

Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacterales* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016»

Сухорукова М.В.¹, Эйдельштейн М.В.¹, Иванчик Н.В.¹, Склеенова Е.Ю.¹, Шайдуллина Э.Р.^{1,2}, Азизов И.С.¹, Шек Е.А.¹, Кузьменков А.Ю.¹, Дехнич А.В.¹, Козлов Р.С.¹, Семенова Н.В.³, Слепакова С.А.⁴, Шепотайлова Н.В.⁴, Стребкова В.В.⁵, Рыбина Н.А.⁵, Яранцева Н.З.⁶, Перевалова Е.Ю.⁷, Розанова С.М.⁷, Наговицина С.Г.⁸, Молдовану М.Г.⁸, Насыбуллова З.З.⁹, Архипенко М.В.¹⁰, Шахмурадян Р.М.¹⁰, Нижегородцева И.А.¹¹, Варибрус Е.В.¹¹, Александрова И.А.¹², Лазарева А.В.¹³, Крыжановская О.А.¹³, Маркелова Н.Н.¹⁴, Чернявская Ю.Л.¹⁵, Лебедева Е.В.¹⁵, Кириллова Г.Ш.¹⁶, Беккер Г.Г.¹⁷, Попова Л.Д.¹⁸, Елохина Е.В.¹⁸, Смолькова Ю.Е.¹⁹, Зиновьев Д.Ю.¹⁹, Итязева Л.Н.²⁰, Блинова Г.Ю.²⁰, Зубарева Н.А.²¹, Витязева В.П.²², Плаксина М.Г.²², Куцевалова О.Ю.²³, Панова Н.И.²³, Суборова Т.Н.²⁴, Полухина О.В.²⁵, Ворошилова Т.М.²⁶, Чурикова Е.М.²⁶, Москвитина Е.Н.²⁷, Кречикова О.И.¹, Петрова Т.А.²⁸, Мартыанова Н.М.²⁹, Хохлова К.О.²⁹, Гудкова Л.В.³⁰, Быконя С.А.³⁰, Хохлявина Р.М.³¹, Шпилькина Л.В.³¹, Бурасова Е.Г.³², Хребтовская В.А.³², Молчанова И.В.³³, Звонарева О.В.³³, Корнилова П.А.³⁴, Крянга В.Г.³⁴, Портнягина У.С.³⁵, Шамаева С.Х.³⁵

¹ НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, Смоленск, Россия

² ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия

³ Архангельская областная клиническая больница, Архангельск, Россия

⁴ Амурская областная детская клиническая больница, Благовещенск, Россия

⁵ Воронежская городская клиническая больница скорой медицинской помощи №10, Воронеж, Россия

⁶ Свердловская областная клиническая психиатрическая больница, Екатеринбург, Россия

⁷ Клинико-диагностический центр, Екатеринбург, Россия

⁸ Городская клиническая больница №9, Ижевск, Россия

⁹ Республиканская клиническая больница, Казань, Россия

¹⁰ Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница №1 им. проф. С.В. Очаповского, Краснодар, Россия

¹¹ Краевая клиническая больница №2, Краснодар, Россия

¹² ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, Россия

¹³ ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, Москва, Россия

¹⁴ ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, Москва, Россия

¹⁵ Мурманская областная клиническая больница им. П.А. Баяндина, Мурманск, Россия

¹⁶ Больница скорой медицинской помощи, Набережные Челны, Россия

¹⁷ Дорожная клиническая больница на ст. Новосибирск-Главный ОАО «РЖД», Новосибирск, Россия

¹⁸ Областная клиническая больница, Омск, Россия

¹⁹ Клиническая больница №6 им. Г.А. Захарьина, Пенза, Россия

²⁰ Областной онкологический диспансер, Пенза, Россия

²¹ ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия

²² Детская республиканская больница, Петрозаводск, Россия

²³ ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

²⁴ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург, Россия

²⁵ Санкт-Петербург, Россия

²⁶ ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

²⁷ ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр» ФМБА России, Северск, Россия

