

Для цитирования: Терещенко И.В., Григорьевская З.В., Петухова И.Н., Шильникова И.И., Григорьевский Е.Д., Терещенко О.В., Агинова В.В., Дмитриева Н.В. Место анаэробных микроорганизмов рода *Veillonella* в инфекционных осложнениях у онкологических больных. Сибирский онкологический журнал. 2018; 17 (1): 11–18. – DOI: 10.21294/1814-4861-2018-17-1-11-18.

For citation: Tereshchenko I.V., Grigorievskaya Z.V., Petukhova I.N., Shilnikova I.I., Grigorievsky E.D., Tereshchenko O.V., Aginova V.V., Dmitrieva N.V. Role of gram-negative anaerobic cocci belonging to the genus *Veillonella* in infectious complications in cancer patients. Siberian Journal of Oncology. 2018; 17 (1): 11–18. – DOI: 10.21294/1814-4861-2018-17-1-11-18.

МЕСТО АНАЭРОБНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ РОДА *VEILLONELLA* В ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЯХ У ОНКОЛОГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ

И.В. Терещенко¹, З.В. Григорьевская¹, И.Н. Петухова¹, И.И. Шильникова¹,
Е.Д. Григорьевский², О.В. Терещенко³, В.В. Агинова^{1,4}, Н.В. Дмитриева¹

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина»
Минздрава России, г. Москва, Россия¹

115478, г. Москва, Каширское шоссе, 23. E-mail: in.ter68@inbox.ru¹

ФГБОУ ВО «Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова»
МЗ РФ, г. Москва, Россия²

119991, г. Москва, ул. Большая Пироговская, 2, стр. 4. E-mail: mrjake916@gmail²

ФГБОУ ВО «Российский национальный исследовательский медицинский университет
им. Н.И. Пирогова» МЗ РФ, г. Москва, Россия³

117997, г. Москва, ул. Островитянова, 1. E-mail: invrtdforest@gmail.com³

ГБПОУ ДЗМ «Медицинский колледж № 1», г. Москва, Россия⁴

127206, г. Москва, Чуксин тупик, 6. E-mail: avkn@mail.ru⁴

Аннотация

Микробиологическое исследование при помощи масс-спектрометрии на сегодняшний день является наиболее оптимальным и экономически обоснованным методом идентификации анаэробных микроорганизмов у онкологических больных. Наиболее проблемными в онкологической клинике были выявлены *V. parvula*, *V. dispar* и *V. atypica*. Все штаммы *Veillonella spp.* были чувствительны к имипенему. Однако отмечалась устойчивость анаэробных бактерий к препаратам группы пенициллинов, метронидазолу. Идентификация и определение чувствительности анаэробных микроорганизмов занимают достаточно много времени (7–10 дней). Распространение резистентных штаммов анаэробных микроорганизмов создаёт определенные проблемы при планировании эмпирических режимов терапии у онкологических больных. Необходим взвешенный подход к планированию эмпирической тактики при подозрении на наличие у больного анаэробной инфекции, поскольку неадекватные эмпирические режимы терапии существенно ухудшают прогноз. Нерациональное использование метронидазола ведет к продолжению нарастания резистентности среди анаэробных микроорганизмов.

Ключевые слова: клинические изоляты *Veillonella spp.*, грамотрицательные кокки, анаэробные инфекции, MALDI-TOF MS, резистентность к антибиотикам, онкологические больные.

Инфекции, вызванные неклостридиальными анаэробными микроорганизмами, у онкологических больных встречаются достаточно редко. Однако если они возникают, то вызывают серьезные проблемы в их лечении. Инфекционные осложнения, вызванные анаэробными микроорганизмами, – актуальная проблема [1, 2]. В целом риск развития инфекционных осложнений у онкологических больных выше, чем у пациентов хирургического профиля. Это объясняется рядом факторов: течением

основного заболевания, иммунодефицитом, который имеется у онкологических больных, частыми инвазивными манипуляциями, предшествующей лучевой и полихимиотерапией [3]. Инфекционные осложнения, вызванные анаэробными микроорганизмами или аэробно-анаэробными ассоциациями, могут протекать у онкологических пациентов крайне тяжело. Сложности культивирования анаэробов не позволяют своевременно диагностировать в биоматериале строго анаэроб-

