

## Распространение мультиантибиотикорезистентных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в стационарах для лечения пациентов с COVID-19

А. Е. Гончаров<sup>\*3,1,4</sup>, Л. П. Зуева<sup>1</sup>, А.С. Мохов<sup>1,2,3</sup>, В. В. Колоджиева<sup>1</sup>, А. А. Мельцер<sup>2</sup>, М. В. Смирнова<sup>2</sup>, Т. В. Хавлина<sup>1</sup>, Е. А. Оришак<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет им. И.И. Мечникова» Минздрава РФ, г. Санкт-Петербург

<sup>2</sup>СПб ГБУЗ «Городская Мариинская больница», г. Санкт-Петербург

<sup>3</sup>ФГБНУ «Институт экспериментальной медицины», г. Санкт-Петербург

<sup>4</sup>ФГБОУ ВО Санкт-Петербургский государственный университет, г. Санкт-Петербург

### Резюме

**Актуальность.** Пандемия COVID-19 привела к существенным перегрузкам в работе систем здравоохранения во многих странах, нехватке коек и персонала, что может негативно отразиться на приверженности мерам профилактики и контроля нозокомиальных инфекций, которые могут значительно ухудшать течение вирусных пневмоний. **Цель работы** – оценить возможность формирования госпитальных штаммов микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью в стационарах, перепрофилированных для оказания медицинской помощи пациентам с COVID-19. **Материалы и методы.** В исследовании участвовали пациенты с тяжелыми и среднетяжелыми формами COVID-19 (коды МКБ U07.1, U07.2), поступившие в два крупных стационара, перепрофилированных для лечения данной инфекции. Проведены микробиологические исследования биоматериала (мокрота, бронхоальвеолярный лаваж, трахеальные аспираты), полученного от 1101 пациента с мая по июль 2020 г. С использованием комбинации молекулярно-генетических методов (RAPD-ПЦР, детекция интегров и гена карбапенемазы blaNDM.) проведено молекулярно-генетическое типирование карбапенемрезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*. **Результаты и обсуждение.** Установлено, что в структуре внутрибольничной микробиоты респираторного тракта пациентов с COVID-19 в обоих стационарах преобладают грамотрицательные бактерии с устойчивостью к антибиотикам из группы карбапенемов. Молекулярно-генетическое типирование позволило установить широкое распространение нескольких генетических линий карбапенем-резистентных изолятов *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*, представленных, в основном, интегрон-позитивными изолятами. **Заключение.** Пандемия COVID-19 обострила проблему распространения и циркуляции в стационарах бактерий с множественной антибиотикорезистентностью. В настоящем исследовании продемонстрирована возможность формирования госпитальных штаммов возбудителей внутрибольничных инфекций в стационарах для лечения пациентов с COVID-19, что обосновывает необходимость совершенствования мер инфекционного контроля в условиях пандемии новой коронавирусной инфекции.

**Ключевые слова:** госпитальные штаммы, SARS-CoV-2, пандемия COVID-19, антибиотикорезистентность, мультирезистентные микроорганизмы, молекулярно-генетическое типирование

Конфликт интересов не заявлен.

Исследование выполнено при финансовой поддержке Министерства науки и высшего образования Российской Федерации, Соглашение №075-15-2020-902.

**Для цитирования:** Гончаров А. Е., Зуева Л. П., Мохов А.С. и др. Распространение мультиантибиотикорезистентных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в стационарах для лечения пациентов с COVID-19. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2021;20(2): 68–73. <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-2-68-73>.