²⁸ Клиническая больница №1, Смоленск, Россия

²⁹ Тольяттинская городская клиническая больница №5, Тольятти, Россия

³⁰ Томская областная клиническая больница, Томск, Россия

³¹ Областная клиническая больница №1, Тюмень, Россия

³² Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко, Улан-Удэ, Россия

³³ Челябинская областная клиническая больница, Челябинск, Россия

³⁴ Республиканская больница №1 – Национальный центр медицины, Якутск, Россия

³⁵ Республиканская больница №2 – Центр экстренной медицинской помощи, Якутск, Россия

Контактный адрес:

Марина Витальевна Сухорукова
Эл. почта: Marina.Sukhorukova@
antibiotic.ru

Ключевые слова: нозокомиальные инфекции, *Enterobacterales*, антибиотикорезистентность.

Цель. Определить распространенность устойчивости к антибиотикам и продукции основных приобретенных механизмов резистентности (бета-лактамаз расширенного спектра [БЛРС] и карбапенемаз) у нозокомиальных штаммов *Enterobacterales*, а также генотипы и принадлежность к «международным клонам высокого риска» карбапенемазопродуцирующих штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в различных регионах России в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016».

Материалы и методы. Всего исследовано 2786 неповторяющихся изолятов энтеробактерий, включая 1316 изолятов *Klebsiella pneumoniae* и 837 изолятов *Escherichia coli*, выделенных в 49 стационарах 25 городов России в 2015–2016 гг. Видовую идентификацию изолятов проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. Определение чувствительности выполняли референтным методом микро-

разведений в бульоне. Продукцию БЛРС определяли с помощью фенотипического метода оценки синергизма оксимино-бета-лактамов с клавулановой кислотой. Наличие генов приобретенных карбапенемаз групп VIM, IMP, NDM, KPC и OXA-48 определяли с помощью ПЦР в реальном времени. Генотипирование *K. pneumoniae* проводили методом мультилокусного секвенирования-типирования (MLST) согласно схеме, предложенной Институтом Пастера, и по методу DiaSorin и соавт.

Результаты. Энтеробактерии составили в общей сложности 48,2% от всех выделенных бактериальных возбудителей. Наиболее частыми видами были *K. pneumoniae* (47,2%) и *E. coli* (30,0%). Большинство исследованных изолятов были резистентными к оксимино-бета-лактамам: к цефотаксиму – 78,4%, цефтазидиму – 67,2%, цефепиму – 68,4% и азтреонаму – 71,5%. Продукция БЛРС выявлена у 67,8% изолятов. Резистентность к карбапенемам (имипенему, меропенему и эртапенему) проявляли соответственно 6,9%, 6,5% и 23,6% от всех изолятов энтеробактерий. У 14,4% изолятов выявлена продукция карбапенемаз молекулярного класса D группы OXA-48 (11,40%), класса B группы NDM-1 (2,7%) и класса A группы KPC (< 0,1%); у 8 изолятов (0,3%) *K. pneumoniae* обнаружено одновременное наличие генов OXA-48 и NDM-1, у 1 (< 0,1%) изолята *Proteus mirabilis* – одновременное наличие генов NDM-1 и VIM. Молекулярное типирование проведено для 57 карбапенемазопродуцирующих изолятов *K. pneumoniae*, из которых большинство относились к «международным клоном высокого риска»: CG395 (45,6%), CG11 (12,3%), CG147 (10,5%) и CG307 (10,5%). Наиболее высокую активность в отношении нозокомиальных энтеробактерий показали цефтазидим/авибактам (доля резистентных к нему изолятов составила 3,5%) и азтреонам/авибактам (МПК₅₀ и МПК₉₀ составили 0,06 и 0,25 мг/л соответственно). Среди не-бета-лактамных антибиотиков наиболее высокую активность *in vitro* проявлял колистин, резистентными к которому были 18,6% всех изолятов. Отмечена высокая активность тигециклина в отношении *E. coli* (3,9% резистентных изолятов) и *K. pneumoniae* (МПК₅₀ и МПК₉₀ составили 0,5 и 2 мг/л соответственно, что не превышало значения ECOFF (≤ 2 мг/л)).