ные микроорганизмы. Для их «выращивания» необходимо специальное оборудование, так как анаэробы культивируют в «строгих» условиях, в бескислородной среде. Кроме того, нужны подготовленные микробиологи, знающие технологию культивирования анаэробов [2]. Большая часть лабораторий в России не располагает такими ресурсами. В результате при назначении терапии врачи не учитывают возможность наличия анаэробной инфекции, что, в свою очередь, ведет к неэффективности стартовой антибактериальной терапии, росту показателей атрибутивной летальности, увеличению количества койко/дней и финансовых затрат, а также к росту резистентности анаэробной инфекции к антибиотикам, используемым в лечебном учреждении [3]. В настоящее время появилось большое количество устойчивых к стандартным антибактериальным препаратам анаэробов [4]. *Veillonella spp.* – один из наиболее проблемных анаэробных грамотрицательных кокков. *Veillonella spp.* является этиологическим агентом инфекций кровотока [4–6], эндокардитов [7, 8], менингитов [9], пневмоний [10]. Чаще всего в биоматериале микроорганизм выделяется в ассоциациях с другими госпитальными патогенами. Пристального внимания заслуживают штаммы *Veillonella parvula*, *Veillonella dispar* и *Veillonella atypica*. Идентификация бактерий методом секвенирования гена *16SpPHK* является «золотым стандартом» лабораторной диагностики. Однако точность метода неоднозначна. Необходимы дополнительные исследования [11, 12]. Прямой MALDI-масс-спектрометрический метод позволяет экономически более выгодно и быстро идентифицировать анаэробные микроорганизмы, заменив трудоемкие биохимические и антигенные методы идентификации [13–19]. Внедрение масс-спектрометрического метода идентификации в микробиологию явилось крупным прорывом в систематике бактерий за последнее десятилетие [13]. В результате возможно своевременно диагностировать анаэробную инфекцию и грамотно планировать лечебную тактику.

Цель исследования – оценить уровень резистентности штаммов *Veillonella spp.* к пенициллину, метронидазолу, амоксиллин/клавуланату, имипенему при различных инфекционных осложнениях у онкологических больных.

Материал и методы

Работа выполнялась с 2004 по 2016 г. на базе лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России. Изучено 70 биоматериалов онкологических больных: раневое отделяемое, содержимое полостей, абсцессов, желчь, кровь. Выделен и проанализирован 71 штамм анаэробных грамотрицательных кокков. Первичный посев биоматериала производили на агар Шедлера (с добавлением гемина, ме-

надиона и 5 % дефибрированной крови крупного рогатого скота) и тиогликолевый бульон. Инкубация осуществлялась в строго анаэробных условиях с использованием газогенерирующих пакетов Gas Pak или системы Anaero Gen при температуре 37°C в течение 48–72 ч. После получения роста колоний на агаре Шедлера штаммы повторно засеивали на чашки с агаром Шедлера и чашки с 5 % кровяным агаром. Далее инкубировали в течение 24 ч: чашки с агаром Шедлера – в анаэробных условиях, с 5 % кровяным агаром – в аэробных. Рост колоний на 5 % кровяном агаре через 24 ч свидетельствовал об отсутствии строго анаэробной флоры в данном материале.

Последующую идентификацию микроорганизмов осуществляли с использованием современных микробиологических анализаторов: Walk Away, Vitek-2, Micro Scan. С использованием прямого MALDI-масс-спектрометрического метода дополнительно изучалась вариабельность MALDI-масс-профилей штаммов *Veillonella spp.*, выделенных по единому протоколу от онкологических больных. Согласно инструкции производителя, коэффициент достоверности (Score Value) – биостатистический параметр, который отражает степень совпадения спектра неизвестного микроорганизма со спектром референсного микроорганизма. Чем выше Score Value, тем полнее совпадение. Score 2.000–3.000 – достоверная идентификация до вида. Score 1.700–1.999 – достоверная идентификация до рода. Score 0.000–1.699 – недостоверная идентификация.

Из клинического образца мы выделили 1 штамм *Acidaminococcus intestine*, который по структуре генетически сходен с *Veillonella spp.*, поэтому включили его в наши исследования [20]. Фенотипическая и биохимическая дифференциация между видами затруднена. Большинство *Veillonella spp.*, а также виды других анаэробных грамотрицательных кокков не были включены в базы данных экспертной системы Walk Away. Сохранили, например, только один вид *Veillonella* – *V. parvula*. В работе с оборудованием Micro Scan и Vitek мы использовали Rapid 32A или Vitek – 2 ANC.

Штаммы хранили при температуре –70°C. Чувствительность определяли с помощью Walk Away, Vitek-2 и E-тестов. Контрольные минимально ингибирующие концентрации антибиотиков оценивали согласно критериям EUCAST (табл. 1).

Результаты

Чаще всего выделяли *V. parvula* – 37 штаммов (53 %), а затем *V. dispar* – 16 (23 %) и *V. atypica* – 16 (23 %). Основным источником выделения *Veillonella spp.* была желчь – в 25,7 %; отделяемое из брюшной полости – в 24,3 %; нижние дыхательные пути – в 22,9 %; раневое отделяемое – в 20 %; из области эндопротеза – в 4,3 %; из крови и мочевыводящих путей – по 1,4 % случаев (табл. 2).

