

DOI: 10.32364/2618-8430-2020-3-4-295-301

Частота распространения устойчивых к карбапенемам штаммов грамотрицательных бактерий в многопрофильном детском стационаре

Л.Г. Боронина^{1,2}, Е.В. Саматова², С.М. Блинова¹, М.П. Кукушкина²,
С.А. Панова², С.С. Устюгова²

¹ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России, Екатеринбург, Россия

²ГАУЗ СО «ОДКБ», Екатеринбург, Россия

РЕЗЮМЕ

Цель исследования: определение частоты обнаружения карбапенемазопroduцирующих штаммов грамотрицательных бактерий в биопробах госпитализированных детей.

Материал и методы: с января по декабрь 2019 г. из клинического материала, взятого у 900 пациентов, выделено 940 штаммов грамотрицательных бактерий. Определение антибиотикочувствительности проводили диско-диффузионным методом на анализаторах SENSITITRE и Phoenix M50, использовали среду CHROMagar™ KPC, для выявления продукции карбапенемаз применяли метод инактивации карбапенемов.

Результаты исследования: видовой состав карбапенем-устойчивых штаммов грамотрицательных бактерий включал: *Pseudomonas aeruginosa* (n=55), *Acinetobacter baumannii* (n=22), *Escherichia coli* (n=2), *Klebsiella pneumoniae* (n=40), *Klebsiella oxytoca* (n=1), *Enterobacter cloacae* (n=7), *Serratia marcescens* (n=2), *Proteus mirabilis* (n=2), *Pseudomonas putida* (n=1). Было показано, что 12,1% всех изолятов порядка *Enterobacteriales* и 29,4% штаммов *K. pneumoniae* были устойчивы к эртапенему; к имипенему и меропенему были устойчивы 17,2% энтеробактерий и 20% штаммов *K. pneumoniae*; 50,9% штаммов *P. aeruginosa* были устойчивы к меропенему и имипенему, к дорипенему — 45%. Штаммы *A. baumannii* оказались устойчивы к меропенему в 66,6% случаев, к имипенему — в 63,6%, дорипенему — в 83,3%. У 30,4% штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii* продукция карбапенемазы не была выявлена, что свидетельствует о других механизмах резистентности к карбапенемам.

Заключение: фенотипические методы в большинстве случаев лишь позволяют заподозрить наличие тех или иных механизмов приобретенной резистентности. Однако, поскольку основным, наиболее частым механизмом является выработка гидролитических ферментов, выявление механизмов резистентности к карбапенемам должно быть направлено именно на это. В настоящее время помимо фенотипических методов оптимальным является использование молекулярных методов, в частности полимеразной цепной реакции в реальном времени, для осуществления эффективного надзора за распространением продуцентов карбапенемаз.

КЛЮЧЕВЫЕ СЛОВА: *Enterobacteriales*, неферментирующие грамотрицательные бактерии, карбапенемазы, дети, инфекция.

ДЛЯ ЦИТИРОВАНИЯ: Боронина Л.Г., Саматова Е.В., Блинова С.М. и др. Частота распространения устойчивых к карбапенемам штаммов грамотрицательных бактерий в многопрофильном детском стационаре. РМЖ. Мать и дитя. 2020;3(4):295–301. DOI: 10.32364/2618-8430-2020-3-4-295-301.

Incidence of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in the multidisciplinary pediatric hospital

L.G. Boronina^{1,2}, E.V. Samatova², S.M. Blinova¹, M.P. Kukushkina², S.A. Panova², S.S. Ustyugova²

¹Ural State Medical University, Ekaterinburg, Russian Federation

²Regional Children's Clinical Hospital, Ekaterinburg, Russian Federation

ABSTRACT

Aim: to define the incidence of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* in the bioassay of hospitalized children.

Patients and Methods: From January to December 2019, 940 strains of gram-negative bacteria were isolated from clinical material of 900 patients. Antibiotic susceptibility testing was conducted using the disk diffusion method; SENSITITRE and Phoenix M50 analyzers used «CHROMagar™ KPC» medium. Also, Carbapenem Inactivation Method was used to detect the carbapenemase activity.

Results: the species composition of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae* included: *Pseudomonas aeruginosa* (n=55), *Acinetobacter baumannii* (n=22), *Escherichia coli* (n=2), *Klebsiella pneumoniae* (n=40), *Klebsiella oxytoca* (n=1), *Enterobacter cloacae* (n=7), *Serratia marcescens* (n=2), *Proteus mirabilis* (n=2), *Pseudomonas putida* (n=1). 12.1% of all *Enterobacteriales* isolates and 29.4% *Klebsiella pneumoniae* strains were resistant to ertapenem; 17.2% of *Enterobacteriaceae* and 20% of *K. pneumoniae* strains were resistant to imipenem and meropenem. 50.9% of *Pseudomonas aeruginosa* strains were resistant to meropenem and imipenem, and 45% — to doripenem. *Acinetobacter baumannii* strains resistant to meropenem — 66.6%, imipenem — 63.6%, doripenem — 83.3%. In 30.4% of *P. aeruginosa* and *A. baumannii* strains, carbapenemase activity was not detected, which indicated other mechanisms of resistance to carbapenem.