Выводы. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о чрезвычайно высокой распространенности устойчивости к большинству антибиотиков, включая карбапенемы, и широкое разнообразие детерминант резистентности к карбапенемам у нозокомиальных изолятов энтеробактерий. В связи с этим выбор антибиотиков для эмпирической терапии является крайне затруднительным и требует проведения постоянного микробиологического мониторинга в каждом стационаре.

Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacterales isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study “MARATHON 2015–2016”

Sukhorukova M.V.¹, Edelstein M.V.¹, Ivanchik N.V.¹, Skleenova E.Yu.¹, Shajdullina E.R.^{1,2}, Azyzov I.S.¹, Shek E.A.¹, Kuzmenkov A.Yu.¹, Dekhnich A.V.¹, Kozlov R.S.¹, Semyonova N.V.³, Slepakova S.A.⁴, Shepotajlova N.V.⁴, Strebkova V.V.⁵, Rybina N.A.⁵, Yaranceva N.Z.⁶, Perevalova E.Yu.⁷, Rozanova S.M.⁷, Nagovicina S.G.⁸, Moldovanu M.G.⁸, Nasybullova Z.Z.⁹, Arkhipenko M.V.¹⁰, Shakhmuradyan R.M.¹⁰, Nizhegorodceva I.A.¹¹, Varibrus E.V.¹¹, Aleksandrova I.A.¹², Lazareva A.V.¹³, Kryzhanovskaya O.A.¹³, Markelova N.N.¹⁴, Chernyavskaya Yu.L.¹⁵, Lebedeva E.V.¹⁵, Kirillova G.Sh.¹⁶, Bekker G.G.¹⁷, Popova L.D.¹⁸, Elokhina E.V.¹⁸, Smol'kova Yu.E.¹⁹, Zinov'ev D.Yu.¹⁹, Ityaeva L.N.²⁰, Blinova G.Yu.²⁰, Zubareva N.A.²¹, Vityazeva V.P.²², Plaksina M.G.²², Kucevalova O.Yu.²³, Panova N.I.²³, Suborova T.N.²⁴, Polukhina O.V.²⁵, Voroshilova T.M.²⁶, Churikova E.M.²⁶, Moskvitina E.N.²⁷, Krechikova O.I.¹, Petrova T.A.²⁸, Mart'yanova N.M.²⁹, Khokhlova K.O.²⁹, Gudkova L.V.³⁰, Bykonya S.A.³⁰, Khokhlyavina R.M.³¹, Shpil'kina L.V.³¹, Burasova E.G.³², Khrebtovskaya V.A.³², Molchanova I.V.³³, Zvonaryova O.V.³³, Kornilova P.A.³⁴, Kryanga V.G.³⁴, Portnyagina U.S.³⁵, Shamaeva S.Kh.³⁵

¹ Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

² Kazan Federal University, Kazan, Russia

³ Arkhangelsk Regional Clinical Hospital, Arkhangelsk, Russia

⁴ Amur Regional Children Clinical Hospital, Blagoveshchensk, Russia

⁵ Voronezh City Clinical Emergency Care Hospital #10, Voronezh, Russia

⁶ Sverdlovsk Regional Clinical Psychiatric Hospital, Yekaterinburg, Russia

⁷ Clinical Diagnostic Center, Yekaterinburg, Russia

⁸ City Clinical Hospital #9, Izhevsk, Russia

⁹ Republican Clinical Hospital, Kazan, Russia

¹⁰ Research Institute – Regional Clinical Hospital #1 named after Prof. S.V. Ochapovskij, Krasnodar, Russia

¹¹ Regional Clinical Hospital #2, Krasnodar, Russia

¹² National Medical Research Center of Neurosurgery named after N.N. Burdenko, Moscow, Russia

¹³ National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia

¹⁴ Russian Scientific Center of Roentgenradiology, Moscow, Russia

¹⁵ Murmansk Regional Clinical Hospital named after P.A. Bayandin, Murmansk, Russia