Таблица 1

Минимально ингибирующие концентрации МИК (мкг/мл) антибиотиков по EUCAST

Антимикробный препарат	≤S	>R
Бензилпенициллин	≤0,25	>0,5
Амоксициллин/клавуланат	≤4	>8
Имипенем	≤2	>8
Метронидазол	≤4	>4

Таблица 2

Штаммы *Veillonella spp.*, выделенные из различных клинических образцов

Клинические образцы n=70	Штаммы <i>Veillonella spp.</i>			
	<i>V. parvula</i> (n=37, 53 %)	<i>V. dispar</i> (n=16, 23 %)	<i>V. atypica</i> (n=16, 23 %)	<i>V. denticariosi</i> (n=1, 1 %)
Инфекции нижних дыхательных путей 16/70 (22,9 %)	8/37 (21,6 %)	4/16 (25 %)	4/16 (25 %)	-
Интраабдоминальные инфекции 17/70 (24,3 %)	11/37 (30 %)	3/16 (18,7 %)	3/16 (18,7 %)	-
Желчь 18/70 (25,7 %)	10/37 (27 %)	1/16 (6,3 %)	7/16 (43,8 %)	-
Раневое отделяемое 14/70 (20 %)	6/37 (16,2%)	6/16 (37,4 %)	2/16 (12,5 %)	-
Инфекции эндопротеза 3/70 (4,3 %)	1/37 (2,6 %)	1/16 (6,3 %)	-	1/1 (100 %)
Мочевые инфекции 1/70 (1,4 %)	1/37 (2,6 %)	-	-	-
Кровь 1/70 (1,4 %)	-	1/16 (6,3 %)	-	-

Одновременно из одного клинического образца (плевральная жидкость) были выделены два разных вида: *V. atypica* и *V. dispar*. Поскольку *V. atypica* образует более крупные колонии, чем *V. dispar*, одним пересевом удалось получить «чистые» культуры *Veillonella spp.* Единственный штамм *Veillonella denticariosi* был выделен из аспирата перипротезной области у ребенка с хондросаркомой бедренной кости. Всего лишь один штамм *Acidaminococcus intestine* выделили из абсцесса в брюшной полости пациента с раком прямой кишки. *V. parvula* и *V. atypica* наиболее часто выделялись из образцов желчи, всего лишь один штамм *V. dispar* был выделен из желчи. Однако *V. parvula* и *V. dispar* по сравнению с *V. atypica* чаще выделялись из абсцессов и хирургических ран. Все изоляты *Veillonella spp.* были выделены в сочетании с аэробной микрофлорой, и ни один изолят не был выделен в монокультуре, включая образцы крови.

Результаты идентификации MALDI-TOF MS показали спектры хорошего качества: всего 68 изолятов (95,7 %) были идентифицированы с оценкой совпадения выше 2.000, среди которых 17 изолятов (23,9 %) были идентифицированы с оценками выше 2.300. Только один изолят *V. dispar* и 2 изолята *V. parvula* были идентифицированы с показанием Scores от 1.900 до 1.999. Виды *dispar/*

parvula анаэробных бактерий рода *Veillonella* имеют генетическое сходство, и их дифференциация затруднена. Выделенный из аспирата перипротезной области штамм *V. denticariosi* сгенерировал оценку 2.323, и *Acidaminococcus intestine*, выделенный из кишечника, обозначил оценку совпадения – 2.346 (табл. 3).

Рассмотрим распределения МИК среди 64 изолятов, представленных в табл. 4. Количество чувствительных штаммов к пенициллину среди *V. parvula* и *V. dispar* составило 14,3 % (5/35) и 15,4 % (2/13). Ни один из 15 штаммов *V. atypica* не был чувствителен к пенициллину. Минимально ингибирующие концентрации пенициллина G варьировали от 0,25 мкг/мл до 32 мкг/мл. Единственный изолят *V. denticariosi* показал устойчивость к пенициллину.

Таким образом, мы обнаружили, что изоляты *Veillonella spp.* обладают очень высокой устойчивостью к пенициллину, который мы не можем использовать в клинической практике для лечения инфекционных осложнений. Показатель в клинике колеблется от 85 до 100 %, в зависимости от вида. Среди изолятов *Veillonella spp.* также прослеживается устойчивость к амоксициллин/клавуланату. Так, для изолятов *V. parvula* и *V. dispar* диапазон MIC составлял 0,12 мкг/мл – 32 мкг/мл, а для изо-

Распределение изолятов анаэробных грамотрицательных кокков на основе полученных оценок совпадения Scores (n=70)

Анаэробные Грам(-) кокки / количество штаммов/	Количество штаммов с оценкой спектра MALDI		
	2.300–2.500	2.000–2.299	1.900–1.999
<i>Veillonell aparvula</i> /37/	4 (23,5 %)	31 (61 %)	2 (66,3 %)
<i>Veillonella dispar</i> /16/	4 (23,5 %)	11 (21,5 %)	1 (33,3 %)
<i>Veillonella atypica</i> /16/	7 (41,2 %)	9 (17,5 %)	-
<i>Veillonella denticariosi</i> /1/	1 (5,9 %)	-	-
<i>Acidaminococcus intestine</i> /1/	1 (5,9 %)	-	-
Всего	17 (24 %)	51 (71,8 %)	3 (4,2 %)

лятов *V. atypica* характерны более узкие показатели минимально ингибирующей концентрации: 1 мкг/мл – 16 мкг/мл. 19 (61,5 %) штаммов *V. parvula*, 6 (46,1 %) *V. dispar* и 9 (60,0 %) *V. atypica* были чувствительны к амоксициллин/клавуланату.