Conclusion: in most cases, phenotypic methods only allow to suspect the presence of certain mechanisms of acquired resistance. However, since the main, most common mechanism is the production of hydrolytic enzymes, the identification of mechanisms of resistance to carbapenems should be precisely directed at this. At present, in addition to phenotypic methods, it is optimal to use molecular methods, in particular, real-time PCR, to effectively monitor the distribution of carbapenemase producers.

KEYWORDS: Enterobacterales, non-fermenting gram-negative bacteria, carbapenemases, children, infection.

FOR CITATION: Boronina L.G., Samatova E.V., Blinova S.M. et al. Incidence of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae in the multidisciplinary pediatric hospital. Russian Journal of Woman and Child Health. 2020;3(4):295–301. DOI: 10.32364/2618-8430-2020-3-4-295-301.

ВВЕДЕНИЕ

Резистентность бактерий к антибиотикам является проблемой во всем мире. Одним из важнейших ее аспектов считается появление и распространение устойчивости грамотрицательных микроорганизмов к карбапенемам, которые ранее считались одними из надежных антимикробных препаратов (АМП) в большинстве клинических случаев, особенно при серьезных нозокомиальных инфекциях [1, 2]. Среди грамотрицательных бактерий наиболее частыми возбудителями внутрибольничных инфекций, в т. ч. сепсиса, пневмонии, инфекций мочевыводящих путей, являются представители порядка *Enterobacterales*, среди которых лидируют, несомненно, *Klebsiella pneumoniae* и неферментирующие грамотрицательные бактерии — *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* [3].

Снижение чувствительности энтеробактерий к карбапенемам может быть связано с гиперпродукцией хромосомных β -лактамаз Amp C или β -лактамаз расширенного спектра в сочетании с нарушением проницаемости клеточной стенки, потерей пориновых каналов, а также с ферментативной инактивацией антибиотика за счет продукции карбапенемаз [2]. В свою очередь, устойчивость *P. aeruginosa* к карбапенемам может быть также связана с нарушением транспорта препарата внутрь клетки в результате мутаций, ведущих к потере импеп-не-специфического мембранного порина OprD [1]. Однако считается, что преимущественно резистентность к карбапенемам обусловлена продукцией карбапенемаз. Причины нечувствительности к данной группе антибиотиков у *A. baumannii* разнообразны и включают в себя также изменение проницаемости наружной клеточной мембраны, эффлюкс, продукцию приобретенных карбапенемаз (металло- β -лактамазу и ОХА-карбапенемаз), гиперпродукцию видоспецифических β -лактамаз (ОХА-51 и родственных ферментов) [4].

В феврале 2017 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) впервые представила перечень резистентных микроорганизмов, представляющих огромную опасность для общественного здоровья, где среди грамотрицательных бактерий лидируют карбапенемазорезистентные штаммы *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, а также представители порядка *Enterobacterales*, продуцирующие β -лактамазы расширенного спектра и карбапенемазы [5]. Важным является тот факт, что гены, ответственные за продукцию карбапенемаз, часто входят в состав интегронов, легко встраивающихся в плазмиды и транспозоны. Обмен мобильными генетическими элементами внутри популяции одного вида, а также между различными видами бактерий приводит к быстрому распространению устойчивых штаммов [1, 3].

Условием повышения качества оказания медицинской помощи и предотвращения возникновения и распространения инфекционных заболеваний, в частности инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи,

является раннее выявление грамотрицательных бактерий, продуцирующих карбапенемазы, путем постоянного мониторинга антибиотикорезистентности возбудителей инфекции.

Целью нашего исследования явилось определение частоты обнаружения карбапенемазопродуцирующих штаммов грамотрицательных бактерий (*A. baumannii* и *P. aeruginosa*, порядка *Enterobacterales*) в биопробах госпитализированных детей.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В период с января по декабрь 2019 г. было исследовано 6100 проб различного клинического материала (кроме образцов кала) 2483 пациентов ГАУЗ СО «Областная детская клиническая больница», госпитализированных в отделение анестезиологии и реанимации, отделение анестезиологии и реанимации и интенсивной терапии новорожденных и недоношенных детей № 2, онкогематологический центр, отделение патологии недоношенных, отделение торакальной хирургии и хирургическое отделение для новорожденных больных, нефрологическое и неврологическое отделения.

Отбор клинического материала и бактериологическое исследование проводили согласно общепринятым методам [6].

