной и/или периферической вены и мочевыводящих путей, госпитализация в ОРИТ [12], а все эти факторы присутствуют у пациентов онкологических стационаров.

**Целью настоящего исследования является** изучение частоты колонизации слизистой оболочки кишечника и ротоглотки *A. baumannii*, продуцирующими OXA-карбапенемазы, среди больных с солидными опухолями.

#### Материалы и методы исследования

Исследование проводили среди больных, госпитализированных в клинику ФГБУ «РНИОИ» Минздрава России в период с июля по август 2015 г. Исследовали мазки со слизистой оболочки ротоглотки и прямой кишки, полученные в первые сутки нахождения в стационаре (до проведения оперативного вмешательства).

Мазки отбирали в специальную транспортную среду, представляющую собой раствор фосфатного буфера с добавлением консерванта.

ДНК выделяли методом сорбции на частицах силики. Выявление генов OXA-карбапенемаз (групп OXA-23 OXA-58 и OXA-40) и видоспецифических  $\beta$ -лактамаз *A. baumannii* (ген OXA-51), генов металло- $\beta$ -лактамаз групп VIM, IMP, NDM осуществляли методом мультиплексной полимеразной цепной реакции (ПЦР) с гибридизационно-флуоресцентной детекцией продуктов амплификации в режиме «реального времени». Использовали наборы реагентов, разработанные в ФБУН ЦНИИЭ.

Всего было обследовано 230 пациентов, исследовано 368 образцов, в том числе 230 мазков из ротоглотки и 138 из прямой кишки.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Молекулярный маркер *A. baumannii* (ген OXA-51) был обнаружен у 39 (20,0%) больных, в том числе у 28 (12,2%) в мазках со слизистой ротоглотки, 11 (8,0%) в мазках со слизистой прямой кишки. Ни у одного больного ген OXA-51 не был обнаружен в двух локусах.

Различные гены OXA-карбапенемаз были выявлены у 14 больных (6,1% из числа обследованных и 35,9% из колонизированных *A. baumannii*), в том числе в мазках из зева у 13 (5,7% из обследованных и 46,4% из колонизированных *A. baumannii*), в ректальных мазках у одного (0,7% из обследованных и 25,6% из от колонизированных *A. baumannii*). Гены металло- $\beta$ -лактамаз групп VIM, IMP, NDM не были обнаружены ни в одном случае.

В проведенном ранее исследовании было показано, что в этиологической структуре пневмоний у онкологических больных преобладали *A. baumannii* (45,8% от всех грамотрицательных возбудителей). Аб-

солютное большинство из них имели ген ОХА-40-подобных карбапенемаз [18]. Эти данные полностью коррелируют с полученной в настоящем исследовании информации о преимущественной колонизации *A. baumannii*, несущими генетические детерминанты резистентности к карбапенемам (ОХА-40), слизистой ротоглотки по сравнению со слизистой прямой кишки.

Чрезвычайно интересным представляется тот факт, что ДНК ОХА-карбапенемаз была обнаружена не только в образцах с молекулярным маркером *A. baumannii* (ОХА-51), но и в образцах без него. Ранее нами было показано обнаружение гена ОХА-40 в изоляте *A. townneri*, выделенном из внешней среды стационара [13]. Можно предположить, что штаммы *Acinetobacter spp.*, циркулирующие во внешней среде, служат резервуаром генов ОХА-карбапенемаз. В этом случае, *Acinetobacter spp.*, несущие гены ОХА-карбапенемаз, при определенных условиях и реализации горизонтального переноса генов карбапенемаз, могут стать источником эпидемического неблагополучия в стационаре.

В целом, с учетом всех образцов клинического материала, имеющих ген ОХА-51 и без него, различные генетические детерминанты резистентности (ОХА-23, ОХА-40 или ОХА-58) были обнаружены у 50 больных (21,7% от числа обследованных). В ма-

териале из ротоглотки гены ОХА-карбапенемаз были обнаружены у 37 из 230 больных (16,1%), в ректальных мазках у 10 из 138 (7,2%), одновременно в ротоглотке и прямой кишке у 3 (2,2%). Менее 1% больных были носителями двух генов одновременно (ОХА-40 и 58). Всего с учетом *mixt* ген карбапенемазы ОХА-23 был обнаружен у 5 пациентов (2,2%), ОХА-40 у 22 пациентов (9,6%), ген ОХА-58 у 25 пациентов (10,9%). Таким образом, гены ОХА-40 и ОХА-58 были распространены среди поступающих на оперативное лечение пациентов одинаково часто. При исследовании культур *A. baumannii*, изолированных из клинического материала при возникновении инфекционных осложнений, так же преимущественно был обнаружен ген ОХА-40 карбапенемаз [14].