¹⁶ Emergency Care Hospital, Naberezhnye Chelny, Russia

¹⁷ Clinical Hospital at the Novosibirsk-Main Station, Novosibirsk, Russia

¹⁸ Regional Clinical Hospital, Omsk, Russia

- ¹⁹ Clinical Hospital #6 named after G.A. Zakhar'in, Penza, Russia
²⁰ Regional Oncology Dispensary, Penza, Russia
²¹ Perm State Medical University named after E.A. Wagner, Perm, Russia
²² Children Republican Hospital, Petrozavodsk, Russia
²³ Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia
²⁴ S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia
²⁵ Saint-Petersburg, Russia
²⁶ All-Russian Center of Emergency and Radiation Medicine named after A.M. Nikiforov, Saint-Petersburg, Russia
²⁷ Siberian Federal Scientific Clinical Center, Seversk, Russia
²⁸ Clinical Hospital #1, Smolensk, Russia
²⁹ Tol'yatti City Clinical Hospital #5, Tol'yatti, Russia
³⁰ Tomsk Regional Clinical Hospital, Tomsk, Russia
³¹ Regional Clinical Hospital #1, Tyumen, Russia
³² Republican Clinical Hospital named after N.A. Semashko, Ulan-Ude, Russia
³³ Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia
³⁴ Republican Hospital #1 – National Medical Center, Yakutsk, Russia
³⁵ Republican Hospital #2 – Center of Emergency Medical Care, Yakutsk, Russia

Contacts:

Marina V. Sukhorukova
 E-mail: Marina.Sukhorukova@antibiotic.ru

Key words: nosocomial infections, Enterobacterales, antimicrobial resistance.

Objective. To assess rates of antimicrobial resistance and production of the clinically important acquired resistance mechanisms (extended spectrum beta-lactamases [ESBL] and carbapenemases) in nosocomial strains of Enterobacterales, and to determine genotypes and prevalence of “international high-risk clones” among carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated in various Russian regions within the “MARATHON 2015–2016” study.

Materials and methods. A total of 2786 non-duplicate nosocomial isolates of Enterobacterales, including 1316 isolates of *K. pneumoniae* and 837 isolates of *Escherichia coli* isolated in 49 hospitals from 25 cities in Russia in 2015–2016 were studied. Species identification of isolates was performed using MALDI-TOF mass-spectrometry. Broth microdilution method was used for susceptibility testing and phenotypic ESBL detection. The presence of acquired carbapenemase genes of VIM, IMP, NDM, KPC and OXA-48-groups was determined using real-time PCR. Genotyping of *K. pneumoniae* isolates was performed by multi-locus sequence typing (MLST) according to the Pasteur institute database and Diancourt et al. method.

Results. A total of 48.2% of all bacterial pathogens isolated within the “MARATHON 2015–2016” study comprised of Enterobacterales. The most common pathogens were *K. pneumoniae* (47.2%) and *E. coli* (30.0%). The majority of Enterobacterales isolates were resistant to oxyimino-β-lactam compounds: cefotaxime (78.4%), ceftazidime (67.2%), cefepime (68.4%) and aztreonam (71.5%). ESBL production was determined in 67.8% of isolates. Resistance to carbapenems (imipenem, meropenem and ertapenem) was observed in 6.9%, 6.5% and 23.6% of all Enterobacterales isolates, respectively. A total of 14.4% of Enterobacterales isolates carried the genes of class D carbapenemases OXA-48 (11.4%), class B carbapenemases NDM-1 (2.7%) and class A carbapenemases KPC (< 0.1%). Eight isolates (0.3%) of *K. pneumoniae* carried the genes of NDM- and OXA-48-like carbapenemases simultaneously and one isolate (< 0.1%) of *Proteus mirabilis* carried the genes of NDM and VIM metallo-β-lactamases. Most of the 57 genotyped carbapenemase-producing *K. pneumoniae* isolates belonged to the “international high-risk clones”: CG395 (45.6%), CG11 (12.3%), CG147 (10.5%) and CG307 (10.5%). The most active agents were ceftazidime/avibactam (3.5% of resistant isolates) and aztreonam/avibactam (MIC₅₀ and MIC₉₀ were 0.06 and 0.25 mg/L respectively). Colistin was the most active agent *in vitro* (18.6% of resistant isolates) among non-β-lactam antibiotics. The only 3.9% of *E. coli* isolates were resistant to tigecycline. The MIC₅₀/MIC₉₀ values of tigecycline for *K. pneumoniae* were 0.5 and 2 mg/L and did not exceed ECOFF value (≤ 2 mg/L).

