

МАРТИНОВИЧ Алексей Александрович

**ГЕНЕТИЧЕСКОЕ РАЗНООБРАЗИЕ И ФАРМАКОДИНАМИЧЕСКОЕ
ОБОСНОВАНИЕ ПРОГНОЗА РЕЗИСТЕНТНОСТИ К
АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ
ШТАММОВ *ACINETOBACTER SPP.* В РАЗЛИЧНЫХ РЕГИОНАХ
РОССИИ И БЕЛАРУСИ**

14.03.06 – фармакология, клиническая фармакология

03.02.03 - микробиология

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Смоленск -2010

Работа выполнена в лаборатории молекулярной диагностики и микробиологической лаборатории НИИ антимикробной химиотерапии ГОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

НАУЧНЫЙ РУКОВОДИТЕЛЬ

Доктор медицинских наук, профессор Козлов Роман Сергеевич

ОФИЦИАЛЬНЫЕ ОППОНЕНТЫ:

Доктор медицинских наук, профессор Ушкалова Елена Андреевна

Доктор медицинских наук Сидоренко Сергей Владимирович

ВЕДУЩАЯ ОРГАНИЗАЦИЯ

ГОУ ВПО «Самарский государственный медицинский университет Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию»

Защита диссертации состоится «___» _____ 2010 г. в _____ часов на заседании диссертационного совета Д 208.097.02 при ГОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (214019, г. Смоленск, ул. Крупской, д. 28)

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Смоленской государственной медицинской академии

Автореферат разослан «___» _____ 2010 г.

Ученый секретарь диссертационного совета,
доктор медицинских наук, профессор

Яйленко А. А.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы

Нозокомиальные инфекции являются основной инфекционной проблемой любого современного стационара (Rello J, 2002). Особенно остро этот вопрос стоит в отделениях со значительным потреблением антибиотиков, где нозокомиальная инфекция развивается у каждого пятого пациента и является основной причиной летальности (Alberti C, 2002). Одним из наиболее проблемных нозокомиальных возбудителей в зарубежных странах является *Acinetobacter* spp., при этом более 75% штаммов в Европе (Masterton R.G., 2005) и более 50% в США (Rhomborg PR, 2009) резистентны практически ко всем имеющимся антимикробным препаратам. Относительно высокую активность сохраняют карбапенемы, однако, благодаря продукции приобретённых карбапенемаз, и эти препараты теряют свою эффективность (Perez F., 2007). В связи с этим ведётся постоянный мониторинг резистентности к данной группе препаратов (Turner P.J., 2008). По данным российских исследователей, в нашей стране ежегодно отмечается порядка 2,5 млн. нозокомиальных инфекций (Акимкин В.Г., 2005). Причиной 15% из них в ОРИТ является *A. baumannii*, который более чем в 60% случаев является резистентным к трём и более группам антибиотиков. Группа карбапенемов сохраняет довольно неплохую активность, но некоторые штаммы проявляют устойчивость и к данным препаратам (Решедько Г.К., 2008). Масштабы распространения резистентности к карбапенемам, а также её механизмы на настоящий момент времени не изучены. Необходимо проведение крупного микробиологического исследования, которое помимо этого должно ответить на вопрос, какие препараты могут быть рекомендованы для включения в лекарственные формуляры и использованы в эмпирической терапии инфекций, вызванных полирезистентными ацинетобактерами, а какие следует исключить при данных инфекциях. Для возможности прогнозирования активности карбапенемов в будущем, необходима также оценка эпидемических свойств циркулирующих штаммов.

Цель исследования

Изучить с помощью современных методов генетическое разнообразие, динамику резистентности к антимикробным препаратам и распространённость карбапенемаз среди нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp., выделенных в отделениях с интенсивным потреблением антибиотиков, и разработать на этой основе рекомендации по оптимизации эмпирической и этиотропной терапии инфекций, вызванных этими микроорганизмами.

Задачи исследования

1. Оценить в динамике распространённость *Acinetobacter* spp. в общей структуре грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций.
2. Определить с помощью современных методов чувствительность *Acinetobacter* spp. к используемым и перспективным антимикробным препаратам.
3. Разработать технологию ПЦР в реальном времени для детекции приобретённых карбапенемаз молекулярного класса D у *Acinetobacter* spp.
4. Выявить распространённость металло-β-лактамаз и ОХА-карбапенемаз среди клинических штаммов *Acinetobacter* spp., нечувствительных к карбапенемам.
5. Оптимизировать протокол мультилокусного секвенирования-типирования *Acinetobacter baumannii* и с его помощью изучить генетическое разнообразие карбапенемазо-продуцирующих штаммов.

Научная новизна работы

Впервые:

1. Организована система мониторинга карбапенеморезистентных штаммов *Acinetobacter* spp., вызывающих нозокомиальные инфекции в стационарах 21 города 7 федеральных округов Российской Федерации и 2 городов Беларуси.
2. Дана оценка *in vitro* активности перспективных антимикробных препаратов в отношении нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp.
3. Разработан метод ПЦР в реальном времени для быстрого выявления генов приобретённых ОХА-карбапенемаз у *Acinetobacter* spp.
4. Изучена принадлежность карбапенеморезистентных штаммов *Acinetobacter* spp., вызывающих инфекции в стационарах России и Беларуси, к циркулирующим международным эпидемическим клонам.

Практическая значимость работы

1. Организованная система мониторинга карбапенеморезистентных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России и Беларуси является одним из направлений работы Научно-методического центра Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию по мониторингу антибиотикорезистентности.
2. Полученные фармакодинамические данные по активности различных классов и групп антимикробных препаратов позволяют прогнозировать резистентность нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в России и

предложить рекомендации по этиотропной и эмпирической терапии инфекций, вызываемых данным родом микроорганизмов.

3. Разработанный метод ПЦР в реальном времени и оптимизация протокола мультилокусного секвенирования-типирования *A. baumannii* позволяет расширить возможности лабораторий центров Госсанэпиднадзора и микробиологических лабораторий при лечебно-профилактических учреждениях по своевременному выявлению эпидемиологически опасных штаммов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. *Acinetobacter* spp. является вторым по частоте неферментирующим грамотрицательным возбудителем нозокомиальных инфекций в отделениях с интенсивным потреблением антибиотиков многопрофильных стационаров России.
2. Выявленная у *Acinetobacter* spp. в России и Беларуси продукция приобретённых ОХА-карбапенемаз и принадлежность к новым и известным эпидемическим клональным группам является неблагоприятным прогностическим признаком распространения карбапенеморезистентности в ближайшем будущем.
3. Перспективными препаратами для терапии инфекций, вызванных *Acinetobacter* spp., в настоящее время являются имипенем, дорипенем, меропенем и цефоперазон/сульбактам, а в будущем – колистин и полимиксин Б.

Внедрение результатов в практику

Практические рекомендации, разработанные в диссертации, используются в работе медико-профилактических учреждений гг. Екатеринбурга, Новосибирска, Москвы, Краснодара, Минска, Смоленска. Основные положения работы излагаются на семинарах и циклах повышения квалификации врачей и курсах усовершенствования лаборантов в НИИАХ ГОУ ВПО СГМА Росздрава, на конгрессах, конференциях и семинарах МАКМАХ, на практических занятиях и лекциях кафедры клинической фармакологии ГОУ ВПО СГМА Росздрава.

Апробация работы

Результаты исследования представлены на Международном конкурсе научно-исследовательских работ по антимикробной химиотерапии, памяти члена-корреспондента РАМН, д.м.н., профессора Л.С. Страчунского (Смоленск, 2007 г.), 35-й конференции молодых ученых СГМА (Смоленск, 2007 г.), Научно-практическом семинаре «Бета-лактамазы: значение и методы выявления» (Смоленск, 2007 г.),

Научно-практическом семинаре «Определение чувствительности к антибиотикам: практические аспекты и значение для клинической практики» (Смоленск, 2007 г.), XVIII конгрессе ЕССМID (Барселона, 2008 г.), III Национальном конгрессе терапевтов (Москва, 2008), курсах усовершенствования лаборантов (Смоленск, 2008, 2009 гг.), циклах повышения квалификации врачей-бактериологов (Смоленск, 2008, 2009 гг.), циклах повышения квалификации клинических фармакологов (Смоленск, 2008, 2009 гг.), XI Российском национальном конгрессе «Человек и лекарство» (Москва, 2009 г.), XIX конгрессе ЕССМID (Хельсинки, 2009 г.), XI Международном конгрессе МАКМАХ по антимикробной терапии (Москва, 2009 г), 37-й конференции молодых ученых СГМА (Смоленск, 2009 г.), XIX Национальном конгрессе по болезням органов дыхания (Москва, 2009), 49-й конференции ICAAC (Сан-Франциско, 2009 г.), Научно-практическом семинаре «Молекулярная бактериология: идентификация, типирование и выявление антибиотикорезистентности» (Смоленск, 2009 г.), совместном заседании сотрудников кафедр госпитальной педиатрии с курсом неонатологии ФПК и ППС, клинической фармакологии, микробиологии, поликлинической педиатрии, терапии педиатрического и стоматологического факультета, терапии ФПК и ППС, общественного здоровья и здравоохранения, травматологии и ортопедии, урологии, факультетской терапии, сотрудников НИИ антимикробной химиотерапии ГОУ ВПО «Смоленская медицинская академия Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию» (Смоленск, 2010 г.).