### Spread of Multi-Antibiotic-Resistant Health-Care Pathogens in Hospitals to Treat COVID-19 Patients

AE Goncharov<sup>\*1,3,4</sup>, LP Zueva<sup>1</sup>, AS Mokhov<sup>1,2,3</sup>, VV Kolodzhieva<sup>1</sup>, AA Meltser<sup>2</sup>, MV Smirnova<sup>2</sup>, TV Khavlina<sup>1</sup>, EA Orishak<sup>1</sup>

<sup>1</sup>North-Western State Medical University named after I.I. Mechnikov, Saint- Petersburg, Russian Federation

<sup>2</sup>City Mariinsky Hospital, Saint- Petersburg, Russian Federation

\* Для переписки: Гончаров Артемий Евгеньевич, д. м. н., доцент, заведующий лабораторией функциональной геномики и протеомики микроорганизмов ФГБНУ Институт экспериментальной медицины, 197376, Санкт-Петербург, улица Академика Павлова, 12. +7 (812) 234-05-42. [phage1@yandex.ru](mailto:phage1@yandex.ru). © Гончаров А. Е. и др.

\*\* For correspondence: Goncharov Artemy E., Dr. Sci. (Med.), Institute of experimental medicine, 12, Akademika Pavlova Street, St. Petersburg, 197376, Russian Federation. +7 (812) 234-05-42. [phage1@yandex.ru](mailto:phage1@yandex.ru). ©Goncharov AE et al.

<sup>3</sup>Institute of experimental medicine, Saint-Petersburg, Russian Federation<sup>4</sup>Saint Petersburg State University, Saint-Petersburg, Russian Federation**Abstract**

**Relevance.** The COVID-19 pandemic has led to significant overloads in the work of health systems in many countries, a shortage of beds and staff, which contributes to a decrease in adherence to measures to prevent and control nosocomial infections, which can significantly worsen the course of viral pneumonia. **Aim.** To assess the possibility of the formation of hospital strains of multidrug-resistant microorganisms in hospitals repurposed to provide medical care to patients with COVID-19. **Materials and methods.** The study included patients with severe and moderate forms of COVID-19 (ICD codes U07.1, U07.2), who were admitted to two large hospitals repurposed for the treatment of this infection. The data of microbiological studies of the biomaterial associated with the respiratory tract (sputum, bronchoalveolar lavage, tracheal aspirates) obtained from 1101 patients from May to January 2021 were analyzed using a combination of molecular genetic methods (RAPD-PCR, detection of integrons and the carbapenemase gene *bla* NDM.), and molecular typing of carbapenem-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* was carried out. **Results.** It was found that carbapenem resistant gram-negative bacteria predominate in the structure of the nosocomial microbiota of the respiratory tract of patients with COVID-19 in both hospitals. Based on molecular typing made the wide distribution of several genetic lines of integron-positive carbapenem resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* was detected. **Conclusions.** The COVID-19 pandemic has exacerbated the spread and circulation of bacteria with multiple antibiotic resistance in hospitals. This study has demonstrated the possibility of the formation of hospital strains of nosocomial infections in COVID-19 hospitals, which justifies the need to improve infection control measures in the context of a new coronavirus infection pandemic.

**Keywords:** hospital adapted strains, SARS-CoV-2, COVID-19 pandemic, antibiotic resistance, multidrug-resistant organisms, molecular genetic typing

No conflict of interest to declare.

The study was carried out with the financial support of the Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation, Agreement No. 075-15-2020-902.

**For citation:** Goncharov AE, Zueva LP, Mokhov AS et al. Spread of Multi-Antibiotic-Resistant Health-Care Pathogens in Hospitals to Treat COVID-19 Patients. *Epidemiology and Vaccinal Prevention*. 2021;20(2): 68–73 (In Russ.). <https://doi.org/10.31631/2073-3046-2021-20-2-68-73>.

**Введение**

Пандемия COVID-19 привела к существенным перегрузкам в работе систем здравоохранения во многих странах, нехватке коек и персонала [1], что затрудняет реализацию мер профилактики и контроля нозокомиальных инфекций [2]. В то же время бактериальные инфекции могут значительно увеличивать смертность у пациентов, страдающих вирусными пневмониями [3,4]. В данной связи особую озабоченность у специалистов вызывает возможность распространения бактериальных возбудителей с множественной лекарственной устойчивостью в период пандемии COVID-19 [5–7].