Для посева крови, забранной из интактной вены и (или) катетера, использовались: системы для гемокультур Signal (Oxoid, Великобритания), флаконы для автоматического анализатора гемокультур ВАСТЕС™FX (Becton Dickinson, США), бульон с сердечно-мозговым экстрактом с 0,025% SPS, CO₂ и вакуумом (Conda, Испания). При культуральном исследовании спинномозговой жидкости использовали модифицированный посев согласно нормативной документации [7]: чашки с шоколадным и кровяно-сывороточным агаром (оригинальные рецепты) [8, 9] инкубировали при 35 °С в атмосфере 5% CO₂ в течение 48 ч; 0,1% полужидкий сывороточный агар при 37 °С в течение 5 сут с ежедневным наблюдением. Посев катетеров осуществлялся полуквантитативным методом по D. Makі на кровяно-сывороточный агар (инкубировали при 37 °С в атмосфере 5% CO₂ в течение 72 ч) и погружением катетера в сахарный бульон для изучения его внутреннего канала (инкубация при 37 °С в течение 3 сут с ежедневным наблюдением). Пунктаты и экссудаты засеивали на кровяно-сывороточный агар (инкубация при 37 °С в атмосфере O₂ в течение 48 ч), кровяно-сывороточный агар (свежеприготовленный, инкубация при 37 °С в анаэробных условиях в течение 7 сут), прорегенерированную тиогликолевую среду и двухфазную среду, включающую твердый питательный агар и бульон (инкубация при 37 °С в атмосфере O₂ в течение 5 сут) с ежедневным наблюдением. На питательные среды Эндо, желточно-солевой, кровяно-сывороточный, шоколадный агары (помещаются в атмосферу 5% CO₂) и агар Сабуро

осуществлялся посев мокроты и бронхоальвеолярного лаважа количественным методом, а содержимого трахеи — полуколичественным [10]. Пробы с отделяемым ран, конъюнктивы дополнительно засеивали на прорегенерированную тиогликолевую среду. Посев мочи осуществлялся по методу Айзенберга на 5% кровяной агар [11]. Идентификацию выделенных микроорганизмов проводили классическим бактериологическим методом, а также на полуавтоматическом анализаторе АТВ Expression (bioMerieux, Франция) и автоматическом анализаторе Phoenix M50 (Becton Dickinson, США). Определение антибиотикочувствительности проводили как диско-диффузионным методом, так и на полуавтоматическом SENSITITRE (TREC Diagnostic Systems, США/Великобритания) и автоматическом Phoenix M50 (Becton Dickinson, США) анализаторах с определением минимальных подавляющих концентраций. Выполнение и оценка антибиотикочувствительности диско-диффузионным методом проводились в соответствии с действующей нормативной документацией [12]. Для выявления продукции карбапенемаз без их дифференциации у *P. aeruginosa* и представителей порядка *Enterobacterales* применялся фенотипический метод инактивации карбапенемов (Carbapenem Inactivation Method, CIM) [13]. Для обнаружения грамотрицательных бактерий, резистентных к карбапенемам, независимо от механизма резистентности при первичном посеве клинического материала онкологических больных использовали среду CHROMagar™ KPC (DRG, Франция).

РЕЗУЛЬТАТЫ ИССЛЕДОВАНИЯ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Согласно информации, представленной экспертами ВОЗ, к группе первоочередной важности среди резистентных грамотрицательных бактерий отнесены *A. baumannii*, *P. aeruginosa* и представители порядка *Enterobacterales*, поэтому в исследование включены штаммы указанных видов и порядка.

Источниками выделения этих изолятов были кровь (n=8), спинномозговая жидкость (n=2), содержимое трахеи (n=67), моча (n=36), отделяемое ран (n=10) и конъюнктивы (n=2), мокрота (n=4), выпот из плевральной полости (n=1), отделяемое из ротоглотки (n=1), аутопсийный материал — ткань легких (n=1).

С января по декабрь 2019 г. из клинического материала 900 пациентов было выделено 940 штаммов грамотрицательных бактерий (табл. 1). Небольшая доля протестированных на чувствительность к дорипенему изолятов обусловлена тем, что этот АМП входит только в часть коммерческих панелей, использованных в работе. Суммарная доля карбапенемонечувствительных штаммов грамотрицательных бактерий (резистентные и умеренно резистентные к меропенему и (или) имипенему у *P. aeruginosa*, *A. baumannii* или эртапенему у энтеробактерий) составила 14% (n=132). Устойчивость представителей порядка *Enterobacterales* к эртапенему составила 12,1%, что ниже, чем в целом по России (23,6%) [14, 15]. Наиболее высокая частота нечувствительности к данному АМП была отмечена среди изолятов *K. pneumoniae* — 29,4%, что все равно ниже, чем показатели в целом по России (41,6%) [15]. Среди всех изолятов энтеробактерий устойчивость к имипенему и меропенему проявляли 17,2% и 20% соответственно, среди