Conclusions. The results of this study showed an extremely high prevalence of resistance to most antibiotics, including carbapenems, and a variety of carbapenemase genes in nosocomial isolates of Enterobacterales. It makes a selection of empiric antibiotic treatment extremely difficult and warrants the need for regular resistance surveillance in every hospital.

Введение

Представители порядка Enterobacterales в совокупности являются наиболее частыми возбудителями нозокомиальных инфекций в России на протяжении последних лет [1–6]. В рамках исследования «МАРАФОН» в 2015–2016 гг. доля изолятов Enterobacterales (n = 2786) среди всех бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций (n = 5783) достигла 48,2%.

Энтеробактерии характеризуются высоким уровнем устойчивости к антимикробным препаратам (АМП), которые применяются для лечения инфекций в стационаре. На сегодняшний день наибольшее клиническое значе-

ние имеет рост резистентности нозокомиальных штаммов энтеробактерий к современным цефалоспорином и карбапенемам. По данным ранее проведенных исследований, устойчивость к цефалоспорином среди госпитальных штаммов энтеробактерий в России достигла уровня > 80,0% главным образом вследствие эпидемического распространения штаммов, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) [2, 5, 7]. Результаты предыдущих этапов исследования «МАРАФОН» (2011–2012 и 2013–2014 гг.) показали отчетливую тенденцию к повышению уровня резистентности к карбапенемам, в

том числе опосредованную продукцией карбапенемаз, среди нозокомиальных энтеробактерий [5, 6].

Кроме того, результаты исследований последних лет свидетельствуют о появлении и росте приобретенной резистентности *K. pneumoniae* и *E. coli* к таким не-бета-лактамам антибиотикам, как колистин, тигециклин и фосфомицин, которые обычно рассматриваются как «препараты резерва», однако в последнее время всё чаще используются для лечения нозокомиальных инфекций в связи с ростом устойчивости к «препаратам первого ряда» [5, 6].

Материалы и методы исследования

Источники бактериальных изолятов. В исследование включены клинические изоляты представителей порядка Enterobacterales ($n = 2786$), выделенные у пациентов с нозокомиальными инфекциями в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования антибиотикорезистентности возбудителей инфекций у госпитализированных пациентов («МАРАФОН») из 49 стационаров 25 городов России (Архангельск, Благовещенск, Воронеж, Екатеринбург, Ижевск, Казань, Краснодар, Москва, Мурманск, Набережные Челны, Новосибирск, Омск, Пенза, Пермь, Петрозаводск, Ростов-на-Дону, Санкт-Петербург, Северск, Смоленск, Тольятти, Томск, Тюмень, Улан-Удэ, Челябинск и Якутск) с января 2015 г. по декабрь 2016 г. Выделение и первичная идентификация изолятов бактерий проводились в локальных клинических микробиологических лабораториях учреждений, принявших участие в исследовании. Все включенные в данный обзор изоляты оценены как нозокомиальные сотрудниками ЛПУ в соответствии с формальным критерием нозокомиальной инфекции ВОЗ: инфекции, возникшие у пациента не менее чем через 48 ч. после госпитализации, не находившиеся в инкубационном периоде или явившиеся следствием предшествующей госпитализации, а также с учетом их вероятной этиологической значимости в развитии определенной инфекции. На Рисунке 1 представлено распределение изолятов в зависимости от локализации инфекции и источника их выделения.