Очевидна потребность в определении особенностей распространения микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью в специализированных стационарах, оказывающих медицинскую помощь пациентам с новой коронавирусной инфекцией.

**Цель настоящего исследования** – оценка возможности формирования госпитальных штаммов микроорганизмов, обладающих множественной лекарственной устойчивостью, в стационарах, перепрофилированных для оказания медицинской помощи пациентам с COVID-19.

**Материалы и методы**

В исследование был включен 1101 взрослый пациент с тяжелыми и среднетяжелыми формами COVID-19 (коды МКБ U07.1, U07.2), поступивший

в два крупных стационара (591 и 510 пациентов соответственно), перепрофилированных для оказания помощи пациентам с коронавирусной инфекцией с мая 2020 по январь 2021 г.

Проведены микробиологические исследования биоматериала (мокрота, бронхоальвеолярный лаваж, трахеальные аспираты), взятого от пациентов с мая по декабрь 2020 г. Анализировались неповторяющиеся изоляты, отобранные не ранее чем через 48 часов пребывания пациентов в стационаре. Для характеристики антибиотикорезистентности были использованы критерии EUCAST (European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing – Европейский комитет по определению чувствительности к антибиотикам) [8]. При этом карбапенем-резистентному фенотипу соответствовали штаммы с минимальной подавляющей концентрацией меропенема или имипенема > 8.0 мкг/мл.

Дополнительно проведено молекулярно-генетическое типирование 15 карбапенем-устойчивых штаммов *Klebsiella pneumoniae* и 55 карбапенем-устойчивых штаммов *Acinetobacter baumannii*. Молекулярно-генетическое типирование включало проведение RAPD – ПЦР в сочетании с определением интегров I класса по методике, описанной ранее [9]. Анализ электрофореграмм и построение дедрограмм проводилось при помощи программного обеспечения TotalLab TL120 (Nonlinear Dynamics).

Кроме того, все штаммы были протестированы на наличие гена карбапенемаз *bla*<sub>NDM</sub>, с помощью

## Practical Aspects of Epidemiology and Vaccine Prevention

полимеразной цепной реакции (ПЦР) со специфическими праймерами и условиями, как описано ранее [10].

Расчет 95% доверительного интервала для интенсивных показателей проводился с помощью эпидемиологического калькулятора WinPEPI (version 11.65).

### Результаты и обсуждение

Частота колонизации респираторного тракта пациентов микроорганизмами с резистентностью к антибиотикам представлена в таблице 1.

При анализе данных, представленных в таблице, обращает на себя внимание высокая частота колонизации пациентов стационаров грамотрицательными бактериями с устойчивостью к антибиотикам из группы карбапенемов, причем эти данные различаются в двух изученных стационарах, что может указывать на наличие локальных факторов, влияющих на заболеваемость внутрибольничными инфекциями. Углубленное изучение показало, что существенный рост частоты выделения карбапенем-резистентных грамотрицательных бактерий был ассоциирован с перепрофилированием стационаров для приема пациентов с новой коронавирусной инфекцией. Так, частота выделения карбапенемрезистентных грамотрицательных бактерий в отделениях интенсивной терапии и реанимации в мае–июле 2019 г. в стационаре 1 составила 6,1 на 100 обследованных, а за тот же период 2020 г. – 20,5 на 100 обследованных,