Публикации

По материалам диссертации опубликовано 6 научных работ, из них в ВАК рецензируемых журналах – 2, в зарубежных научных изданиях - 4, в центральных научных изданиях - 2.

Объем и структура диссертации

Диссертация изложена на 144 страницах машинописного текста и состоит из введения, обзора литературы, материалов и методов исследования, результатов и обсуждения собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций, списка литературы, который включает 27 отечественных и 257 иностранных источников. Материал иллюстрирован 15 таблицами, 35 рисунками, содержит 1 приложение.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Фенотипическое изучение микроорганизмов

В исследование включался клинический материал, полученный от пациентов с нозокомиальными инфекциями любой локализации, находящихся на госпитализации в лечебных учреждениях России и Беларуси. На каждый штамм *Acinetobacter* spp. заполнялась специально разработанная индивидуальная регистрационная карта. Для регистрации штаммов нами была создана база данных «КАРАТ» на основе программы M-Lab (НИИАХ, Смоленск). Повторные изоляты одного вида, полученные от одного пациента, в исследование не включались. Культуральное исследование клинического материала и предварительную идентификацию производили в локальных лабораториях, реидентификацию – в лаборатории НИИАХ ГОУ ВПО СГМА Росздрава на основании тинкториальных и биохимических свойств (Приказ №535, 1985). МПК антибиотиков устанавливались методом двойных серийных разведений в агаре Мюллера-Хинтон II (Becton Dickinson, США) химически чистых субстанций антибиотиков (BioRad, США). Результаты оценивали в соответствии с МУК 4.2.1890-04. Все микроорганизмы, в зависимости от полученной МПК, были разделены на чувствительных к определённому антибиотику и нечувствительных (умеренно-резистентные + резистентные). Контроль качества определения чувствительности производили с использованием референтных штаммов Американской коллекции типовых культур *P. aeruginosa* ATCC®27853, *E. coli* ATCC®25922 и *E. coli* ATCC®35218. Штаммы *Acinetobacter* spp., нечувствительные к карбапенемам, были изучены на продукцию металло-бета-лактамаз методом синергизма двойных дисков с ЭДТА.

Обработка данных и статистический анализ

Обработка данных и анализ результатов исследования были проведены с использованием программ Excel (Microsoft, США) и M-Lab (НИИАХ, Смоленск). Статистический анализ проводился в системе статистического анализа SAS (SAS Institute, США, версия 8.02 для Windows XP). Качественные признаки представлены в виде долей, процентных интервалов, абсолютных чисел. Сравнительный анализ качественных переменных проводился с помощью критерия Хи-квадрат, если более 20% ожидаемых частот были менее 5, то использовался точный двусторонний

критерий Фишера. Результат представлялся в виде критерия «р», различие считалось достоверным при $p < 0,0001$.

Генотипическое изучение *A. baumannii*

Наличие генов VIM- и IMP- лактамаз устанавливалось методом ПЦР (Шевченко О.В., 2007). Длина продуктов амплификации изучалась с помощью электрофореза (PowerPac Basic, BioRad, США) в 2% агарозном геле (peq Gold Universal agarose, peQ Lab GmbH, Германия) и $0,5^X$ TBE буфере (Sigma-Aldrich, Inc., США).

Разработка методики по выявлению приобретённых OXA-карбапенемаз осуществлялась на основе известных последовательностей генов *bla*_{OXA}: OXA-23 (№ GB - AJ132105), OXA-24 (№ GB - AJ239129), OXA-25 (№ № GB - AF201826), OXA-26 (№ GB - AF201827), OXA-27 (№ GB - AF201828), OXA-40 (№ GB - AF509241), OXA-49 (№ GB - AY288523) и OXA-58 (№ GB - DQ385607), полученных в базе данных NCBI с помощью программы CLC Combined Workbench 3 (CLC bio, Дания). Для дизайна праймеров использовали программы GeneRunner (Hastings Software Inc., США) и BioEdit (Isis Pharmaceuticals Inc., США). Проверка специфичности праймеров осуществлялась на сайте PubMed с помощью функции Primer-BLAST.

Выбор методики для мультилокусного секвенирования-типирования штаммов *A. baumannii* осуществлялся из двух работ: английской (Sergio Bartual, 2005) и французской (Keith Jolley, 2004). Большей достоверностью и дифференцирующей способностью характеризовался первый метод, но он имел ряд недостатков, которые ухудшали качество результатов реакции, а иногда и приводили к невозможности её постановки. Это: 1) отсутствие единого протокола амплификации и секвенирования; 2) вырожденность праймеров; 3) различные температурные режимы работы праймеров; 4) большая длина праймеров; 5) наличие описанных замен в местах посадки праймеров. Для усовершенствования методики было необходимо: а) разработать собственные праймеры, лишённые указанных недостатков; б) создать единый протокол амплификации и секвенирования; в) для сохранения преемственности, набор изучаемых генов, длину и состав анализируемых фрагментов оставить прежними.

Дизайн праймеров осуществлялся на основе известной последовательности генома штамма *A. baumannii* ATCC 17978, полученной в базе данных NCBI с помощью программы CLC Combined Workbench 3 (CLC bio, Дания). Разработка праймеров велась на программном обеспечении GeneRunner (Hastings Software Inc., США) и BioEdit (Isis Pharmaceuticals Inc., США). Проверка специфичности праймеров осуществлялась на сайте PubMed с помощью функции Primer-BLAST. Амплификацию про-

водили на термоциклере Chromo4 (Bio Rad Laboratories, США). Очистка продуктов амплификации для последующего секвенирования осуществлялась колонками (Promega Corporation, США) либо набором ферментов ExoSAP-IT (Fermentas, Канада). Секвенирование проходило на термоциклере DNA Engine PTC-200 (MJ Research Inc, США). Отмывка продуктов секвенирования осуществлялась этиловым спиртом (РосБио, Россия). Для анализа использовали секвенатор ABI PRISM 310 Genetic Analyzer (Applied Biosystems, США).

Результаты исследования и их обсуждение

География и сроки проведения исследования

Исследование проходило в 4 этапа. В 1997-1999 гг. изучалась грамотрицательная флора 29 ОПИТ 14 городов России, в 2002-2004 гг. - 33 ОПИТ 22 городов России, в 2006-2008 гг. - 36 стационаров различного профиля 26 городов России, расположенных в 7 федеральных округах. С 2008 г. нами была организована система мониторинга резистентных к карбапенемам *Acinetobacter* spp. в стационарах России и Беларуси. В её рамках к концу 2009 г. были получены штаммы из 7 стационаров 2 городов Беларуси и 7 стационаров 6 городов России. Всего в исследовании участвовало 74 стационара 35 городов (Рис. 1). Из них было получено



Рис. 1. География центров-участников исследования.

8167 штаммов микроорганизмов: 2787 в первый, 3042 во второй, 2224 в третий и 114 в четвёртый этапы исследования. Общее количество ацинетобактеров составило 1114 штаммов.

Структура нозокомиальных возбудителей в России и положение *Acinetobacter spp.*

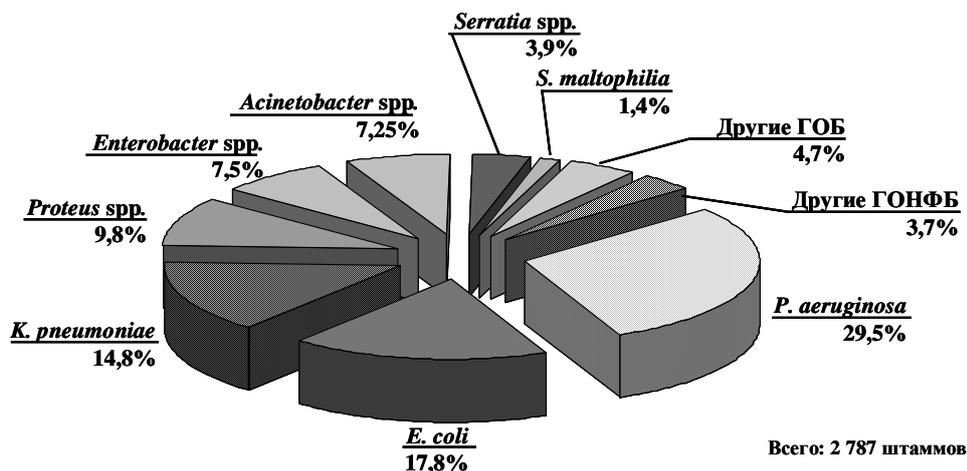


Рис. 2. Структура нозокомиальных патогенов в ОРИТ в 1997-1999 гг.

В 1997-1999 гг. частота выделения *Acinetobacter spp.* в ОРИТ России составляла 7,25% и он являлся шестым по значимости нозокомиальным патогеном после *P. aeruginosa* и ряда энтеробактерий (Рис. 2).