Неожиданные результаты были получены для бактерий рода *Veillonella* по отношению к метронидазолу. Чувствительность к метронидазолу *V. dispar* и *V. atypica* составляла 46,2 % (6/13) и 60 % (9/15) соответственно. Всего лишь 11,4 % (4/35) штамма *V. parvula* были чувствительны к метронидазолу. Для одного изолята *V. parvula* значения минимально ингибирующих концентраций были крайне высоки и составили 128 мкг/мл, а для двух штаммов определились на уровне >256 мкг/мл. Доля изолятов *V. parvula*, *V. dispar* и *V. atypica* умеренно устойчивых/устойчивых к метронидазолу составляла 54,3 %, 46,2 % и 26,7 % соответственно.

Все исследуемые штаммы были высокочувствительны к имипенему.

Обсуждение

Риск развития инфекции у онкологических больных несравненно выше относительно других пациентов хирургического профиля. Предрасполагающим фактором выступают иммунодефицитное состояние, большое количество инвазивных диагностических и лечебных вмешательств. Наиболее часто *Veillonella spp.* выделялись из абсцессов, хирургических ран, при перитонитах, холангитах, эмпиемах и распаде опухоли. Чаще всего выделялись *V. parvula*, как правило из полости абсцесса и желчных путей. *V. dispar* чаще всего выделялись из ран и плевральной жидкости. За исследуемый период выделен один штамм *V. dispar* из желчи. В то же время штаммы *V. atypica* чаще выделялись из желчных путей и плевральной жидкости.

Поскольку *Veillonella spp.* редко выделяется в монокультуре из клинического материала, этому микроорганизму не уделяется достаточного внимания как этиологически важному агенту в возникновении инфекции. В литературе мало данных о частоте высеваемости и местах локализации *Veillonella spp.* Как правило, этот анаэроб выделяется

из ротовой полости, бронхоальвеолярных лаважей, легких [16, 21].

В наших исследованиях *Veillonella spp.* выделяли в основном из желудочно-кишечного тракта и желчных путей. Поскольку грамотрицательные анаэробные кокки могут вызывать ряд серьезных инфекций, их родовая и видовая идентификация необходима.

Некоторые авторы продемонстрировали высокую достоверность определения *Veillonella spp.* до уровня видов на аппарате MALDI-TOF MS. Veloo et al. определили 10 штаммов *V. parvula* с Score между 2.822 и 2.416 [19]. Varreau et al. идентифицировали 28 изолятов *V. parvula* и один штамм *V. ratti* со счетом выше 1.900 [16]. Эти исследования доказывают, что на сегодняшний момент MALDI-TOF MS является более надежным, точным, быстрым способом для определения родовой и видовой принадлежности не только аэробных, но и анаэробных микроорганизмов.

В нашей лаборатории все штаммы были идентифицированы – 100 % до уровня рода и 95,8 % до вида. Использование MALDI-TOF спектрометра позволяет сэкономить время, что очень важно в работе микробиолога. Онкологические больные подвергаются химиотерапевтическому и радиационному лечению, которое может изменить биохимический профиль патогена. В связи с этим фенотипическая идентификация становится проблематичной.

Из-за отсутствия достаточного количества научных статей, материалов о *Veillonella spp.* в литературе мало данных об антимикробной чувствительности этого микроорганизма. Стратегия лечения инфекций, вызванных анаэробными бактериями рода *Veillonella*, давно не пересматривалась. В 70-х годах для лечения *Veillonella*-ассоциативных инфекций как препарат выбора был предложен пенициллин. В последнее время было обнаружено, что виды *Veillonella* продемонстрировали высокий уровень резистентности к пенициллину G (до 85 %), хотя были чувствительны к амоксициллин/клавуланату [22, 23]. Ready et al. исследовали чувствительность к пенициллину трех основных видов – *V. parvula*, *V. dispar*, *V. atypica*, – выделен-

Таблица 4

Распределение 64 изолятов *Veillonella* в соответствии с МИС (мг/мл)

Антибио- тики	Вид	Количество изолятов с МИС (мг/мл)									
		0,03–0,06	0,12–0,25	0,5	1	2	4	8	16	32–64	128–256
Имипенем	<i>V. parvula</i> (n=35)	5	9	18	3	-	-	-	-	-	-
	<i>V. dispar</i> (n=13)	2	7	4	-	-	-	-	-	-	-
	<i>V. atypica</i> (n=15)	-	14	-	1	-	-	-	-	-	-
	<i>V. denticariosi</i> (n=1)	-	1	-	-	-	-	-	-	-	-
Пенициллин	<i>V. parvula</i> (n=35)	-	1	4	3	1	2	2	1	21	-
	<i>V. dispar</i> (n=13)	-	-	2	1	-	3	1	1	5	-
	<i>V. atypica</i> (n=15)	-	-	-	-	5	4	2	-	4	-
	<i>V. denticariosi</i> (n=1)	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Амоксицил- лин/ клавуланат	<i>V. parvula</i> (n=35)	-	4	3	4	4	5	5	3	7	-
	<i>V. dispar</i> (n=13)	-	2	1	1	-	2	4	2	1	-
	<i>V. atypica</i> (n=15)	-	-	-	4	2	3	5	1	-	-
	<i>V. denticariosi</i> (n=1)	-	-	-	1	-	-	-	-	-	-
Метронида- зол	<i>V. parvula</i> (n=35)	-	-	-	-	1	3	12	7	9	3
	<i>V. dispar</i> (n=13)	-	-	-	-	1	5	1	5	1	-
	<i>V. atypica</i> (n=15)	-	-	-	-	-	9	2	3	1	-
	<i>V. denticariosi</i> (n=1)	-	-	1	-	-	-	-	-	-	-

ных с поверхности десны у детей. Самую высокую устойчивость к пенициллину показали штаммы *V. dispar* (73,4 %) [24]. В нашем исследовании наиболее устойчивыми к пенициллину были *V. atypica* (100 %), *V. parvula* (85,7 %) и *V. dispar* (84,6 %). Исследования показали, что все пенициллин резистентные изоляты были чувствительны к «защищенным» пенициллинам.