изолятов *K. pneumoniae* — 35,5% и 44,7% соответственно. Полученная в нашем исследовании частота распространения устойчивых к имипенему и меропенему штаммов *K. pneumoniae* выше общероссийских показателей. В целом по России резистентность для всех энтеробактерий к имипенему составляла 6,9%, к меропенему — 6,5%, для изолятов *K. pneumoniae* — 11,9% и 12,2% соответственно [15]. Это можно объяснить тем, что при определении чувствительности к карбапенемам у представителей порядка *Enterobacterales* диско-диффузионным методом в первую очередь тестировался эртапенем; некоторые изоляты, обладающие β-лактамазами расширенного спектра и AmpC, могут проявлять устойчивость к нему и в отсутствие карбапенемаз [16]. При выявлении умеренной резистентности или резистентности у энтеробактерий к эртапенему определялась чувствительность к меропенему и имипенему, а также проводился СИМ-тест. Доли штаммов *P. aeruginosa*, устойчивых к меропенему и имипенему, были по 50,9% соответственно, к дорипенему — 45%, что в целом ниже, чем по России (согласно данным исследования «МАРАФОН» 2015–2016 гг., доля резистентных изолятов к имипенему составляла 67,5%, к меропенему — 55,5%) [17]. Доля штаммов *A. baumannii*, устойчивых к меропенему, составляла 66,6%, к имипенему — 63,6%, к дорипенему — 83,3%, что было ниже, чем по России в целом (по данным исследования «МАРАФОН» 2015–2016 гг., доля резистентных изолятов к имипенему равнялась 77,5%, к меропенему — 77,2%) [18], но выше, чем по отдельным городам. Так, в многопрофильных стационарах Санкт-Петербурга доля меропенем-устойчивых штаммов *A. baumannii* составила 41,4%, а имипенем-устойчивых — приблизилась к 50% [19].

Видовой состав карбапенем-устойчивых штаммов грамотрицательных бактерий включал: *P. aeruginosa* (n=55), *A. baumannii* (n=22), *Escherichia coli* (n=2), *K. pneumoniae* (n=40), *Klebsiella oxytoca* (n=1), *Enterobacter cloacae* (n=7), *Serratia marcescens* (n=2), *Proteus mirabilis* (n=2), *Pseudomonas putida* (n=1).

Устойчивые (резистентные и умеренно резистентные) к карбапенемам изоляты выделялись у пациентов преимущественно со следующими диагнозами: оперированный врожденный порок сердца, врожденные пороки развития, острый лейкоз, саркома, поражение центральной нервной системы, бронхолегочная дисплазия, пневмония, хронический обструктивный бронхит, хроническая почечная недостаточность, инфекция мочевыводящих путей. Таким образом, можно сделать заключение, что такие штаммы наиболее часто выделяются у пациентов: 1) длительно и неоднократно находящихся на лечении в стационаре, и, как правило, не в одном; 2) подвергшихся полостным операциям; 3) получающих массивную антибактериальную терапию; 4) паллиативных пациентов.

Все штаммы *P. aeruginosa*, устойчивые к карбапенемам, были резистентны или умеренно резистентны к меропенему и имипенему. Один изолят *A. baumannii* был умеренно резистентным к меропенему, но чувствительным к имипенему. Мы установили, что 67,5% штаммов *K. pneumoniae* были одновременно устойчивы ко всем карбапенемам: эртапенему, меропенему и имипенему, что, вероятно, вызовет необходимость тестирования *K. pneumoniae* на чувствительность ко всем трем АМП одновременно. У пяти пациентов одновременно были обнаружены несколько

Таблица 1. Чувствительность штаммов грамотрицательных бактерий к карбапенемам

Table 1. Sensitivity of gram-negative bacteria strains to carbapenems

№ п/п	Название / вид микроорганизма Microorganism name / spp.	Всего выделенных штаммов Total isolated strains	Всего пациентов Total patients	Количество штаммов, протестированных на чувствительность к карбапенемам Number of strains tested for sensitivity to carbapenems	S*	I**	R***	
1	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	202	183	меропенем / meropenem	108	53	15	40
				имипенем / imipenem	108	53	9	46
				дорипенем / doripenem	20	11	0	9
2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	62	62	меропенем / meropenem	33	11	1	21
				имипенем / imipenem	33	12	0	21
				дорипенем / doripenem	6	1	0	5
3	<i>Escherichia coli</i>	236	227	эртапенем / ertapenem	166	164	1	1
				меропенем / meropenem	34	34	0	0
				имипенем / imipenem	34	34	0	0
4	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	225	216	эртапенем / ertapenem	136	96	5	35
				меропенем / meropenem	76	42	5	29
				имипенем / imipenem	76	49	1	26
5	<i>Klebsiella oxytoca</i>	41	40	эртапенем / ertapenem	28	27	0	1
				меропенем / meropenem	12	11	0	1
				имипенем / imipenem	12	11	0	1
6	<i>Enterobacter cloacae</i>	69	67	эртапенем / ertapenem	55	48	4	3
				меропенем / meropenem	28	27	0	1
				имипенем / imipenem	28	28	0	0
7	<i>Enterobacter aerogenes</i>	5	5	эртапенем / ertapenem	3	3	0	0
				меропенем / meropenem	2	2	0	0
				имипенем / imipenem	2	2	0	0
8	<i>Serratia marcescens</i>	55	55	эртапенем / ertapenem	25	23	1	1
				меропенем / meropenem	19	19	0	0
				имипенем / imipenem	19	18	1	0
9	<i>Proteus mirabilis</i>	23	23	эртапенем / ertapenem	18	15	1	1
				меропенем / meropenem	5	5	0	0
				имипенем / imipenem	5	3	2	0
10	<i>Proteus vulgaris</i>	4	4	эртапенем / ertapenem	3	3	0	0
				меропенем / meropenem	1	1	0	0
				имипенем / imipenem	1	1	0	0
11	<i>Morganella morganii</i>	5	5	эртапенем / ertapenem	3	3	0	0
				меропенем / meropenem	1	1	0	0
				имипенем / imipenem	1	1	0	0
12	<i>Citrobacter freundii</i>	5	5	эртапенем / ertapenem	3	3	0	0
				меропенем / meropenem	1	1	0	0
				имипенем / imipenem	1	1	0	0
13	<i>Citrobacter koseri (diversus)</i>	5	5	эртапенем / ertapenem	3	3	0	0
				меропенем / meropenem	1	1	0	0
				имипенем / imipenem	1	1	0	0
14	<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	1	эртапенем / ertapenem	1	1	0	0
15	<i>Pseudomonas putida</i>	2	2	меропенем / meropenem	2	1	0	1
				имипенем / imipenem	2	1	0	1