Окончательная видовая идентификация изолятов, определение их чувствительности к АМП, а также выявление наиболее значимых механизмов антибиотикоре-

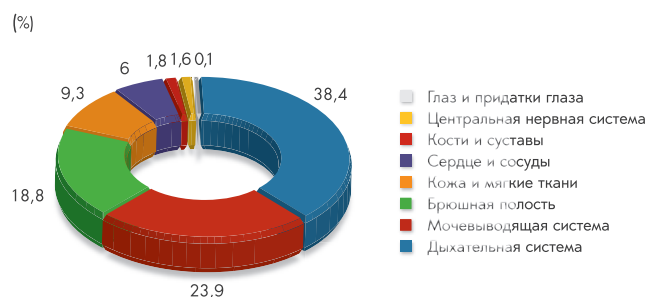


Рисунок 1. Распределение нозокомиальных изолятов энтеробактерий ($n = 2786$) в зависимости от локализации инфекции

зистентности проводились в центральной лаборатории НИИ антимикробной химиотерапии (НИИАХ) ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России (Смоленск). Видовой состав включенных в исследование изолятов представлен в Таблице 1.

Видовая идентификация и хранение изолятов. В центральной лаборатории идентификацию до вида проводили для всех исследуемых изолятов методом время-пролетной масс-спектрометрии с матрично-ассоциированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) с использованием системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper Compass 4.1.80 (Bruker Daltonics, Германия). Рекомендуемые значения Score $\geq 2,0$ использовали в качестве критерия надежной видовой идентификации. До проведения анализа изоляты хранили при температуре -70°C в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 30% глицерина.

Определение чувствительности к АМП. Определение чувствительности ко всем АМП выполняли методом последовательных разведений в бульоне Мюллера – Хинтона (Oxoid, Великобритания) в соответ-

Таблица 1. Видовой состав представителей порядка Enterobacterales

Вид	Количество (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	1316 (47,2)
<i>Escherichia coli</i>	837 (30,0)
<i>Enterobacter cloacae</i>	162 (5,8)
<i>Proteus mirabilis</i>	159 (5,7)
<i>Serratia marcescens</i>	124 (4,5)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	40 (1,4)
<i>Morganella morganii</i>	28 (1,0)
<i>Citrobacter freundii</i>	26 (0,9)
<i>Klebsiella aerogenes</i>	25 (0,9)
<i>Enterobacter asburiae</i>	22 (0,8)
<i>Proteus vulgaris</i>	16 (0,6)
<i>Citrobacter braakii</i>	6 (0,2)
<i>Enterobacter kobei</i>	3 (0,1)
<i>Proteus penneri</i>	3 (0,1)
<i>Serratia liquefaciens</i>	3 (0,1)
<i>Serratia ureilytica</i>	3 (0,1)
<i>Enterobacter spp.</i>	2 (< 0,1)
<i>Providencia rettgeri</i>	2 (< 0,1)
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	2 (< 0,1)
<i>Raoultella planticola</i>	2 (< 0,1)
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	1 (< 0,1)
<i>Hafnia alvei</i>	1 (< 0,1)
<i>Klebsiella variicola</i>	1 (< 0,1)
<i>Pantoea agglomerans</i>	1 (< 0,1)

ствии с требованиями Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) и стандартов ISO 20776-1:2006 / ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 [8–10]. Клинические категории чувствительности изолятов к АМП определяли на основании пограничных значений минимальных подавляющих концентраций (МПК), в соответствии с рекомендациями EUCAST, версия 9.0 [10]. Контроль качества определения чувствительности проводили с использованием штаммов: *E. coli* ATCC®25922, *E. coli* ATCC®35218 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853.

Выявление продукции БЛРС. Наличие БЛРС определяли у всех изолятов с МПК минимум одного из исследуемых оксимино-бета-лактамов (цефотаксим, цефтазидим, цефепим) > 1 мг/л на основании фенотипического метода оценки их синергизма с клавулановой кислотой. Заключение о продукции БЛРС делали в случае снижения МПК оксимино-бета-лактама в присутствии клавулановой кислоты в фиксированной концентрации 4 мг/л в 8 и более раз [12].