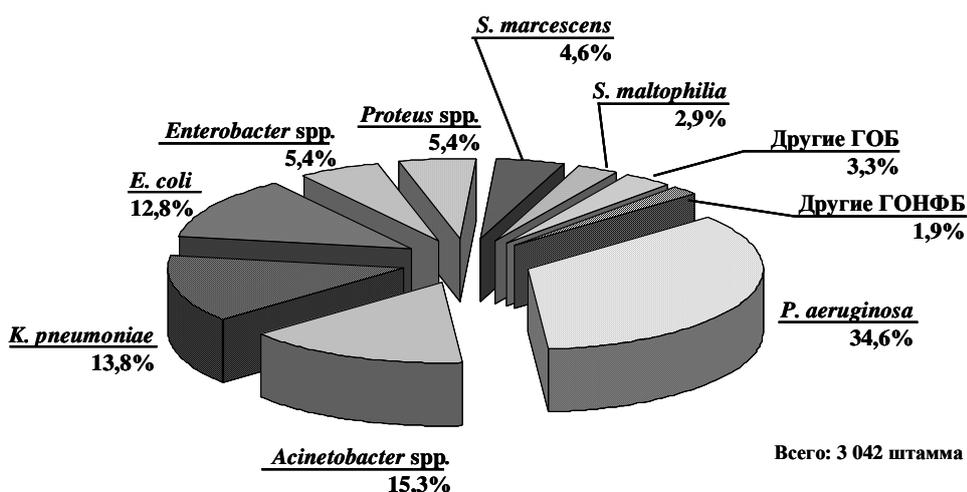


Рис. 3. Структура нозокомиальных патогенов в ОРИТ в 2002-2004 гг.

В 2002-2004 гг. доля ацинетобактеров выросла более чем в два раза (15,3%, $p < 0,0001$) и по значимости он уступал только *P. aeruginosa*, а суммарная доля неферментирующих бактерий превысила 50% (Рис. 3).

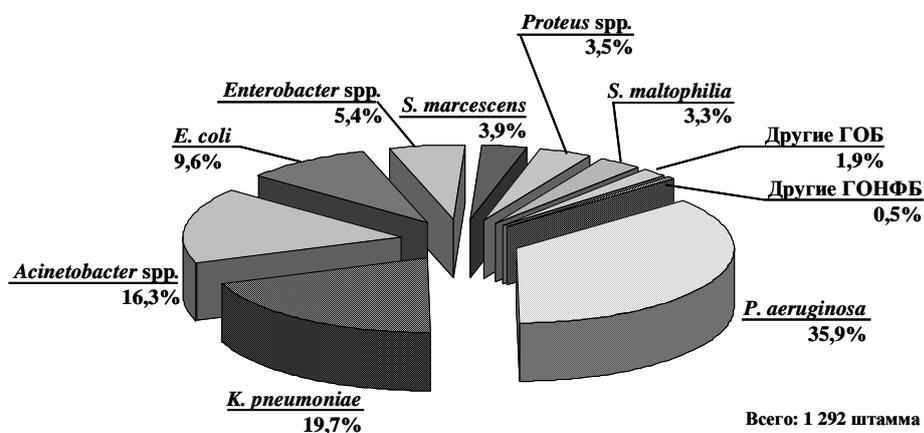


Рис. 4. Структура нозокомиальных патогенов в ОРИТ в 2006-2008 гг.

В 2006-2008 гг. частота обнаружения *Acinetobacter spp.* выросла незначительно (16,3%, $p = 0,37$) и он стал третьим грамотрицательным и вторым неферментирующим патогеном в ОРИТ России (Рис. 4).

Таким образом, доля нозокомиальных инфекций, вызванных *Acinetobacter spp.*, в российских ОРИТ с годами неуклонно растёт, а группа неферментирующих бактерий является лидирующей в структуре патогенов.

Оценивая роль изучаемых микроорганизмов в отделениях различного профиля следует отметить, что наибольшую значимость в 2006-2008 гг. ацинетобактеры имели в ожоговых отделениях и отделениях инфекционной хирургии, где они являлись причиной 28,9% инфекций, а общая доля неферментирующих бактерий превышала 75%. В хирургических отделениях *Acinetobacter spp.* выделялись в 10,9% случаев, в терапевтических отделениях наблюдались единичные случаи инфекций, а в отделениях гематологии и онкологии не было отмечено ни одной инфекции, вызванной ацинетобактерами (Табл. 1). Суммарно представители *Acinetobacter spp.* явились причиной 15% нозокомиальных инфекций и были третьими грамотрицательными и вторыми неферментирующими патогенами в стационарах России в 2006-2008 гг.

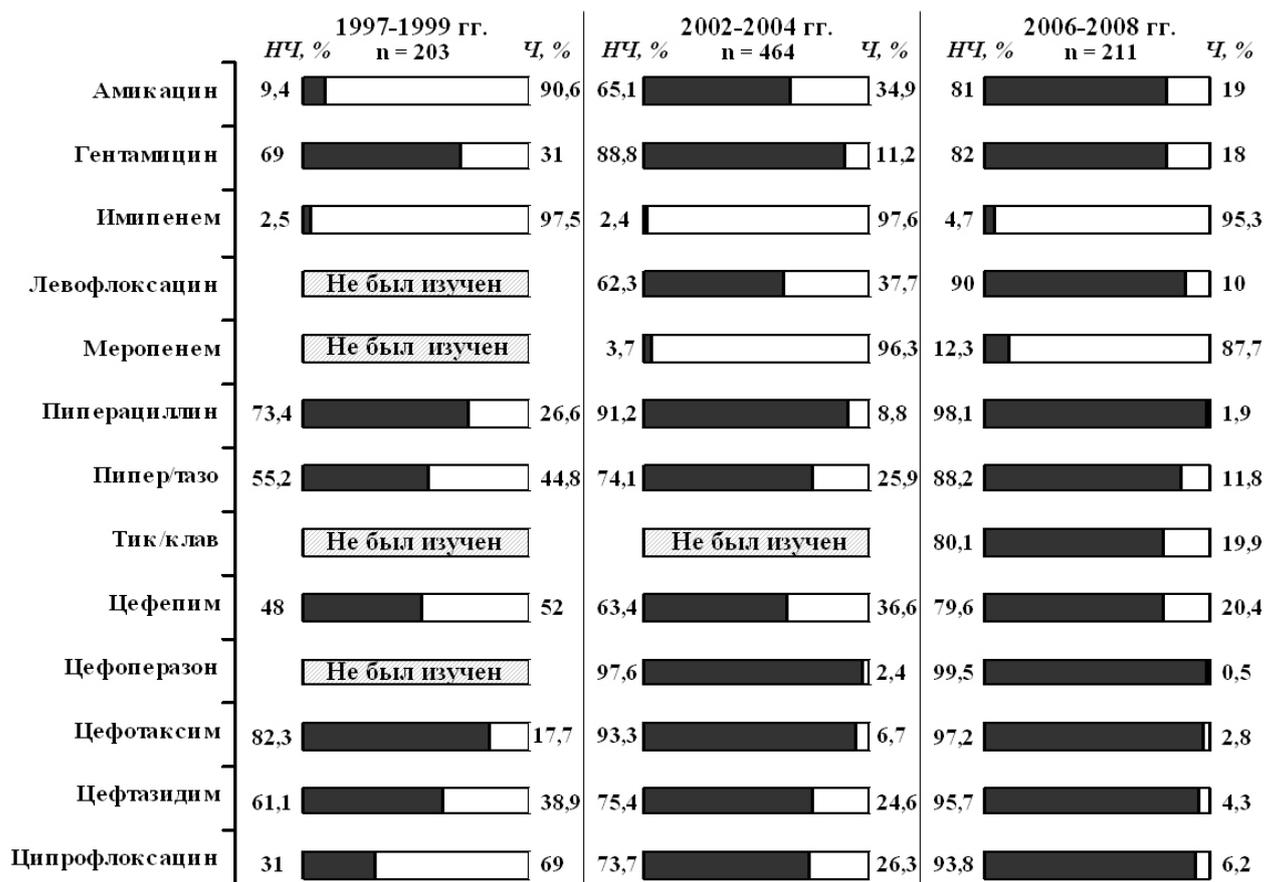
Структура грамотрицательных патогенов в стационарах России в 2006-2008 гг.

Отделение МО	Все отде- ления	ОРИТ	ОИ	Хирургия	ОГ	Терапия
<i>P. aeruginosa</i>	35,4	35,9	44,4	32,7	11,1	46,4
<i>K. pneumoniae</i>	16,7	19,7	6,1	12,3	33,3	12,5
<i>Acinetobacter</i> spp.	15,0	16,3	28,9	10,9	0	3,6
<i>E. coli</i>	13,7	9,6	3,9	23,3	22,2	23,2
<i>Enterobacter</i> spp.	6,3	5,4	6,1	6,7	22,2	3,6
<i>Proteus</i> spp.	4,2	3,5	5,6	5,8	0	3,6
<i>S. marcescens</i>	2,7	3,9	0	1,4	0	0
<i>S. maltophilia</i>	2,5	3,3	2,2	1,1	1,6	3,6
Другие ГОБ	3,1	1,9	2,2	5,1	9,5	3,6
Другие ГОНФБ	0,5	0,5	0,6	0,6	0	0
Всего МО	2224	1292	180	626	63	56

ОИ – ожоговая и инфекционная хирургия, ОГ – онкология и гематология.