Примечание. * S — чувствительные; ** I — умеренно резистентные; *** R — резистентные.

Note: * S — sensitive; ** I — moderate resistance; *** R — resistant.

видов грамотрицательных бактерий, устойчивых к карбапенемам: *P. aeruginosa* + *A. baumannii* (n=2), *K. pneumoniae* + *P. aeruginosa* (n=3). Все эти пациенты находились в отделении анестезиологии и реанимации с диагнозами: хронический обструктивный бронхит, бронхолегочная дисплазия, острое поражение центральной нервной системы, острая гнойно-деструктивная пневмония.

Часто карбапенемазопродуцирующие штаммы грамотрицательных бактерий имеют фенотип множественной резистентности к антимикробным препаратам (multiple drug resistance, MDR), т. е. нечувствительны как минимум к трем АМП, относящимся к различным классам [3]. В нашем исследовании такие штаммы были среди *P. aeruginosa* (n=32), *A. baumannii* (n=15) и *K. pneumoniae* (n=29). Главным образом такие изоляты обнаружены у детей отделений анестезиологии и реанимации, онкогематологических больных и пациентов, находящихся на гемодиализе при хронической почечной недостаточности.

Для определения экстремальной лекарственной резистентности (extensively drug resistance, XDR) или панрезистентности (pandrug resistance, PDR), согласно экспертной группе Европейского общества по клинической микробиологии и инфекционным заболеваниям (European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), у бактерий порядка *Enterobacterales* предложено использовать 17 групп АМП, содержащих 28 АМП, у *P. aeruginosa* — 8 групп (17 АМП) и у *A. baumannii* — 9 групп (22 АМП) [3]. В лаборатории такое количество антибиотиков рутинно не тестируется, поэтому достоверно выявить количество штаммов с XDR- и PDR-фенотипом резистентности в нашем исследовании не удалось.

При определении продукции карбапенемаз наиболее распространенными из фенотипических методов являются ограничения: так, СИМ-тест рассчитан на определение карбапенемаз у представителей порядка *Enterobacterales* и *P. aeruginosa* [2].

Не один фенотипический метод не обладает 100% чувствительностью. По литературным данным, СИМ-тест обладает чувствительностью 82% [2, 20]. Существует метод, когда для приготовления суспензии тестируемого изолята стерильную дистиллированную воду или 0,9% физиологический раствор заменяют на триптиказо-соевый бульон, что повышает чувствительность до 93%, но в рутинной практике этот дорогостоящий метод не используется [2]. В настоящее время «золотым стандартом» обнаружения продуцентов карбапенемаз являются молекулярные методы [2].

Для быстрого выявления продукции карбапенемаз может применяться хромогенная среда CHROMagar KPC, чувствительность которой, по данным зарубежных исследователей, варьирует в широких пределах — от 43% до 100%. По результатам исследования НИИ антимикробной химиотерапии СГМУ чувствительность данной среды для выявления карбапенемаз класса D (OXA-48) составляет 87,7% [20]. Бесспорным преимуществом является то, что результат можно получить уже на следующий день с момента посева клинического материала.

У одного из штаммов *P. aeruginosa* СИМ-тест был положительный, другим фенотипическим методом (анализатором Phoenix M50) не выявлен факт наличия карбапенемаз, а при исследовании на хромогенной среде CHROMagar KPC культура *P. aeruginosa* дала рост, что

свидетельствует в пользу продукции карбапенемазы у данного штамма.