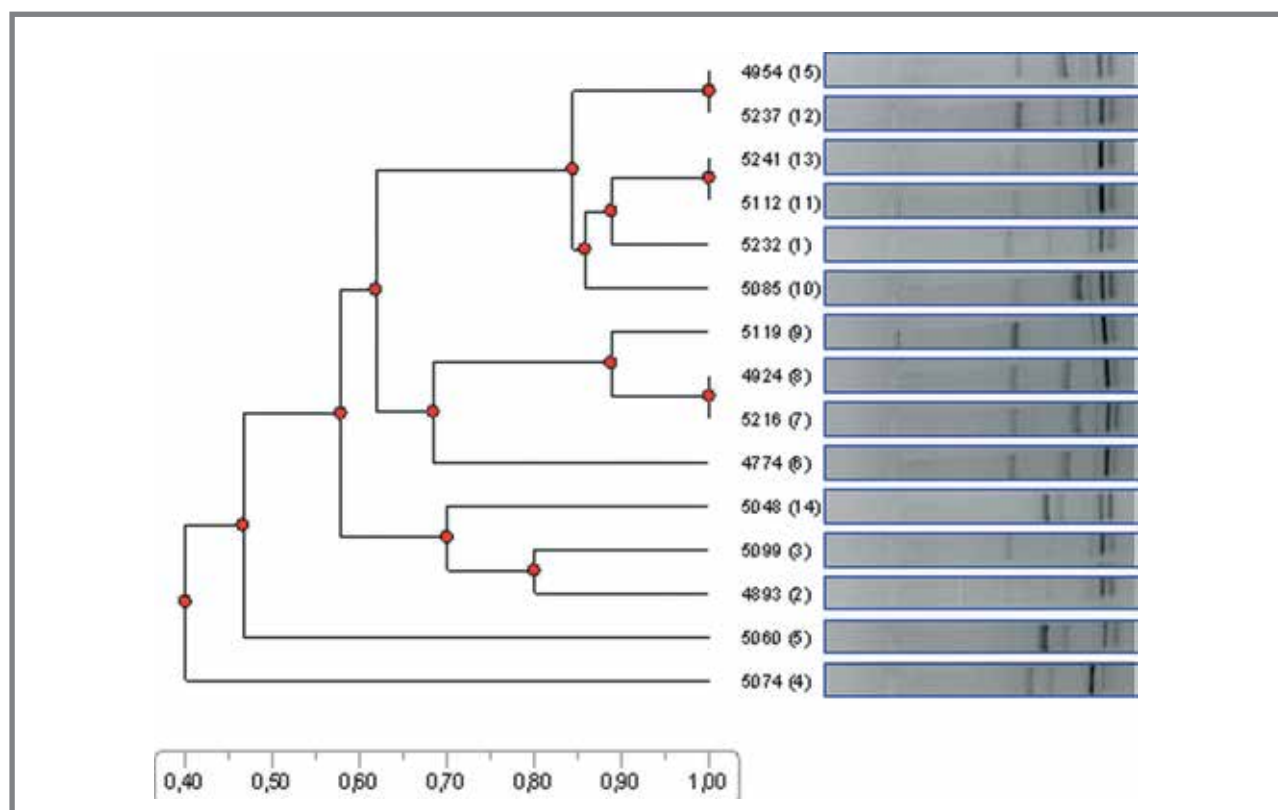
(RR колонизации/инфекции карбапенемрезистентными грамотрицательными микроорганизмами 3,42 (95% ДИ 1,5–7,8)  $p = 0,007$ ); в стационаре 2 данный показатель в мае–июле 2019 г. составил 43,6 на 100 обследованных, а за тот же период 2020 года – 83,3 на 100 обследованных (RR колонизации/инфекции карбапенемрезистентными грамотрицательными микроорганизмами 2,39 (95% ДИ 1,6–3,5)  $p = 0,00000001$ ). Широкое распространение в изучаемых стационарах штаммов возбудителей ИСМП с множественной лекарственной устойчивостью может свидетельствовать о формировании и активной циркуляции в данных медицинских организациях госпитальных штаммов. Для проверки данного предположения нами было проведено молекулярно-генетическое типирование карбапенем-резистентных изолятов *Acinetobacter baumannii* и *K. pneumoniae*, выделенных из клинического материала, отобранного от пациентов с ноября 2020 г. по январь 2021 г.