В отличие от результатов некоторых авторов, в нашем исследовании 28,6 % изолятов *V. parvula*, 23,1 % штаммов *V. dispar* и 6,7 % изолятов *V. atypica* были устойчивы к амоксициллин/клавуланату (МИС 16 мкг/мл – 32 мкг/мл). Тот факт, что все штаммы *V. atypica* были устойчивы к пенициллину и 6,7 % изолятов были устойчивы амоксициллин/клавуланату, подтверждает, что механизм выработки устойчивости к пенициллинам у *Veillonella spp.* связан с продукцией β-лактамаз.

В литературе имеются ограниченные данные о чувствительности штаммов *Veillonella spp.* к метронидазолу. Наши исследования показали высокий уровень устойчивости *Veillonella spp.* к метронидазолу, особенно *V. parvula* (88,6 %). Метронидазол считается «золотым стандартом» в лечении анаэробной инфекции, в связи с чем он давно используется во многих клиниках в составе лечебных комбинаций. Однако *Veillonella spp.* яв-

ляется исключением. Основываясь на критериях EUCAST, показатели устойчивости к метронидазолу (МИС ≥ 8 мкг/мл) *V. parvula*, *V. dispar* и *V. atypica* были следующими: 88,6 % (31/35), 53,8 % (7/13) и 40 % (6/15) соответственно. Мы не нашли публикаций, описывающих механизм выработки устойчивости *Veillonella spp.* к метронидазолу. Такой высокий процент и уровень устойчивости штаммов *Veillonella spp.* к метронидазолу должен насторожить врачей по поводу излишне частого использования препарата в клинике.

Заключение

Анаэробные грамотрицательные кокки *Veillonella spp.* могут вызывать инфекционные осложнения, особенно у пациентов с ослабленным иммунитетом. Выделение различных видов *Veillonella* не всегда можно расценивать как контаминацию материала. Из 64 рассмотренных штаммов *Veillonella spp.* 63 были устойчивы к пенициллину – 98,4 %, к метронидазолу – 68,8 %. Таким образом, метронидазол, как и пенициллин, не является препаратом выбора для лечения инфекций, вызванных грамотрицательными кокками рода *Veillonella*. Нерациональное использование метронидазола ведет к продолжению нарастания резистентности среди этого вида анаэробов. *Veillonella spp.* показывают высокую (100 %) чувствительность к имипенему.

ЛИТЕРАТУРА

1. Finegold S.M., George W.L. Anaerobic infections in humans. Academic Press, New York, 1989.
2. Давыдов М.И., Дмитриева Н.В. Инфекции в онкологии. М.: Практическая медицина, 2009. 55–86.
3. Григорьевская З.В. Стратегия лечения нозокомиальных инфекций, вызванных резистентными микроорганизмами, в онкологической клинике [Дис. доктора мед. наук]. [Москва]; 2015. 252.
4. Fisher R.G., Denison M.R. *Veillonella parvula* bacteremia without underlying source. J Clin Microbiol. 1996 Dec; 34 (12): 3235–6.
5. Liu J.W., Wu J.J., Wang L.R., Teng L.J., Huang T.C. Two fatal cases of *Veillonella* bacteremia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1998 Jan; 17 (1): 62–4.
6. Strach M., Siedlar M., Kowalczyk D., Zembala M., Grodzicki T. Sepsis caused by *Veillonella parvula* infection in a 17-year-old patient with X-linked agammaglobulinemia (Bruton's disease). J Clin Microbiol. 2006 Jul; 44 (7): 2655–6.
7. Boo T.W., Cryan B., O'Donnell A., Fahy G. Prosthetic valve endocarditis caused by *Veillonella parvula*. J Infect. 2005 Jan; 50 (1): 81–3.