Из всех штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, протестированных фенотипическим методом, у 30,4% (*P. aeruginosa* [n=11] и *A. baumannii* [n=3]) продукция карбапенемазы не была выявлена, что скорее свидетельствует о других механизмах резистентности к карбапенемам.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Устойчивость представителей порядка *Enterobacterales* к эртапенему наблюдалась у 12,1% выделенных штаммов. Наиболее высокая частота нечувствительности к данному АМП была отмечена среди изолятов *K. pneumoniae* — в 29,4% случаев. Среди всех изолятов энтеробактерий устойчивость к имипенему и меропенему проявляли 17,2% и 20% штаммов соответственно. Мы установили, что 50,9% штаммов *P. aeruginosa* были устойчивы к меропенему и имипенему и 45% — к дорипенему. Штаммы *A. baumannii* были устойчивы к меропенему — в 66,6% случаев, к имипенему — в 63,6%, к дорипенему — в 83,3%. Из всех штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, протестированных фенотипическим методом, у 30,4% (*P. aeruginosa* [n=11] и *A. baumannii* [n=3]) продукция карбапенемазы не была выявлена, что скорее свидетельствует о других механизмах резистентности к карбапенемам. Фенотипические методы в большинстве случаев лишь позволяют заподозрить наличие тех или иных механизмов приобретенной резистентности. Однако, поскольку основным и наиболее частым механизмом является выработка гидролитических ферментов, выявление механизмов резистентности к карбапенемам должно быть направлено именно на это. В настоящее время помимо фенотипических методов оптимальным является использование молекулярных методов, в частности ПЦР в реальном времени, для осуществления эффективного надзора за распространением продуцентов карбапенемаз. Таким образом, успешная работа системы инфекционного контроля, включающая совместную работу бактериолога, клинического фармаколога и эпидемиолога, позволяет контролировать распространение резистентных штаммов, назначать этиотропную антибиотикотерапию и предотвращать нозокомиальное инфицирование.

Литература

1. Савинова Т.А., Лазарева А.В., Шамина О.В. и др. Генотипы и носительство металло-бета-лактамаз среди карбапенемазорезистентных *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных у детей г. Москвы. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2018;20(4):370–374.
2. Попов Д.А. Сравнительная характеристика современных методов определения продукции карбапенемаз. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(2):125–133.
3. Полищук А.Г., Якубович Е.И., Полухина О.В. и др. Карбапенемазопродуцирующие грамотрицательные бактерии в специализированном стационаре ФГБУ «Российский научный центр радиологии и хирургических технологий Санкт-Петербурга». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017;19(3):235–242.
4. Хрульнова С.А., Коробова А.Г., Федорова А.В. и др. Детекция генов, приобретенных карбапенемаз у изолятов *Acinetobacter baumannii*, выделенных из гемокультуры больных опухолями системы крови. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(1):56–60.

5. Козлов Р.С., Стецюк О.У., Андреева И.В. Цефтазидим-авибактам: новые «правила игры» против полирезистентных грамотрицательных бактерий. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2018;20(1):24–34.
6. Техника сбора и транспортирования биоматериалов в микробиологические лаборатории. Методические указания 4.2.2039–05. М.: Федеральный центр Госсанэпиднадзора Минздрава России; 2005.
7. Лабораторная диагностика менингококковой инфекции и гнойных бактериальных менингитов. Методические указания. М.: Федеральный центр гигиены и эпидемиологии Роспотребнадзора; 2017.
8. Патент 2 354 706 С2 Российская Федерация, МПК C12Q 1/20 C12Q 1/04 C12R 1/21. Питательная среда для выявления *H. influenzae* и способ ее получения / Л.Г. Боронина; заявитель и патентообладатель Боронина Любовь Григорьевна. № 2006136958/13; заявлен 18.10.2006; опубликован 05.10.05.2009 — 1 электрон. оп. диск (CD-ROM).
9. Патент 2 481 394 С2 Российская Федерация, МПК C12N 1/20C12Q 1/04C12R 1/01. Питательная среда для выделения, культивирования и определения гемолитических свойств бактерий из клинического материала / Л.Г. Боронина, Е.В. Саматова. заявитель и патентообладатель — ГБОУ ВПО «Уральская государственная медицинская академия Минздравсоцразвития России». № 2011128466/10; заявлен 08.07.11; опубликован 10.05.13, № 13 — 1 электрон. оп. диск (CD-ROM).
10. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях ЛПУ. Приказ МЗ СССР № 535 от 22.04.85. М.; 1985.
11. Essential procedures for clinical microbiology / editor in chief H.D. Isenberg. Washington, D.C.: ASPRESS; 1998.
12. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии. Клинические рекомендации. Версия 2018–03.
13. Zwaluw A., Haan G.N., Pluister K. et al. The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost alternative for Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram Negative Rjds. PLoSOne. 2015;10(3): e0123690.
14. Шайдуллина Э.Р., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных карбапенемазопродуцирующих штаммов Enterobacterales в России: результаты эпидемиологического исследования 2014–2016 гг. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2018;20(4):362–369.
15. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Иванчик Н.В. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacterales в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(2):147–159.
16. Руководство EUCAST по выявлению механизмов резистентности и резистентности, имеющей особое клиническое и/или эпидемиологическое значение. Версия 2.0.; 2017.
17. Эйдельштейн М.В., Шек Е.А., Сухорукова М.В. и др. Антибиотикорезистентность, продукция карбапенемаз и генотипы нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(2):160–170.
18. Шек Е.А., Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В. и др. Антибиотикорезистентность, продукция карбапенемаз и генотипы нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(2):171–180.
19. Светличная Ю.С. Распространение карбапенемустойчивых штаммов *A. baumannii* в многопрофильных стационарах Санкт-Петербурга. Медицинский альманах. 2015;(5):102–105.
20. Гаязова Д. Выявление микроорганизмов, продуцирующих карбапенемазы. (Электронный ресурс). URL: <https://fedlab.ru/upload/medialibrary/000/prezentatsii-/prezentatsii-samara/%D0%93%D0%B0%D1%8F%D0%B7%D0%BE%D0%B2%D0%B0.pdf> (дата обращения: 21.02.2020).