Результаты типирования свидетельствуют о формировании в стационаре нескольких генетических линий (профилей RAPD-типирования) – не менее двух у карбапенем-резистентных *Klebsiella pneumoniae* (рис. 1) и не менее трех у *Acinetobacter baumannii* (рис. 2). К данным клональным линиям относится большая часть изученных культур: 19 из 33 ацинетобактеров (57,6%) и 9 из 15 (60%) клебсиелл. Среди ацинетобактеров преимущественно циркулировали две генетические линии А и В. Штаммы, относящиеся

**Таблица 1. Частота колонизации респираторного тракта госпитализированных пациентов с COVID-19 микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью**

**Table 2. Prevalence of multidrug-resistant strains colonization among hospitalized COVID-19 patients**

Микроорганизмы с множественной лекарственной устойчивостью/ Multidrug-resistant microorganisms	Частота колонизации/Prevalence			
	Стационар 1 Hospital 1		Стационар 2 Hospital 2	
	на 100 пациентов/ per 100 patients	95%ДИ/ 95% CI	на 100 пациентов/ per 100 patients	95%ДИ/ 95% CI
Ванкомицин-резистентные <i>E.faecium</i> / Vancomycin-resistant <i>E.faecium</i>	0,51	0,14–1,29	0,59	0,12–1,71
Ванкомицин-резистентные <i>E.faecalis</i> / Vancomycin-resistant <i>E.faecalis</i>	0,25	0,03–0,91	не выявлены/ not identified	–
Метициллин-резистентные <i>S.aureus</i> / Methicillin-resistant <i>S.aureus</i>	0,51	0,14–1,29	1,96	0,94–3,58
Метициллин-резистентные <i>S.epidermidis</i> / Methicillin-resistant <i>S.epidermidis</i>	2,02	1,16–3,26	1,96	0,94–3,58
Резистентные к карбапенемам <i>Acinetobacter</i> spp./ Carbapenem resistant <i>Acinetobacter</i> spp.	1,89	1,06–3,10	15,65	12,64–19,14
Резистентные к карбапенемам <i>K.pneumoniae</i> / Carbapenem resistant <i>K.pneumoniae</i>	3,54	2,36–5,07	24,31	20,65–28,28
Резистентные к карбапенемам <i>P.aeruginosa</i> / Carbapenem resistant <i>P.aeruginosa</i>	2,15	1,26–3,41	2,35	1,22–4,07
Резистентные к карбапенемам <i>E.coli</i> / Carbapenem resistant <i>E.coli</i>	не выявлены/ not identified	–	1,37	0,55–2,81

Рисунок 1. RAPD-типирование штаммов *Klebsiella pneumoniae*Figure 1. RAPD-typing of *Klebsiella pneumoniae* strains

к линии А циркулировали в течение нескольких месяцев (с 10.11.2020 по 12.01.2021), а представители второй генетической линии менее месяца (10.12.20 по 28.12.21).

Необходимо также отметить высокую долю интегрон-позитивных штаммов в числе изученных: ген интегронной интегразы был выявлен в 11 из 15 случаях (73,3%) у *K. pneumoniae*, в 21 из 33 культур ацинетобактер (63,6%). При этом значительна была частота идентификации интегров I класса. Данные мобильные генетические элементы, маркирующие мультирезистентные госпитальные генотипы грамотрицательных бактерий [11], были идентифицированы в геномах 10 штаммов ацинетобактера (30,3%), 11 штаммов клебсиелл (73,3%) и в одном случае в геноме *E. coli*. Продemonстрировано, что детерминанты устойчивости к карбапенемным антибиотикам, в частности гены карбапенемаз, нередко локализованы в составе генных кассет, составляющих вариативную часть интегров I класса [12,13]. Кроме того, у 43,8% штаммов клебсиелл был идентифицирован ген карбапенемазы *bla*<sub>NDM</sub>.

Таким образом, особенности генотипа изученных штаммов типичны для госпитальных штаммов с экстремальной резистентностью к антибактериальным препаратам.

Оценивая полученные результаты, следует принять во внимание, что описываемая в нашей работе ситуация не уникальна, так как в период пандемии COVID-19

возникла необходимость перепрофилирования значительной части медицинских организаций, которые не были изначально предусмотрены для работы с инфекционными больными, в инфекционные стационары. На фоне массового поступления пациентов в подобные организации нарастает проблема внутрибольничного распространения бактерий с множественной резистентностью к антибактериальным препаратам.