Динамика резистентности к используемым антибиотикам и различия в зависимости от профиля отделения

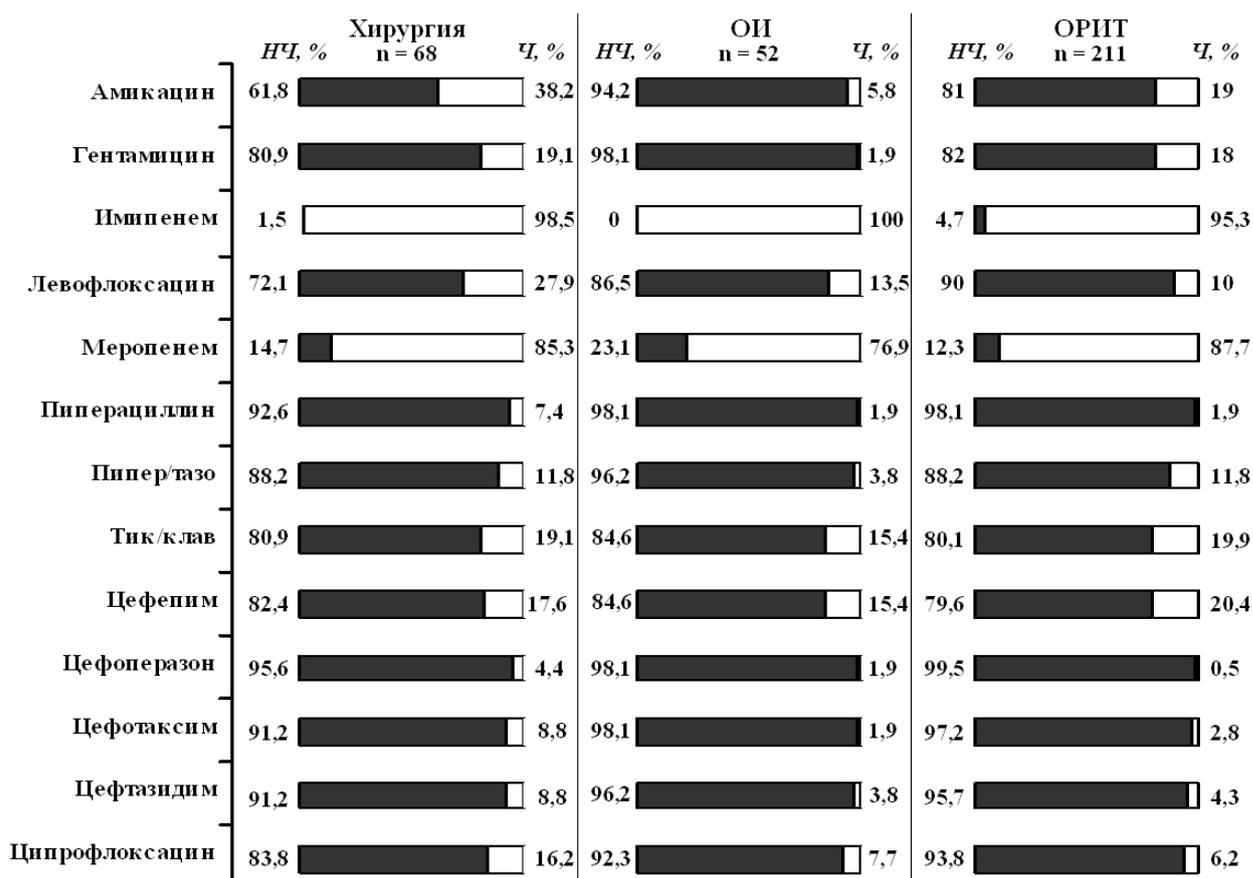
Оценить динамику резистентности возможно только на примере ОРИТ. Из представленных на Рисунке 5 данных видно, что уже в конце 90-х гг. высокой активностью в отношении нозокомиальных *Acinetobacter* spp. обладали только имипенем и амикацин, менее активными были цiproфлоксацин и цефепим. Остальные препараты были неактивны в 50% случаев и более. В период с 1999 г. по 2002 г. произошёл скачок резистентности и в 2002-2004 гг. единственной высоко активной группой препаратов осталась группа карбапенемов, резистентность к другим препаратам превышала 60%. В 2006-2008 гг. было отмечено снижение активности и карбапенемов, в меньшей степени имипенема, в большей – меропенема. Однако по-прежнему эти препараты сохраняли высокую активность в отношении нозокомиальных *Acinetobacter* spp. Более 95% штаммов были нечувствительны к цефалоспорином III поколения и пиперациллину.



n – количество штаммов, пипер/тазо – пиперациллин/тазобактам, тик/клав – тикарциллин/клавулат

Рис. 5. Динамика резистентности *Acinetobacter* spp. в ОРИТ России.

При изучении активности антимикробных препаратов в отделениях различного профиля видно, что наиболее благоприятная ситуация наблюдалась в хирургических отделениях. Ситуация в ОРИТ сопоставима с таковой в ожоговых отделениях и отделениях хирургической инфекции, однако в последнем случае практически все штаммы были нечувствительны к гентамицину и пиперациллину/тазобактаму, меньшей активностью обладал амикацин. При оценке карбапенемов следует отметить, что лучшей активностью во всех отделениях обладал имипенем, наибольшая резистентность к которому наблюдалась в ОРИТ и составляла 4,7%. В ожоговых и отделениях хирургической инфекции не было выделено ни одного устойчивого к имипенему штамма, однако уровень резистентности к меропенему был самым высоким – 23,1%. Резистентность к меропенему в хирургических отделениях была выше таковой в ОРИТ, что может говорить о нерациональном применении меропенема в хирургии.



ОИ – ожоговые отделения и отделения хирургической инфекции, n – количество штаммов, пипер/тазо – пиперациллин/тазобактам, тик/клав – тикарциллин/клавуланат.

Рис. 6. Резистентность *Acinetobacter* spp. в стационарах России в 2006-2008 гг.

Оценка активности перспективных антимикробных препаратов

В ситуации неуклонного роста устойчивости к карбапенемам необходимо иметь в резерве антибиотики, активные в отношении полирезистентных *Acinetobacter* spp. В данной работе была произведена оценка 5 перспективных препаратов: дорипенема, колистина, нетилмицина, полимиксина Б и цефоперазона/сульбактама (Рис. 7). Из них, наибольшую активность проявили полимиксины: резистентных к колистину штаммов выделено не было, нечувствительным к полимиксину Б был только один штамм. Дорипенем и цефоперазон/сульбактам характеризовались сходной активностью и уступали только полимиксинам и имипенему. Нетилмицин был наиболее активным препаратом в группе аминогликозидов, но наименее активным среди перспективных. Использовать его в терапии инфекций, вызванных нозокомиальными, следует только после подтверждения его активности *in vitro*.