References

1. Savinova T.A., Lazareva A.V., Shamina O.V. et al. Genotypes and carriage of metallo-beta-lactamases among carbapenemase-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated in children of Moscow. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2018;20(4):370–374 (in Russ.).
2. Popov D.A. Comparative characteristics of modern methods for determining the production of carbapenemases. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2019;21(2):125–133 (in Russ.).
3. Polishchuk A.G., Yakubovich E.I., Polukhina O.V. et al. Carbapenemase-producing gram-negative bacteria in a specialized hospital of St. Petersburg Russian Scientific Center for Radiology and Surgical Technologies. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2017;19(3):235–242 (in Russ.).
4. Khrulnova S.A., Korobova A.G., Fedorova A.V. et al. Detection of genes acquired by carbapenemases in isolates of *Acinetobacter baumannii* isolated from the blood culture of patients with tumors of the blood system. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2019;21(1):56–60 (in Russ.).
5. Kozlov R.S., Stetsyuk O.U., Andreeva I.V. Ceftazidime-avibactam: new "rules of the game" against multiresistant gram-negative bacteria. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2018;20(1):24–34 (in Russ.).
6. The technique of collecting and transporting biomaterials in microbiological laboratories. Guidelines 4.2.2039–05. М.: Federal Center for Sanitary Inspection of the Ministry of Health of Russia; 2005 (in Russ.).
7. Laboratory diagnosis of meningococcal infection and purulent bacterial meningitis. Methodical instructions. М.: Federal Center for Hygiene and Epidemiology of Rospotrebnadzor; 2017 (in Russ.).
8. Pat. 2 354 706 C2 Russian Federation, IPC C12Q 1/20 C12Q 1/04 C12R 1/21. Nutrient medium for the detection of *H. influenzae* and its preparation / L.G. Boronina; Applicant and patent holder Lyubov G. Boronina. No. 2006136958/13; declared 10/18/2006; publ. 10/05/05/2009 — 1 electron.opt. disk (CD-ROM) (in Russ.).
9. Pat. 2 481 394 C2 Russian Federation, IPC C12N 1/20C12Q 1/04C12R 1/01. Nutrient medium for isolation, cultivation and determination of hemolytic properties of bacteria from clinical material / L.G. Boronina, E.V. Samatova. applicant and patent holder GBOU VPO "Ural State Medical Academy of the Ministry of Health and Social Development of Russia". No. 2011128466/10; declared 07/08/11; publ. 05/10/13, No. 13 — 1 electron. opt. disk (CD-ROM) (in Russ.).
10. On the unification of microbiological (bacteriological) research methods used in clinical diagnostic laboratories of hospitals. Order of the Ministry of Health of the USSR No. 535 of 04.22.85. М.; 1985 (in Russ.).
11. Essential procedures for clinical microbiology / editor in chief H.D. Isenberg. Washington, D.C.: ASPRESS; 1998.
12. Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. Interregional Association of Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. Clinical recommendations. Version 2018–03 (in Russ.).
13. Zwaluw A., Haan G.N., Pluister K. et al. The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost alternative for Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram Negative Rjds. PLoSOne. 2015;10(3): e0123690.
14. Shaidullina E.R., Eidelstein M.V., Skleenova E. Yu. et al. Antibiotic resistance of nosocomial carbapenemase-producing Enterobacterales strains in Russia: results of an epidemiological study 2014–2016. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2018;20(4):362–369 (in Russ.).
15. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Ivanchik N.V. et al. Antibiotic resistance of nosocomial Enterobacterales strains in Russian hospitals: results of a multicenter epidemiological study "MARAFON 2015–2016". Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2019;21(2):147–159 (in Russ.).
16. EUCAST Guidelines for the identification of resistance and resistance mechanisms of particular clinical and / or epidemiological significance. Version 2.0; 2017 (in Russ.).
17. Eidelstein M.V., Shek E.A., Sukhorukova M.V. et al. Antibiotic resistance, production of carbapenemases and genotypes of nosocomial strains of *Pseudomonas aeruginosa* in Russian hospitals: results of a multicenter epidemiological study "MARAFON 2015–2016". Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2019;21(2):160–170 (in Russ.).