В условиях стационаров, оказывающих экстренную медицинскую помощь, распространение резистентных микроорганизмов осуществляется, как правило, посредством перекрестного внутрибольничного инфицирования пациентов [14], причем в отделениях интенсивной терапии частота внутрибольничного инфицирования достигает 53% [15,16].

Установленные факты циркуляции генетических линий мультиантибиотикорезистентных ацинетобактеров и клебсиелл позволяют рассматривать стационары, перепрофилированные для лечения COVID-19, в качестве стационаров с высоким риском внутрибольничного инфицирования микроорганизмами «с проблемной резистентностью» к антимикробным препаратам.

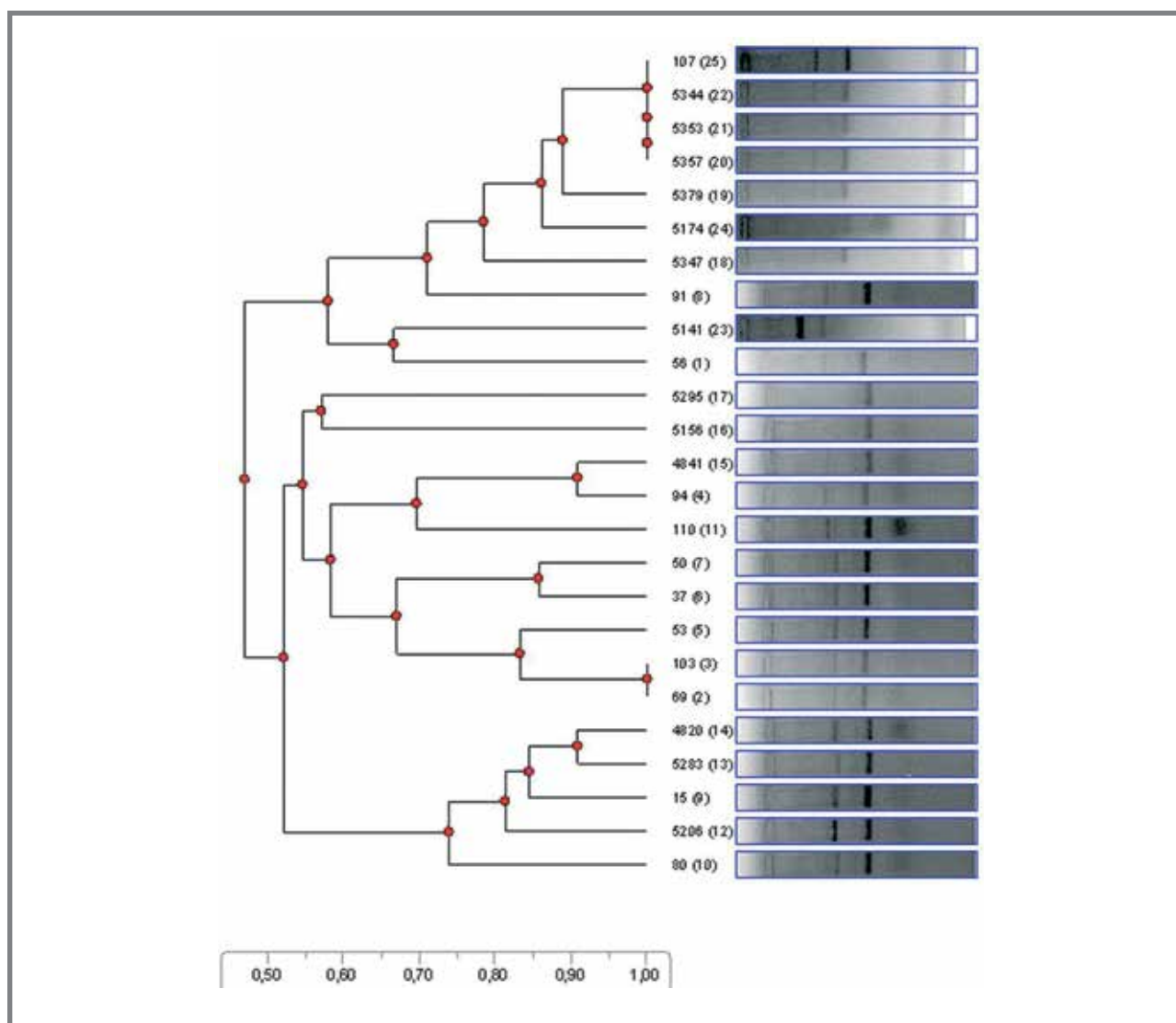
### Заключение

Пандемия COVID-19 обострила проблему распространения и циркуляции в стационарах бактерий с множественной антибиотикорезистентностью. Высокий уровень заражения микроорганизмами,



**Рисунок 2. RAPD-типирование штаммов *Acinetobacter baumannii***

**Figure 2. RAPD-typing of *Acinetobacter baumannii* strains**



резистентными к антибиотикам, в стационарах для лечения COVID-19 может быть объяснен факторами, связанными с экстренным характером оказания медицинской помощи: высокой загруженностью медицинского персонала; привлечением к работе персонала, не имеющего опыта работы в условиях инфекционного стационара; переполненностью отделений интенсивной терапии.

Проведенное молекулярно-генетическое типирование позволило установить широкое распространение нескольких генетических

линий карбапенем-резистентных изолятов *Klebsiella pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*, представленных в том числе интегрон-положительными изолятами. Не вызывает сомнения вероятность возникновения очагов внутрибольничных инфекций в стационарах для лечения пациентов с COVID-19, что обосновывает необходимость дальнейшего изучения закономерностей формирования и распространения госпитальных штаммов возбудителей ИСМП в организациях инфекционного профиля.