8. *Marriott D., Stark D., Harkness J.* Veillonella parvula discitis and secondary bacteremia: a rare infection complicating endoscopy and colonoscopy? J Clin Microbiol. 2007 Feb; 45 (2): 672–4.
9. *Bhatti M.A., Frank M.O.* Veillonella parvula meningitis: case report and review of Veillonella infections. Clin Infect Dis. 2000 Sep; 31 (3): 839–40.
10. *Shah A., Panjabi C., Nair V., Chaudhry R., Thukral S.S.* Veillonella as a cause of chronic anaerobic pneumonitis. Int J Infect Dis. 2008 Nov; 12 (6): e115–7. doi: 10.1016/j.ijid.2008.03.018.
11. *Marchandin H., Teyssier C., de Buochberg M.S., Jean-Pierre H., Carriere C., Jumas-Bilak E.* Intra-chromosomal heterogeneity between the four 16S rRNA gene copies in the genus Veillonella: implications for phylogeny and taxonomy. Microbiology. 2003, 149: 1493–1501.
12. *Mashima I., Nakazawa F.* Identification of Veillonella to be tsuensis in tongue biofilm by using a species-specific primer pair. Anaerobe. 2013 Aug; 22: 77–81. doi: 10.1016/j.anaerobe.2013.04.015
13. *Kostrzewa M.* MALDI-TOF mass spectrometry in microbiology. Caister Academic Press, 2016. 200.
14. *Justesen U.S., Holm A., Knudsen E., Andersen L.B., Jensen T.G., Kemp M., Skov M.N., Gahrn-Hansen B., Møller J.K.* Species identification of clinical isolates of anaerobic bacteria: a comparison of two matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems. J Clin Microbiol. 2011 Dec; 49 (12): 4314–8. doi: 10.1128/JCM.05788-11.
15. *Fournier R., Wallet F., Grandbastien B., Dubreuil L., Courcol R., Neut C., Dessen R.* Chemical extraction versus direct smear for MALDI-TOF mass spectrometry identification of anaerobic bacteria. Anaerobe. 2012, 18: 294–297. doi: 10.1016/j.anaerobe.2012.03.008.
16. *Barreau M., Pagnier I., La Scola B.* Improving the identification of anaerobes in the clinical microbiology laboratory through MALDI-TOF mass spectrometry. Anaerobe. 2013 Aug; 22: 123–5. doi: 10.1016/j.anaerobe.2013.04.011.
17. *Fedorko D.P., Drake S.K., Stock F., Murray P.R.* Identification of clinical isolates of anaerobic bacteria using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012 Sep; 31 (9): 2257–62. doi: 10.1007/s10096-012-1563-4.
18. *Schmitt B.H., Cunningham S.A., Dailey A.L., Gustafson D.R., Patel R.* Identification of anaerobic bacteria by Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry with on-plate formic acid preparation. J Clin Microbiol. 2013 Mar; 51 (3): 782–6. doi: 10.1128/JCM.02420-12.
19. *Veloo A.C., Elgersma P.E., Friedrich A.W., Nagy E., van Winkelhoff A.J.* The influence of incubation time, sample preparation and exposure to oxygen on the quality of the MALDI-TOF MS spectrum of anaerobic bacteria. Clin Microbiol Infect. 2014 Dec; 20 (12): O1091–7. doi: 10.1111/1469-0691.12644.
20. *Определитель бактерий Берджи.* В 2 т. М.: Мир, 1997. Т. 1. 432.
21. *Brook I.* Veillonella infections in children. J Clin Microbiol. 1996 May; 34 (5): 1283–5.
22. *Reig M., Mir N., Baquero F.* Penicillin resistance in Veillonella. Antimicrob Agents Chemother. 1997 May; 41 (5): 1210.
23. *Nyfors S., Könönen E., Bryk A., Syrjänen R., Jousimies-Somer H.* Age-related frequency of penicillin resistance of oral Veillonella. Diagn Microbiol Infect Dis. 2003 Aug; 46 (4): 279–83.
24. *Ready D., Bedi R., Mullany P., Wilson M.* Penicillin and amoxicillin resistance in oral Veillonella spp. Int J Antimicrob Agents. 2012 Aug; 40 (2): 188–9. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.04.007.

Поступила 17.10.17
Принята в печать 26.12.17

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Терещенко Инна Васильевна, научный сотрудник лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: in.ter68@inbox.ru. SPIN-код: 3185-9586.

Григорьевская Злата Валерьевна, доктор медицинских наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: zlatadoc@list.ru. SPIN-код: 4416-5191.

Петухова Ирина Николаевна, доктор медицинских наук, ведущий научный сотрудник лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: irinapet@list.ru. SPIN-код: 1265-2875.

Шильникова Ирина Ивановна, кандидат биологических наук, старший научный сотрудник лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: iish54@mail.ru. SPIN-код: 9400-6222.

Григорьевский Евгений Дмитриевич, студент 6-го курса лечебного факультета, Первый Московский государственный медицинский университет им. И.М. Сеченова Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: mrjake916@gmail.

Терещенко Олеся Викторовна, студентка 5-го курса лечебного факультета, Российский национальный медицинский университет им. Н.И. Пирогова» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: invrtdforest@gmail.com.

Агинова Виктория Викторовна, преподаватель профессионального модуля «Проведение лабораторных микробиологических и иммунологических исследований», ГБПОУ ДЗМ «Медицинский колледж № 1», ФГБУ «РОНЦ им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: avkn@mail.ru.

Дмитриева Наталья Владимировна, доктор медицинских наук, профессор, руководитель лаборатории микробиологической диагностики и лечения инфекций в онкологии, ФГБУ «НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России (г. Москва, Россия). E-mail: prof.ndmitrieva@mail.ru. SPIN-код: 8217-2448.