18. Shek E.A., Sukhorukova M.V., Edelstein M.V. et al. Antibiotic resistance, production of carbapenemases and genotypes of nosocomial strains of *Acinetobacter* spp. in Russian hospitals: the results of the multicenter epidemiological study "MARAFON 2015–2016". *Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy*. 2019;21(2):171–180 (in Russ.).
19. Svetlichnaya Yu. S. Distribution of carbapenemic resistant strains of *A. baumannii* in multidisciplinary hospitals in St. Petersburg. *Medical almanac*. 2015;(5):102–105 (in Russ.).
20. Gayazova D. Identification of microorganisms producing carbapenemase. (Electronic resource). URL: <https://fedlab.ru/upload/medialibrary/000/prezentatsii-/prezentatsii-samara/%D0%93%D0%B0%D1%8F%D0%B7%D0%BE%D0%B2%D0%B0.pdf>. (Access date: 02.21.2020) (in Russ.).

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Боронина Любовь Григорьевна — д.м.н., профессор кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России; 620028, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3; ГАУЗ СО «ОДКБ»; 620149, Россия, г. Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, д. 32; ORCID iD 0000-0003-0152-962X.

Саматова Елена Валерьевна — к.м.н., врач-бактериолог лаборатории клинической микробиологии ГАУЗ СО «ОДКБ»; 620149, Россия, г. Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, д. 32; ORCID iD 0000-0003-3154-6201.

Блинова Светлана Михайловна — ассистент кафедры клинической лабораторной диагностики и бактериологии ФГБОУ ВО УГМУ Минздрава России; 620028, Россия, г. Екатеринбург, ул. Репина, д. 3; ORCID iD 0000-0003-4783-825X.

Кукушкина Марина Павловна — заведующая лабораторией клинической микробиологии ГАУЗ СО «ОДКБ»; 620149, Россия, г. Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, д. 32; ORCID iD 0000-0003-1980-9099.

Панова Светлана Анатольевна — врач-бактериолог лаборатории клинической микробиологии ГАУЗ СО «ОДКБ»; 620149, Россия, г. Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, д. 32; ORCID iD 0000-0003-4347-0929.

Устюгова Светлана Сергеевна — врач-бактериолог лаборатории клинической микробиологии ГАУЗ СО «ОДКБ»;

620149, Россия, г. Екатеринбург, ул. С. Дерябиной, д. 32; ORCID iD 0000-0002-0053-4884.

Контактная информация: Саматова Елена Валерьевна, e-mail: lavrinenko@eka-net.ru. **Конфликт интересов отсутствует. Прозрачность финансовой деятельности:** авторы не имеют финансовой заинтересованности в представленных материалах или методах. **Статья поступила 28.05.2020, поступила после рецензирования 25.08.2020, принята в печать 10.09.2020.**

ABOUT THE AUTHORS:

Lubov' G. Boronina — Dr. of Sci. (Med.), Professor of the Department of Clinical Pathology Laboratory and Bacteriology, Ural State Medical University: 3, Repina str., 620028, Russian Federation; Regional Children's Clinical Hospital: 32, S. Deryabinoy str., Ekaterinburg, 620149, Russian Federation; ORCID iD 0000-0003-0152-962X.

Elena V. Samatova — Cand. of Sci. (Med.), bacteriologist of the Clinical Microbiology Laboratory, Regional Children's Clinical Hospital: 32, S. Deryabinoy str., Ekaterinburg, 620149, Russian Federation; ORCID iD 0000-0003-3154-6201.

Svetlana M. Blinova — Assistant Professor of the Department of Clinical Pathology Laboratory and Bacteriology, Ural State Medical University: 3, Repina str., Ekaterinburg, 620028, Russian Federation; ORCID iD 0000-0003-4783-825X.

Marina P. Kukushkina — Head of the Clinical Microbiology Laboratory, Regional Children's Clinical Hospital: 32, S. Deryabinoy str., Ekaterinburg, 620149, Russian Federation; ORCID iD 0000-0003-1980-9099.

Svetlana A. Panova — bacteriologist of the Clinical Microbiology Laboratory, Regional Children's Clinical Hospital: 32, S. Deryabinoy str., Ekaterinburg, 620149, Russian Federation; ORCID iD 0000-0003-4347-0929.

Svetlana S. Ustyugova — bacteriologist of the Clinical Microbiology Laboratory, Regional Children's Clinical Hospital: 32, S. Deryabinoy str., Ekaterinburg, 620149, Russian Federation; ORCID iD 0000-0002-0053-4884.

Contact information: Elena V. Samatova, e-mail: lavrinenko@eka-net.ru. **Financial Disclosure:** no authors have a financial or property interest in any material or method mentioned. There is no conflict of interest. **Received 28.05.2020, revised 25.08.2020, accepted 10.09.2020.**