При анализе частоты выявления ОХА-карбапенемаз среди больных с различной локализацией опухолевого процесса было установлено, что ОХА-40 чаще выявлялись при абдоминальной патологии (14,9%), ОХА-58 при патологии мягких тканей/молочной железы (12,5%) и женских репродуктивных органов (22,7%). При этом было отмечено, что ОХА-58 чаще были обнаружены в образцах без молекулярного маркера *A. baumannii*, а ОХА-40 – с ним. Пока неясно, имеют ли эти данные клиническое значение или являются отражением эпидемической ситуации в конкретном стационаре.

Таблица 1

Частота выявления генов ОХА-карбапенемаз *A. baumannii* (ОХА-51+) в различных локусах

Гены ОХА-карбапенемаз	Мазки из ротоглотки			Ректальные мазки			Всего больных		
	Абс.	% от обследованных (n = 230)	% от <i>A. baumannii</i> (n = 28)	Абс.	% от обследованных (n = 138)	% от <i>A. baumannii</i> (n = 11)	Абс.	% от обследованных (n = 230)	% от <i>A. baumannii</i> (n = 39)
ОХА-23	2	0,9	7,1	0	0,0	0,0	2	0,9	5,1
ОХА-40	7	3,0	25,0	1	0,7	9,1	8	3,5	20,5
ОХА-58	4	1,7	14,3	0	0,0	0,0	4	1,7	10,3
Всего	13	5,7	46,4	1	0,7	9,1	14	6,1	35,9

Таблица 2

Частота выявления генов ОХА-карбапенемаз *Acinetobacter spp.* у онкологических больных

Гены ОХА-карбапенемаз	Мазки из зева (n = 230)		Ректальные мазки (n = 138)		Оба локуса (n = 138)		Всего больных (n = 230)	
	абс	%	абс	%	абс	%	абс	%
ОХА-23	4	1,7	0	0	0	0	4	1,7
ОХА-40	18	7,8	2	1,4	1	0,7	21	9,1
ОХА-58	13	5,7	8	5,8	2	1,4	23	10,0
ОХА40+58	1	0,43	0	0	0	0	1	0,4
ОХА23+58	1	0,43	0	0	0	0	1	0,4
Всего	37	16,1	10	7,2	3	2,2	50	21,7

При дальнейшем наблюдении за больными, осуществленном в рамках настоящего исследования, в послеоперационном периоде не были зарегистрированы бактериемия или осложнения, вызванные *A. baumannii*. В то же время, мы считаем, что детекция бессимптомного носительства возбудителей – продуцентов карбапенемаз с использованием ПЦР-РВ в дальнейшем может стать эффективным инструментом профилактики развития послеоперационных осложнений, особенно у иммунокомпromентированных пациентов.

### Выводы

1. 20,0% онкологических больных при поступлении в хирургический стационар уже были колонизированы *A. baumannii*. Слизистая ротоглотки была колонизирована у 12,2%, слизистая прямой кишки у 8,0% больных.
2. Гены ОХА-карбапенемаз были выявлены у 6,1% больных из числа обследованных и 35,9% из числа колонизированных *A. baumannii*.
3. Штаммы *Acinetobacter spp.*, циркулирующие во внешней среде могут служить резервуаром генов ОХА-карбапенемаз.
4. Прямое определение ДНК *A. baumannii* и генов ОХА-карбапенемаз с использованием метода ПЦР в реальном времени может быть рекомендовано для подбора адекватной эмпирической терапии в случае возникновения инфекционных осложнений.