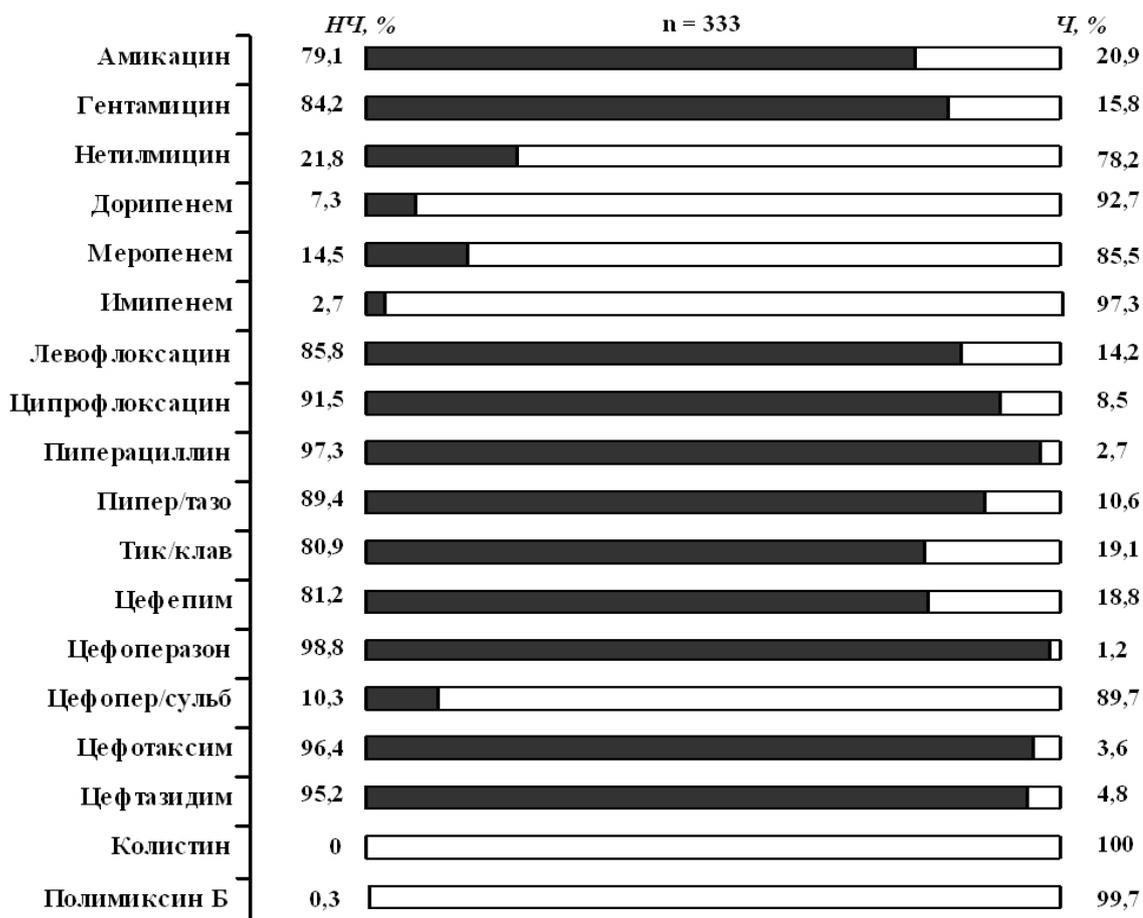


Рис. 7. Резистентность *Acinetobacter* spp. в стационарах различного профиля в России в 2006-2008 гг.

Ввиду высокой активности полимиксинов, карбапенемов и цефоперазона/сульбактама представляется целесообразным рассмотреть распределение их МПК в отношении 333 *Acinetobacter* spp., выделенных в России в 2006-2008 гг. (Рис. 8-13).

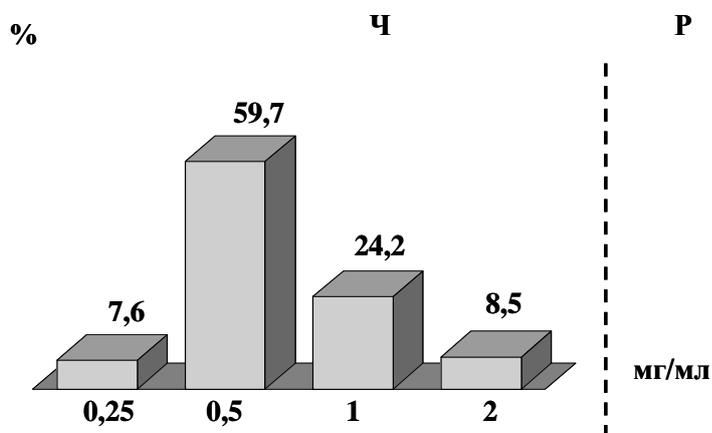


Рис. 8. Распределение *Acinetobacter* spp. по значениям МПК колистина.

Все изученные штаммы были чувствительны к колистину (Рис. 8), причём большинство штаммов отстояло от границы резистентности на два разведения, что свидетельствует о возможности сохранения высокой активности препарата и в ближайшем будущем.

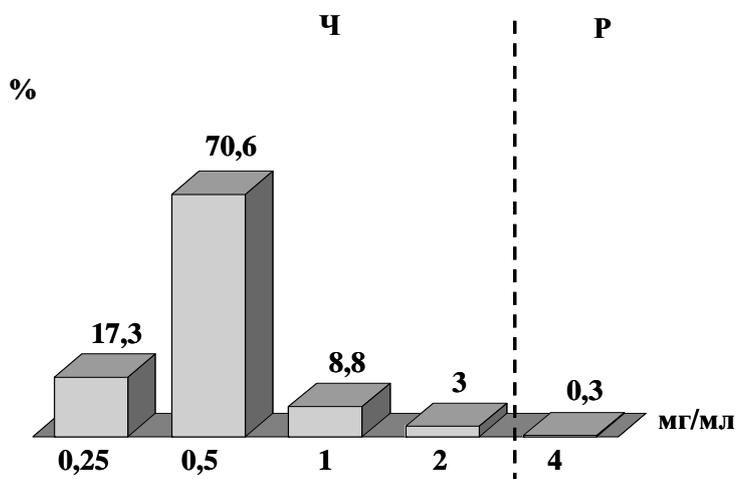


Рис. 9. Распределение *Acinetobacter* spp. по значениям МПК полимиксина Б.

Полимиксин Б имел схожее с колистином распределение МПК (Рис. 9), однако один штамм был резистентен к препарату. Большая часть штаммов также отстояла от границы резистентности на два разведения, что является хорошим признаком.

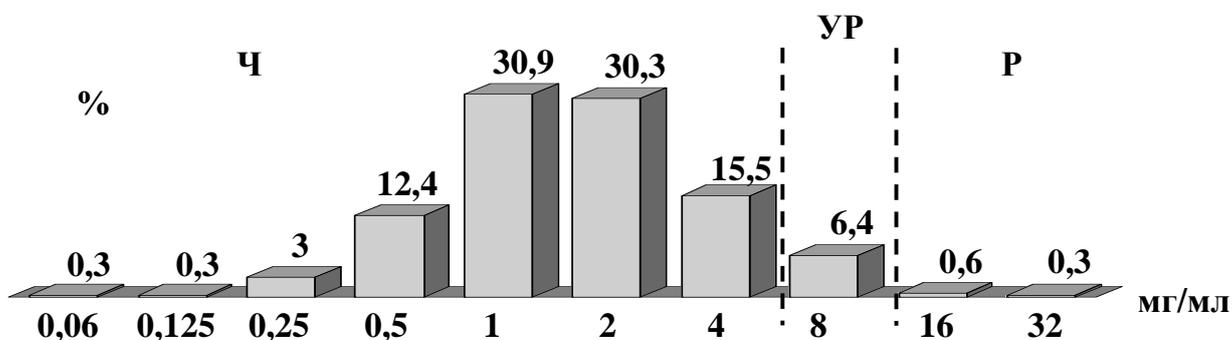


Рис. 10. Распределение *Acinetobacter* spp. по значениям МПК дорипенема.

Распределение МПК дорипенема имело мономодальный характер, что затрудняет выделение групп резистентности к данному препарату.

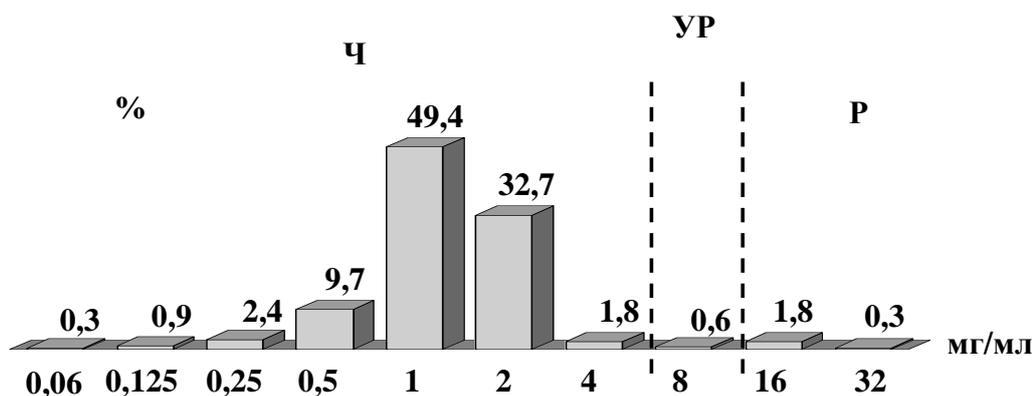


Рис. 11. Распределение *Acinetobacter* spp. по значениям МПК имипенема.

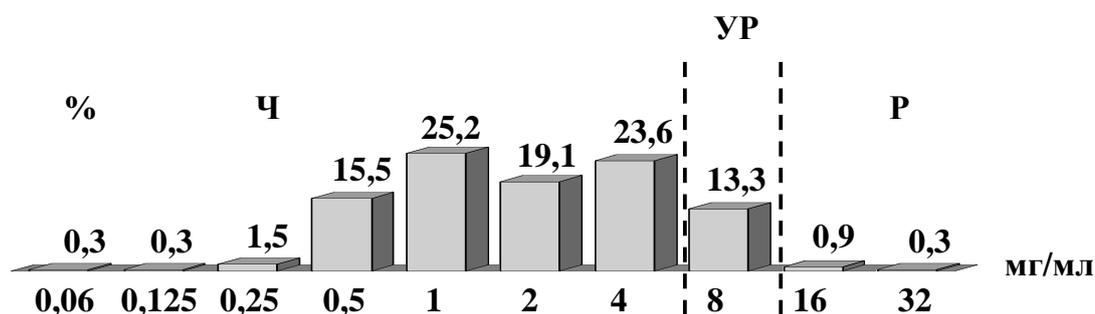


Рис. 12. Распределение *Acinetobacter* spp. по значениям МПК меропенема.