Авторы данной статьи подтвердили отсутствие финансовой поддержки / конфликта интересов, о котором необходимо сообщить

ROLE OF GRAM-NEGATIVE ANAEROBIC COCCI BELONGING TO THE GENUS VEILLONELLA IN INFECTIOUS COMPLICATIONS IN CANCER PATIENTS

I.V. Tereshchenko¹, Z.V. Grigorievskaya¹, I.N. Petukhova¹, I.I. Shilnikova¹, E.D. Grigorievsky², O.V. Tereshchenko³, V.V. Aginova^{1,4}, N.V. Dmitrieva¹

N.N. Blokhin National Medical Research Cancer Center, Moscow, Russia¹

23, Kashirskoe shosse, 115478-Moscow, Russia. E-mail: in.ter68@inbox.ru¹

I.M. Sechenov First Moscow State Medical University, Moscow, Russia²

2/4, Bol'shaya Pirogovskaya Str., 119991-Moscow, Russia. E-mail: mrjake916@gmail²

N.I. Pirogov Russian National Research Medical University, Moscow, Russia³

1, Ostrovityanova Str., 117997-Moscow, Russia. E-mail: invrtforest@gmail.com³

Medical college № 1, Moscow, Russia⁴

6, Chuksin tupik, 127206-Moscow, Russia. E-mail: avkn@mail.ru⁴

Abstract

We studied capabilities of the Bruker Microflex MALDI-TOF device for species identification of anaerobic gram-negative cocci isolated from clinical specimens of cancer patients. Seventy clinical isolates of *Veillonella* spp. and one *Acidaminococcus* spp were analyzed. All isolates were identified to the species level with a scores greater than 1.9. The most common species were *V. parvula* (37 strains), followed by *V. dispar* (16), *V. atypica* (16) and *V. denticariosi* (1). Susceptibilities of the isolates were determined by the E-test methodology. All *Veillonella* isolates were susceptible to imipenem, whereas high resistance rates were observed for penicillin G, amoxicillin/clavulanate and metronidazole. The proportion of resistant isolates of *V. parvula*, *V. dispar* and *V. atypica* to penicillin was 86 %, 85 % and 100 %, respectively. The resistance to amoxicillin/clavulanate was observed in 28.6 % of *V. parvula* isolates, 23.1 % of *V. dispar* isolates and in 6.7 % of *V. atypica* isolates. Resistance to metronidazole (MIC \geq 8 μ g/ml) of *V. parvula*, *V. dispar* and *V. atypica* was 88.6 %, 53.8 % and 40 %, respectively.

Key words: *Veillonella* clinical isolates, anaerobic infections, MALDI-TOF MS, antimicrobial susceptibility, cancer patients.

REFERENCES

1. Finegold S.M., George W.L. Anaerobic infections in humans. Academic Press, New York, 1989.
2. Davydov M.I., Dmitrieva N.V. Infections in cancer patients. Moscow: Practical Medicine, 2009. 55–86. [in Russian]
3. Grigorievskaya Z.V. Treatment strategy for nosocomial infections caused by antibiotic-resistant pathogens in cancer patients [Doctoral thesis]. [Moscow]; 2015. 252. [in Russian]
4. Fisher R.G., Denison M.R. *Veillonella parvula* bacteremia without underlying source. J Clin Microbiol. 1996 Dec; 34 (12): 3235–6.
5. Liu J.W., Wu J.J., Wang L.R., Teng L.J., Huang T.C. Two fatal cases of *Veillonella* bacteremia. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 1998 Jan; 17 (1): 62–4.
6. Strach M., Siedlar M., Kowalczyk D., Zembala M., Grodzicki T. Sepsis caused by *Veillonella parvula* infection in a 17-year-old patient with X-linked agammaglobulinemia (Bruton's disease). J Clin Microbiol. 2006 Jul; 44 (7): 2655–6.
7. Boo T.W., Cryan B., O'Donnell A., Fahy G. Prosthetic valve endocarditis caused *Veillonella parvula*. J Infect. 2005 Jan; 50 (1): 81–3.
8. Marriott D., Stark D., Harkness J. *Veillonella parvula* discitis and secondary bacteremia: a rare infection complicating endoscopy and colonoscopy? J Clin Microbiol. 2007 Feb; 45 (2): 672–4.
9. Bhatti M.A., Frank M.O. *Veillonella parvula* meningitis: case report and review of *Veillonella* infections. Clin Infect Dis. 2000 Sep; 31 (3): 839–40.
10. Shah A., Panjabi C., Nair V., Chaudhry R., Thukral S.S. *Veillonella* as a cause of chronic anaerobic pneumonitis. Int J Infect Dis. 2008 Nov; 12 (6): e115–7. doi: 10.1016/j.ijid.2008.03.018.
11. Marchandin H., Teyssier C., de Buochberg M. S., Jean-Pierre H., Carriere C., Jumas-Bilak E. Intra-chromosomal heterogeneity between the four 16S rRNA gene copies in the genus *Veillonella*: implications for phylogeny and taxonomy. Microbiology. 2003, 149: 1493–1501.
12. Mashima I., Nakazawa F. Identification of *Veillonella* to be *tsuensis* in tongue biofilm by using a species-specific primer pair. Anaerobe. 2013 Aug; 22: 77–81. doi: 10.1016/j.anaerobe.2013.04.015
13. Kostrzewa M. MALDI-TOF mass spectrometry in microbiology. Caister Academic Press, 2016. 200.
14. Justesen U.S., Holm A., Knudsen E., Andersen L.B., Jensen T.G., Kemp M., Skov M.N., Gahrn-Hansen B., Møller J.K. Species identification of clinical isolates of anaerobic bacteria: a comparison of two matrix assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry systems. J Clin Microbiol. 2011 Dec; 49 (12): 4314–8. doi: 10.1128/JCM.05788-11.
15. Fournier R., Wallet F., Grandbastien B., Dubreuil L., Courcol R., Neut C., Desein R. Chemical extraction versus direct smear for MALDI-TOF mass spectrometry identification of anaerobic bacteria. Anaerobe. 2012, 18: 294–297. doi: 10.1016/j.anaerobe.2012.03.008.
16. Barreau M., Pagnier I., La Scola B. Improving the identification of anaerobes in the clinical microbiology laboratory through MALDI-TOF mass spectrometry. Anaerobe. 2013 Aug; 22: 123–5. doi: 10.1016/j.anaerobe.2013.04.011.
17. Fedorko D.P., Drake S.K., Stock F., Murray P.R. Identification of clinical isolates of anaerobic bacteria using matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012 Sep; 31 (9): 2257–62. doi: 10.1007/s10096-012-1563-4.
18. Schmitt B.H., Cunningham S.A., Dailey A.L., Gustafson D.R., Patel R. Identification of anaerobic bacteria by Bruker Biotyper matrix-assisted laser desorption ionization-time of flight mass spectrometry with on-plate formic acid preparation. J Clin Microbiol. 2013 Mar; 51 (3): 782–6. doi: 10.1128/JCM.02420-12.
19. Veloo A.C., Elgersma P.E., Friedrich A.W., Nagy E., van Winkelhoff A.J. The influence of incubation time, sample preparation and exposure to oxygen on the quality of the MALDI-TOF MS spectrum of anaerobic bacteria. Clin Microbiol Infect. 2014 Dec; 20 (12): O1091–7. doi: 10.1111/1469-0691.12644.
20. Bergey's Manual of Systematic Bacteriology. Vol. 1. Moscow, 1997. 432. [in Russian]
21. Brook I. *Veillonella* infections in children. J Clin Microbiol. 1996 May; 34 (5): 1283–5.