### Список литературы

1. Национальная концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи-Роспотребнадзор, 2011. <http://rosпотребнадзор.ru>.
2. Fournier P.E., Vallenet D., Barbe V. et al. Comparative genomics of multidrug resistance in *Acinetobacter baumannii*. PLOS Genet. – 2006. – № 2 (1). – P. 62–72.
3. Marion G., Marchese-Ragona R., Boldrin C. et al. Deep neck abscess due to *Acinetobacter baumannii* infection. Am J Otolaryngol. – 2010. – № 31 (4). – P. 304–307.
4. Рябкова Е.Л., Иванчик Н.В., Сухорукова М.В. Резистентность нозокомиальных штаммов *Escherichia coli* в стационарах России. Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. – 2009. – Т. 11. № 2. – С. 161–169.
5. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склёнова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Шек Е.А., Дехнич А.В., Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Acinetobacter spp.* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФРН в 2011–2012 гг. Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. – 2014. – Т. 16. № 4. – С. 266–272.

6. Воробьева О.Н., Камалеева М.Ф., Жилина Н.М., Чеченин Г.И., Челпанова Л.И. Этиологическая структура нозокомиальных инфекций у больных в отделении реанимации и интенсивной терапии. Российский медико-биологический вестник им. акад. И.П. Павлова. – 2009. – № 1. – С. 33–38.

7. Фаращук А.Н. Оптимизация антибиотикотерапии нозокомиальных инфекций, вызванных *Acinetobacter baumannii*, в отделениях реанимации и интенсивной терапии России: Дисс. – Смоленск; 2008.

8. Светличная Ю.С. Распространение карбапенемостойчивых штаммов *A. baumannii* в многопрофильных стационарах Санкт-Петербурга. Медицинский альманах. – 2015. – № 5 (40). – С. 102–105.

9. Городинская Н.А., Сабирова Е.В., Абрамова Н.В., Капасева Г.Н., Некаева Е.С. Антибиотикочувствительность и молекулярные механизмы резистентности *Acinetobacter baumannii*, возбудителей раневой ожоговой инфекции // Медицинский альманах. – 2015. – № 5 (40). – С. 99–101.

10. Григорьевская З.В., Дмитриева Н.В., Петухова И.Н., Дьякова С.А. Особенности течения инфекционных осложнений, вызванных панрезистентными *Acinetobacter baumannii* у онкологических больных // Сибирский онкологический журнал. – 2011. – № 6 (48). – С. 14–18.

11. Мартинович А.А. Динамика антибиотикорезистентности и эпидемиология инфекций, вызванных *Acinetobacter spp.*, в России. Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. – 2010. – Т. 12. № 2. – С. 96–103.

12. Горбич Ю.Л. Инфекции, вызываемые *Acinetobacter baumannii*, и их рациональная антибактериальная терапия: Дисс. – Минск; 2012.

13. Зыкова Т.А., Богомолова О.А., Панова Н.И., Малейко М.Л., Бут О.А. Выявление генов ОХА-карбапенемаз у изолятов *Acinetobacter baumannii*, выделенных в стационарах Ростова-на-Дону. В книге: Молекулярная диагностика – 2014. Сборник трудов VIII Всероссийской научно-практической конференции с международным участием. Под редакцией В.И. Покровского. – 2014. – С. 273.

14. Зыкова Т.А., Богомолова О.А. Определение генов резистентности у грамотрицательных бактерий молекулярными методами // Клиническая микробиология и антибактериальная химиотерапия. – 2014. – Т. 16. № 2. Приложение 1. – С. 21.

15. Зыкова Т.А., Богомолова О.А. Возможности молекулярных методов в программах эпидемиологического скрининга // Проблемы медицинской микологии. – 2015. – Т. 17. № 2. – С. 75–76.

16. Лазарева А.В., Катосова Л.К., Крыжановская О.А., Пономаренко О.А., Карасева О.В., Горелик А.Л., Маянский Н.А. Мониторинг и профиль антибиотикорезистентности микробиоты трахеально аспирата у детей с тяжелой черепно-мозговой травмой в отделении реанимации и интенсивной терапии // Антибиотики и химиотерапия. – 2014. – Т. 59. № 7-8. – С. 8–15.

17. Горбич Ю.Л., Карпов И.А., Кречикова О.И. Оценка значимости *Acinetobacter baumannii* для клинического исхода заболевания у пациентов с ацинетобактер-ассоциированными инфекциями // Медицинская панорама. – 2011. – № 6. – С. 73–77.

18. Зыкова Т.А., Туманян С.В., Богомолова О.А., Панова Н.И. Этиология пневмоний в онкологическом стационаре // Проблемы медицинской микологии. – 2015. – Т. 17. № 2. – С. 76.