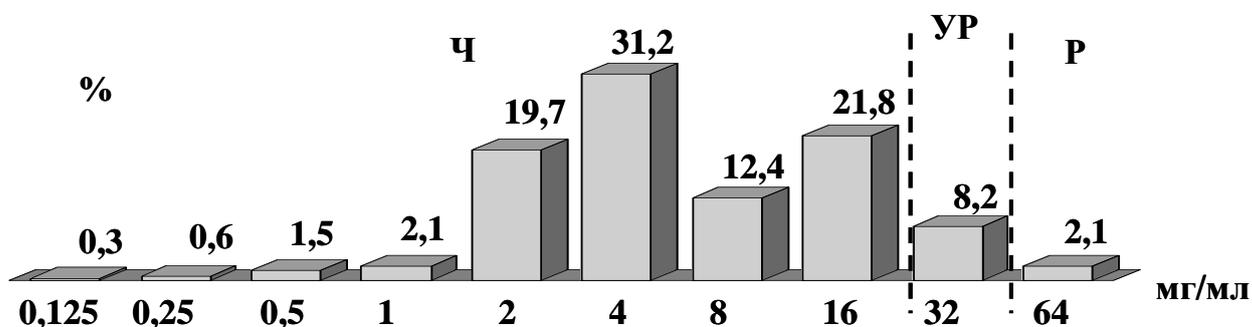


Рис. 13. Распределение *Acinetobacter* spp. по значениям МПК цефоперазона/сульбактама.

Как видно из представленных рисунков, наилучшее положение действительно имели полимиксины, так как большая часть штаммов отстояла на два разведения от границы резистентности и, вероятно, в ближайшее время будет сохранять чувствительность к данным препаратам. Распределение МПК имипенема носило бимодальный характер и совпадало с установленными критериями резистентности, большая часть штаммов также отстояла от границы на два разведения. Согласно бимодальному распределению меропенема, нечувствительными к нему являются

штаммы с МПК > 1 мг/мл, то есть 57,2% штаммов. Дорипенем имел мономодальное распределение МПК, однако оно было схожим с меропенемом; в таком случае резистентность к нему так же будет выше установленной – 53,1%. Более 20% штаммов находилось на границе резистентности к цефоперазону/сульбактаму и потенциально может потерять чувствительность к нему в ближайшее время. Для данного препарата также было характерно бимодальное распределение, согласно которому резистентными к препарату являются 44,5% штаммов.

Перекры́стная резистентность к карбапенемам

Для того чтобы знать, как часто штаммы *Acinetobacter* spp., нечувствительные к одному карбапенему, являются нечувствительными и к другим препаратам этой же группы, был проведён анализ перекры́стной резистентности к карбапенемам среди нечувствительных штаммов (МПК любого карбапенема ≥ 8 мг/мл). Из 54 штаммов, выделенных в 2006-2008 гг., 53,7% были резистентны только к одному из трёх карбапенемов, 42,6% - к двум антибиотикам данной группы. Лишь два штамма (3,7%) были невосприимчивы ко всем трём препаратам (Рис. 9).

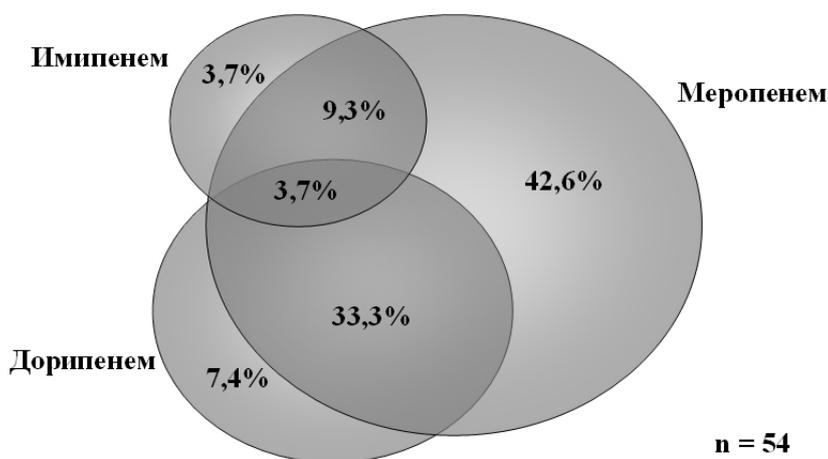


Рис. 9. Перекры́стная резистентность к карбапенемам нозокомиальных *Acinetobacter* spp. в России в 2006-2008 гг.

Выявление приобретённых карбапенемаз и разработка технологии ПЦР для детекции генов приобретённых ОХА-карбапенемаз

За время исследования было получено 186 штаммов *Acinetobacter* spp., устойчивых хотя бы к одному из двух карбапенемов (МПК имипенема и/или

меропенема ≥ 8 мг/мл): 5 на первом, 17 на втором, 50 на третьем и 114 на четвёртом этапе. Ни одного продуцента МБЛ среди них обнаружено не было.

Для возможности выявления генов приобретённых КМКД была разработана собственная технология ПЦР в реальном времени: осуществлён дизайн 6 праймеров для трёх описанных у ацинетобактеров групп данных ферментов (Табл. 2), оптимизирован состав реакционной смеси (0,6 мкМ каждого праймера, набор азотистых оснований дНТФ - 200 мкМ каждого, 1,7 мМ MgCl₂, 1,5 Ед Taq-F ДНК-полимеразы, 5 мкл однократного безмагниевого ПЦР-буфера, 0,5 мкл SYBR Green I, 6,7 мкл воды и 2 мкл образца ДНК, полученного кипячением 3-5 колоний в ТЕ буфере) и отработан температурный протокол ПЦР (активация Taq-F полимеразы: 95°C, 15 мин.; 30 циклов амплификации: денатурация 95°C, 20 сек, отжиг 59°C, 20 сек, элонгация 72°C, 30 сек, анализ кривых плавления: стабилизация смеси 72°C, 3 мин.; плавление в диапазоне 72°C - 95°C с задержкой в 30 сек на 72°C и последующим подъёмом на 1°C каждые 5 секунд) для термоциклера Rotor-Gene 2000 System (Corbett Research, Австралия). В результате было получено три продукта амплификации, имеющих различные температуры плавления, которые методом электрофореза были причислены к соответствующей группе ОХА-карбапенемаз. Разработанным методом было выявлено 132 продуцента приобретённых ОХА-карбапенемаз: 1 в 1997-1999 гг., 11 в 2002-2004 гг., 9 в 2006-2008 гг., 58 в 2008-2009 гг. в России и 53 в 2008-2009 гг. в Беларуси (Табл. 3). Таким образом, до 2008 г. в России наблюдались единичные случаи инфекций, вызванных ОХА-продуцирующими штаммами, в географически отдалённых друг от друга городах. Обращает на себя внимание выделение ОХА-58-продуцирующих штаммов

Таблица 2

Праймеры, разработанные для детекции приобретённых КМКД у *Acinetobacter* spp.

Название	Ген	Последовательность	Длина продукта,
ОХА-23-F1	<i>bla</i> _{ОХА-23}	TGAAACCCCGAGTCAGATTGT	498
ОХА-23-R1	<i>bla</i> _{ОХА-23}	СТАААТGGAAGCTGTGTATGTGCT	
ОХА-40-F	<i>bla</i> _{ОХА-40}	GATGAAGCTCAAACACAGGGTG	587
ОХА-40-R	<i>bla</i> _{ОХА-40}	TTTCCATTAGCTTGCTCCACC	
ОХА-58-F	<i>bla</i> _{ОХА-58}	GGGCTTGTGCTGAGCATAGT	739
ОХА-58-R	<i>bla</i> _{ОХА-58}	CGTAGAGCAATATCATCACCAGC	

География продуцентов приобретённых КМКД.