22. Reig M., Mir N., Baquero F. Penicillin resistance in *Veillonella*. *Antimicrob Agents Chemother*. 1997 May; 41 (5): 1210.

23. Nyfors S., Könönen E., Bryk A., Syrjänen R., Jousimies-Somer H. Age-related frequency of penicillin resistance of oral *Veillonella*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2003 Aug; 46 (4): 279–83.

24. Ready D., Bedi R., Mullany P., Wilson M. Penicillin and amoxicillin resistance in oral *Veillonella* spp. *Int J Antimicrob Agents*. 2012 Aug; 40 (2): 188–9. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2012.04.007.

Received 17.10.17
Accepted 26.12.17

ABOUT THE AUTHORS

Inna V. Tereshchenko, Research fellow, Laboratory of Microbiological Diagnostics and Management of Infections in Cancer Patients, N.N. Blokhin National Medical Research Cancer Center (Moscow, Russia). E-mail: in.ter68@inbox.ru. SPIN-code: 3185-9586.

Zlata V. Grigorievskaya, MD, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Microbiological Diagnostics and Management of Infections in Cancer Patients, N.N. Blokhin National Medical Research Cancer Center (Moscow, Russia). E-mail: zlatadoc@list.ru. SPIN-code: 4416-5191.

Irina N. Petukhova, MD, DSc, Leading Research Scientist, Laboratory of Microbiological Diagnostics and Management of Infections in Cancer Patients, N.N. Blokhin National Medical Research Cancer Center (Moscow, Russia). E-mail: irinapet@list.ru. SPIN-code: 1265-2875.

Irina I. Shilnikova, MD, DSc, Senior Researcher, Laboratory of Microbiological Diagnostics and Management of Infections in Cancer Patients, N.N. Blokhin National Medical Research Cancer Center (Moscow, Russia). E-mail: iish54@mail.ru. SPIN-code: 9400-6222.

Evgeny D. Grigorievsky, 6-th year student, I.M. Sechenov First Moscow State Medical University (Moscow, Russia). E-mail: mrjake916@gmail.

Olesya V. Tereshchenko, 5-th year student, N.I. Pirogov Russian National Research Medical University (Moscow, Russia) E-mail: invrtdforest@gmail.com.

Viktoria V. Aginova, Lecturer, Medical college № 1 (Moscow, Russia). E-mail: avkn@mail.ru.

Natalia V. Dmitrieva, MD, DSc, Professor, Head of the Laboratory of Microbiological Diagnostics and Management of Infections in Cancer Patients, N.N. Blokhin National Medical Research Cancer Center (Moscow, Russia). E-mail: prof.ndmitrieva@mail.ru. SPIN-code: 8217-2448.

Authors declare lack of the possible conflicts of interests