## Литература

1. Li R., Rivers C., Tan Q., et al. Estimated Demand for US Hospital Inpatient and Intensive Care Unit Beds for Patients With COVID-19 Based on Comparisons With Wuhan and Guangzhou, China. *JAMA Netw. Open.* 2020;3:e208297.
2. Rawson T.M., Moore L.S.P., Castro-Sanchez E., et al. COVID-19 and the potential long-term impact on antimicrobial resistance. *Journal of Antimicrobial Chemotherapy.* 2020. Vol.75. P. 1681–1684.
3. Beadling C., Slifka M.K. How do viral infections predispose patients to bacterial infections? *Curr Opin Infect Dis.* 2004. Vol. 17, № 3. P. 185–191.
4. Metzger DW, Keer Sun. Immune dysfunction and bacterial coinfections following influenza. *Journal of immunology.* 2013. Vol. 191, № 5. P. 2047–2052.
5. Rawson T.M., Moore L.S.P., Castro-Sanchez E., et al. COVID-19 and the potential long-term impact on antimicrobial resistance. *J. Antimicrob. Chemother.* 2020. Vol. 75. P. 1681–1684.
6. Nieuwlaat R., Mbuagbaw L., Mertz D., et al. COVID-19 and Antimicrobial Resistance: Parallel and Interacting Health Emergencies. *Clin. Infect. Dis.* 2020.
7. Clancy C.J., Nguyen M.H. COVID-19, superinfections and antimicrobial development: What can we expect? *Clin. Infect. Dis.* 2020.
8. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 11.0. 2021. <http://www.eucast.org>.
9. Соломенный А. П., Максимов А. Ю., Саралов А. И. и др. Появление интегрон-положительного полирезистентного штамма *Acinetobacter baumannii* в российских стационарах. *Журн. микробиол. эпидемиол. иммунобиол.* 2008. №4. С. 89–91.
10. Espinal, P., Fugazza, G., López, et al. Dissemination of an NDM-2-producing *Acinetobacter baumannii* clone in an Israeli rehabilitation center. *Antimicrobial agents and chemotherapy.* 2011. Vol. 55, № 11. P. 5396–5398.