Тип КМКД	Страна	Город	Центр	Год	Кол-во
ОХА-58	Россия	Ставрополь	1	1997	1
ОХА-23	Россия	Иркутск	1	2002	2
ОХА-58	Россия	Москва	2	2002	4
ОХА-58	Россия	Москва	2	2003	1
ОХА-58	Россия	Новосибирск	2	2003	3
ОХА-23	Россия	Москва	11	2004	1
ОХА-58	Россия	Екатеринбург	1	2006	2
ОХА-58	Россия	Екатеринбург	4	2006	1
ОХА-58	Россия	Новосибирск	1	2006	4
ОХА-58	Россия	Москва	2	2006	2
ОХА-23	Россия	Краснодар	2	2008	14
ОХА-40	Беларусь	Минск	1	2008	5
ОХА-40	Беларусь	Могилёв	1	2008	5
ОХА-40	Беларусь	Могилёв	2	2008	2
ОХА-23	Россия	Краснодар	2	2009	8
ОХА-40	Беларусь	Минск	2	2009	28
ОХА-40	Беларусь	Минск	3	2009	4
ОХА-40	Беларусь	Минск	4	2009	3
ОХА-40	Беларусь	Минск	5	2009	2
ОХА-40	Беларусь	Минск	6	2009	2
ОХА-40	Беларусь	Минск	7	2009	2
ОХА-40	Россия	Москва	12	2009	5
ОХА-23	Россия	Ростов-на-Дону	1	2009	1
ОХА-40	Россия	Самара	1	2009	16
ОХА-40	Россия	Санкт-Петербург	3	2009	6
ОХА-58	Россия	Санкт-Петербург	3	2009	2
ОХА-58	Россия	Смоленск	2	2009	4
ОХА-58	Россия	Смоленск	3	2009	2

Acinetobacter spp. на протяжении нескольких лет в центре №2 г. Москвы, что может свидетельствовать о циркуляции карбапенеморезистентных штаммов либо факторов резистентности к карбапенемам в среде данного стационара. В 2002 г.,

возможно, имела место вспышка инфекций, так как все 4 штамма были получены в течение одного месяца. В центре №1 Новосибирска в 2006 г. так же могла иметь место циркуляция либо возбудителя, либо факторов резистентности к карбапенемам. В 2008-2009 гг. количество карбапенеморезистентных штаммов значительно выросло, а инфекции иногда стали приобретать массовый характер и возникать в близлежащих городах. Более того, все полученные штаммы продуцировали ту или иную группу ОХА-карбапенемаз. Похожая ситуация наблюдалась и в Беларуси, где за аналогичный период времени было получено 56 резистентных к карбапенемам штаммов, из которых 53 являлись продуцентами приобретённых КМКД. В большинстве стационаров Беларуси наблюдались случаи единичных инфекций, однако из центра №2 г. Минска было получено 30 штаммов в течение трёх месяцев, что свидетельствует о серьёзности проблемы и о высокой патогенности данного возбудителя.

Также в работе был проведён поиск разработанным методом «молчащих» генов приобретённых ОХА-карбапенемаз у 168 чувствительных к карбапенемам штаммов (МПК и меропенема, и имипенема <8 мг/мл). Результаты исследования во всех случаях были отрицательными. Это, во-первых, подтверждает эпидемические свойства ферментов, во-вторых, показывает, что наличие генов приобретённых КМКД всегда свидетельствует о резистентности штамма к карбапенемам.

Оптимизация методики мультилокусного секвенирования-типирования штаммов *Acinetobacter baumannii*

Модернизация методики типирования штаммов *A. baumannii* осуществлялась путём дизайна 14 праймеров к локусам 7 генов (Табл. 4), оптимизации состава реакционной смеси (0,6 мкМ каждого праймера, набор азотистых оснований дНТФ - 200мкМ каждого, 1,7 мМ MgCl₂, 1,5 Ед Taq-F ДНК-полимеразы, 5 мкл однократного безмагниевого ПЦР-буфера, 0,5 мкл SYBR Green I, 11,2 мкл воды и 2 мкл образца ДНК, полученного кипячением 3-5 колоний в ТЕ буфере) и отработки температурного протокола ПЦР (активация Taq-F полимеразы: 95°C, 15 мин., 30 циклов амплификации: денатурация 95°C, 20 сек., отжиг 54°C, 30 сек., элонгация 72°C, 45 сек.; и анализ кривых плавления: стабилизация смеси 72°C, 3 мин.; плавление в диапазоне 72°C - 94°C с подъёмом на 1°C каждые 5 сек.) для термоциклера Chromo4 (Bio Rad Laboratories, США). Данные условия обеспечивали выраженную специфическую амплификацию, а длина продукта амплификации каждого локуса, определяемая при электрофорезе, соответствовала указанной в

Собственные праймеры для секвенирования-типирования *A. baumannii*.

Локус	Праймер	Последовательность праймера	Размер ампликона	Opt T°	Задача
<i>gltA</i>	<i>gltA-f</i>	ACA GTG GCA CAT TAG GTC C	722	63,4	A+C
	<i>gltA-r</i>	GCA GAG ATA CCA GCA GAG ATA CA		63,5	A+C
<i>gyrB</i>	<i>gyrB-f</i>	AAC CAT CTC AAC GAA ATC TTC C	909	64,7	A+C
	<i>gyrB-r</i>	CTG GGT CTT TTT CCT GAC A		64	A+C
<i>gdhB</i>	<i>gdhB-f1</i>	CCA CAT GCT TTG TTA TGG GG	775	65,3	A+C
	<i>gdhB-r1</i>	GAT TTA AGC GTA ATA CTT TAC CCA T		64,4	A+C
<i>recA</i>	<i>recA-f</i>	GGT CCT GAA TCT TCT GGT AAA AC	425	64	A+C
	<i>recA-r</i>	GAA TTT AAG AGC ATT ACC ACC AGT		64,5	A+C
<i>cpn60</i>	<i>cpn60-f</i>	CAA CTG TAC TTG CTC AAG C	479	54,5	A+C
	<i>cpn60-r</i>	CGC TTC ACC TTC AAC ATC TTC		64,1	A+C
<i>gpi</i>	<i>gpi-f</i>	AAA ATC CAT GCT GGG CAA TA	508	65	A+C
	<i>gpi-r1</i>	CAT CTA TAC CAA TCG TTA GGG CT		65	A+C
<i>rpoD</i>	<i>rpoD-f</i>	GTG AAG GTG AAA TCA GCA TTG C	492	66,6	A+C
	<i>rpoD-r</i>	GCA ATT TGT TCA TCT AAC CAA GC		66	A+C

оригинальной методике. Условия секвенирования также были несколько изменены. Объём секвенирующей смеси равнялся 10 мкл и включал 2 мкл смеси терминаторов, по 1 мкл 5-кратного секвенирующего буфера, праймера и продукта ПЦР, 5 мкл воды. Конечный протокол секвенирования состоял из активации при 96°C в течение 1 минуты и 30 циклов амплификации: денатурация 96°C, 10 сек.; отжиг 50°C, 10 сек.; элонгация 60°C, 4 мин. В результате анализа продуктов секвенирования были получены чёткие хроматограммы.

Генетическое разнообразие *A. baumannii* в России и Беларуси

Для оценки генетического разнообразия циркулирующих в стационарах России и Беларуси штаммов *A. baumannii* из каждого центра было взято по одному ОХА-продуцирующему штамму с характерной антибиотикограммой. Всего в работу было включено 15 штаммов: 14 штаммов *A. baumannii* и один штамм *A. lwoffii* (Табл.

5). Перед проведением мультилокусного секвенирования-типирования было проведено типирование по локусу *gcsA*, в результате которого штамм *A. baumannii* MW-3577 был реидентифицирован как *Acinetobacter* геномовид 10, а штамм *A. Iwoffii* NS2-1777 – как *A. baumannii*. Штамм MW-3577 из дальнейшего анализа был исключён. В результате МЛСТ были установлены аллельные варианты изучаемых генов каждого штамма (Табл. 6). В большинстве случаев полученные аллели были идентифицированы как ранее описанные. Однако было выделено 16 новых аллелей, отличающихся от известных на 1-4 нуклеотидные замены. Каждый из изученных штаммов содержал хотя бы один новый аллель, поэтому все они были отнесены к 9 новым сиквенс-типам. Методом минимальных нуклеотидных различий и методом аллельных вариантов было установлено высокое генетическое сходство большинства штаммов с известными сиквенс-типами (Табл. 6), которые являются причиной ряда нозокомиальных инфекций в Австралии и в различных странах Европы и Азии с 1991 г. Для оценки эпидемических свойств изучаемых штаммов по

Таблица 5

Штаммы *Acinetobacter* spp., выбранные для секвенирования-типирования.

№	МО	ОХА	Год	Город	Центр
EK1-386	<i>A. baumannii</i>	58	2006	Екатеринбург	1
EK2-1283	<i>A. baumannii</i>	58	2006	Екатеринбург	4
IR-547	<i>A. baumannii</i>	23	2002	Иркутск	1
KR-26517	<i>A. baumannii</i>	23	2008	Краснодар	2
MG-25674	<i>A. baumannii</i>	40	2008	Могилёв	1
MI-25818	<i>A. baumannii</i>	40	2008	Минск	1
MW-797	<i>A. baumannii</i>	58	2002	Москва	2
MW-3577	<i>A. baumannii</i>	23	2004	Москва	11
MW-2282	<i>A. baumannii</i>	58	2006	Москва	2
MW-816	<i>A. baumannii</i>	58	2003	Москва	2
NS1-2280	<i>A. baumannii</i>	58	2003	Новосибирск	2
NS2-1671	<i>A. baumannii</i>	58	2006	Новосибирск	1
NS2-1744	<i>A. baumannii</i>	58	2006	Новосибирск	1
NS2-1777	<i>A. Iwoffii</i>	58	2006	Новосибирск	1
SL-248	<i>A. baumannii</i>	58	1997	Ставрополь	1

их МЛСТ профилям методом кластерного анализа невзвешенных средних арифметических величин (UPGMA) было установлено, что большинство штаммов действительно относятся к описанным клональным группам, а значит, имеют доказанное клиническое и эпидемическое значение. Интересным представляется факт циркуляции штаммов, имеющих абсолютно одинаковое строение изучаемых локусов, в географически отдалённых городах двух стран (Новосибирск-Екатеринбург-Могилёв; Москва-Новосибирск). В тоже время в одном стационаре Новосибирска было выделено три штамма, имеющих абсолютно разное строение.

В рамках данного исследования был проведён анализ зависимости типа продуцируемой карбапенемазы от принадлежности к той или иной клональной группе. Было выявлено, что штаммы, имеющие одинаковые или близкие сиквенс-типы, несли гены приобретённых ОХА-карбапенемаз различных групп. Таким образом можно говорить о независимом наследовании факторов устойчивости к карбапенемам нозокомиальными штаммами *Acinetobacter* spp.

Таблица 6

Результаты типирования штаммов *A. baumannii*.

№ Штамма	gltA	gyrB	gdhB	recA	crp60	gpi	groD	Родственный СТ	
								МРН	ЗДЛ
SL-248	1	15	23x	12	4	12x	2	20	20
IR-547	1x	15	16x	11	15x	3x	2	-	-
MW-816	1	15	23xx	10	14	12x	18	37	34, 35, 37, 48, 49
MW-2282	1	15	2x	15	1	14x	18	-	45
MW-797	1	15	2x	15	1	14x	18	-	
NS2-1777	1	15	2x	15	1	14x	18	-	
NS1-2280	10	12	4x	11	4	9x	5	16, 25 43, 44	44
EK1-386	10	12	4x	11	4	9x	5		
EK2-1283	10	12	4x	11	4	9x	5		
MG-25674	10	12	4x	11	4	9x	5		
NS2-1671	10	12	4x	11	14	9x	5		-
NS2-1744	1	12	3x	2	2	19x	3	6, 33	4, 21, 33
MI-25818	1	3	3x	2	2	7x	3	22, 41	22, 41, 53
KR-26517	10	25x	4x	11	4	23x	5	-	-

x, xx - новые варианты аллелей, наиболее близкие к указанному цифрой, МРН – метод минимального различия нуклеотидов, ЗДЛ – метод замещения двух локусов, СТ – сиквенс-тип

Выводы

1. *Acinetobacter* spp. является вторым по частоте встречаемости (15%) неферментирующим грамотрицательным патогеном в отделениях с интенсивным потреблением антибиотиков в 2006-2008 гг. в России, причём, количество вызванных им инфекций в отделениях реанимации и интенсивной терапии в России за последние 12 лет увеличилось в 2,3 раза и составило 16,3%.

2. Наибольшую *in vitro* активность в отношении нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp., выделенных в России, проявляют: колистин → полимиксин Б → имипенем → дорипенем → цефоперазон/сульбактам → меропенем → нетилмицин, чувствительными к которым оказались 100% → 99,7% → 97,3% → 92,7% → 89,7% → 85,5% → 78,2% штаммов, соответственно.

3. Создание 6 новых праймеров и оптимизация состава реакционной смеси и протокола ПЦР в реальном времени позволили разработать способ выявления всех известных генов приобретённых ОХА-карбапенемаз.

4. Распространённость приобретённых ОХА-карбапенемаз среди карбапенеморезистентных штаммов *Acinetobacter* spp. в 2006-2008 гг. в России составила 18% (100% - ОХА-58), в 2008-2009 гг. – 100% (39,7% - ОХА-23; 46,5% - ОХА-40; 13,8% - ОХА-58). Распространённость ОХА-карбапенемаз в 2008-2009 гг. в Беларуси составила 94,6% (100% - ОХА-40). Металло-бета-лактамаз ни в одной из стран выявлено не было.

5. Для оптимизации протокола мультилокусного секвенирования-типирования штаммов *A. baumannii* было 14 новых праймеров, оптимизированы составы реакционных смесей и протоколы ПЦР, что позволило расширить возможности практического применения данного метода в микробиологических лабораториях.

6. Среди 14 изученных штаммов выявлено 16 новых аллельных вариантов различных генов; сами штаммы отнесены к 9 новым сиквенс-типам, 7 из которых принадлежат к известным эпидемическим клональным группам. При этом три из них являются возбудителями большого числа инфекций в зарубежных странах, две – в России и Беларуси.

7. В ближайшие годы в России и Беларуси следует ожидать стремительный рост резистентности к карбапенемам среди нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. ввиду увеличения продуцентов приобретённых ОХА-карбапенемаз и циркуляции штаммов, имеющих эпидемические свойства.

Практические рекомендации

Для микробиологов

1. Проводить скрининг всех клинических штаммов *Acinetobacter* spp. на металло-бета-лактамазы и приобретённые ОХА-карбапенемазы до определения чувствительности к антибиотикам.
2. Включить разработанную технологию ПЦР в алгоритм исследований *Acinetobacter* spp. в микробиологических лабораториях при лечебно-профилактических учреждениях и центрах Госсанэпиднадзора.
3. Микробиологическим лабораториям при лечебно-профилактических учреждениях и центрах Госсанэпиднадзора вести учёт результатов проведённых тестов на чувствительность к антибиотикам и предоставлять врачам суммарные данные о наиболее активных за определённый период антимикробных препаратах в отношении *Acinetobacter* spp. в каждом конкретном стационаре.

Для клинических фармакологов

4. Рассматривать имипенем, дорипенем, меропенем и цефоперазон/сульбактам в качестве препаратов эмпирической и этиотропной терапии нозокомиальных инфекций, вызванных *Acinetobacter* spp., во всех стационарах России.
5. Исключить из протоколов терапии нозокомиальных инфекций, вызванных *Acinetobacter* spp., незащищённые пенициллины и незащищённые цефалоспорины III поколения, а в ожоговых отделениях и отделениях хирургической инфекции – также гентамицин и пиперациллин/тазобактам.
6. Обратиться с ходатайством в Федеральную службу по надзору в сфере здравоохранения и социального развития о внедрении на фармацевтический рынок России парентеральных форм полимиксина Б и колистина ввиду их высокой активности в отношении полирезистентных *Acinetobacter* spp.

Список научных работ по теме диссертации

1. **Martinovich A.** Assessment of carbapenem resistance and presence of acquired carbapenemases in Russian nosocomial isolates of *Acinetobacter* spp. / **A. Martinovich**, O. Shevchenko, M. Edelstein, R. Kozlov. // Proceedings of the 18th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Barcelona, Spain, 2008 (P 1505).

2. Козлов Р.С. Порівняння *in vitro* ефективності цефтріаксону й цефтріаксону/сульбактаму щодо БЛРС-продукуючих штамів сімейства

Enterobacteriaceae. / Р.С. Козлов, **А.А. Мартинович**, А.В. Дехнич // Педиатрия, акушерство та гінекологія – 2009. – Vol. 71. № 2 – С. 50 – 52

3. **Martynovich A.** Ten-year resistance trends of nosocomial *Acinetobacter* spp. in Russia / **A. Martynovich**, N. Ivanchik, O. Kretchikova, G. Reshedko, E. Riabkova, M. Edelstein, R. Kozlov // Proceedings of the 19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Helsinki, Finland, 2009 (P 1717).

4. **Мартинович А.А.** Анализ резистентности к карбапенемам и продукции приобретённых карбапенемаз нозокомиальными штаммами *Acinetobacter* spp. в России / **А.А. Мартинович**, М.В. Эйдельштейн, О.В. Шевченко, Р.С. Козлов. // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2009. – Т. 11. № 2-1 – С. 23 – 24.

5. **Мартинович А.А.** Динамика антибиотикорезистентности и эпидемиология инфекций, вызванных *Acinetobacter* spp. в России. / **А.А. Мартинович**. // Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. – 2010. – Т. 12. № 2 – С. 96-104.

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ

Микроорганизмы

<i>A. baumannii</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>
<i>A. lwoffii</i>	<i>Acinetobacter lwoffii</i>
<i>E. coli</i>	<i>Escherichia coli</i>
<i>K. pneumoniae</i>	<i>Klebsiella pneumoniae</i>
<i>P. aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>
<i>S. maltophilia</i>	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>

Другие термины

ГОб	грамотрицательная бактерия
ГОНФБ	грамотрицательная неферментирующая бактерия
ГОУ ВПО	Государственное образовательное учреждение высшего профессионального образования
ДНК	дезоксирибонуклеиновая кислота
МАКМАХ	Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
МБЛ	металло-бета-лактамаза
МЛСТ	мультилокусное секвенирование-типирование
МО	микроорганизм
МПК	минимальная подавляющая концентрация
НИИАХ	Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии

НЧ	нечувствительный микроорганизм
КМКД	ОХА карбапенемазы молекулярного класса D
ОРИТ	отделение реанимации и интенсивной терапии
ПЦР	полимеразная цепная реакция
Р	резистентный микроорганизм
СГМА	Смоленская государственная медицинская академия
УР	умеренно-резистентный микроорганизм
Ч	чувствительный микроорганизм
АТСС	Американская коллекция типовых культур
ЕССМID	Европейский конгресс по клинической микробиологии и инфекционным болезням
GB	база данных о геноме микроорганизмов
ICAAC	Междисциплинарная конференция по антимикробным препаратам и химиотерапии
NCBI	Национальный центр биотехнологической информации
spp.	обозначение рода микроорганизмов