Выявление карбапенемаз. Продукцию карбапенемаз определяли фенотипически методом инактивации карбапенемов (Carbapenem Inactivation Method, CIM) [11]. Наличие генов наиболее распространенных металло-бета-лактамаз (VIM, IMP и NDM групп) и сериновых карбапенемаз (групп KPC и OXA-48) у всех изолятов, имеющих значения МПК меропенема и эртапенема > 0,125 мг/л [12], определяли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов «АмплиСенс® MDR MBL-FL» и «АмплиСенс® MDR KPC/OXA-48-FL» (ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия) и системы Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия). В качестве положительных контролей использовали имеющиеся в коллекции НИИАХ штаммы *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, продуцирующие известные карбапенемазы перечисленных типов.

Молекулярно-генетическое типирование. Для карбапенемазопродуцирующих штаммов *K. pneumoniae* проводили внутривидовое типирование методом мультилокусного секвенирования-типирования (MLST) согласно схеме, предложенной Институтом Пастера (https://bigsd.b.pasteur.fr/klebsiella/primers_used.html), основанной на анализе 7 хромосомных локусов (*gapA*, *infB*, *mdh*, *pgi*, *phoE*, *rpoB* и *tonB*), и по методу Diancourt и соавт. [13]. Анализ полученных нуклеотидных последовательностей, идентификацию аллелей проводили с использованием программы Bionumerics v. 8.0. Сиквентипы (ST) устанавливали в соответствии с аллельными профилями базы данных BIGSdb (<http://bigsd.b.pasteur.fr/klebsiella/>).

Результаты и обсуждение

Результаты оценки чувствительности всех изолятов Enterobacteriales, а также наиболее распространенных видов (*K. pneumoniae* и *E. coli*) и видов, продуцирующих

хромосомные цефалоспорины AmpC, представлены в Таблицах 2–5.

Резистентность к оксимино-бета-лактамам (цефалоспорином III–IV поколения и азтреонаму) выявлена у 78,4% всех изолятов энтеробактерий, в том числе у 90,2% изолятов *K. pneumoniae* (к цефотаксиму), 72,6% изолятов *E. coli* (к цефотаксиму) и от 41,2% (к цефепиму) до 59,8% (к цефотаксиму) изолятов-продуцентов хромосомных AmpC. Продукция БЛРС выявлена у 67,8% нозокомиальных изолятов энтеробактерий (Таблица 6).

Резистентность к карбапенемам (имипенему, меропенему и эртапенему) проявляли 6,9%, 6,5% и 23,6% всех изолятов энтеробактерий соответственно. Наиболее высокая частота резистентности к карбапенемам отмечена среди изолятов *K. pneumoniae* – 11,9%, 12,2% и 41,6% соответственно.

Наличие карбапенемаз выявлено у 14,4% изолятов энтеробактерий. Карбапенемазы молекулярного класса D, относящиеся к группе OXA-48, выявлены у 11,4%; молекулярного класса B, относящиеся к группе NDM-1, – у 2,7%; молекулярного класса A, относящиеся к группе KPC, – у < 0,1%. У 8 изолятов (0,3%) *K. pneumoniae* обнаружено одновременное наличие генов групп OXA-48 и NDM-1, у 1 (< 0,1%) изолята *Proteus mirabilis* – одновременное наличие генов металло-бета-лактамаз групп NDM-1 и VIM.

Продукция карбапенемаз обнаружена у 349 (26,5%) изолятов *K. pneumoniae*, 16 (1,9%) изолятов *E. coli*, 8 (5,0%) изолятов *P. mirabilis*, 23 (17,7%) изолятов *Serratia* spp., 3 (12,0%) изолятов *Klebsiella aerogenes* и 2 (1,2%) изолятов *Enterobacter cloacae* (Таблица 7).

По сравнению с результатами предыдущего этапа исследования доля нозокомиальных изолятов энтеробактерий, продуцирующих известные карбапенемазы, статистически значимо увеличилась с 7,8% в 2013–2014 гг. до 14,4% в 2015–2016 гг. ($p = 0,0001$) (Рисунок 2) [6].

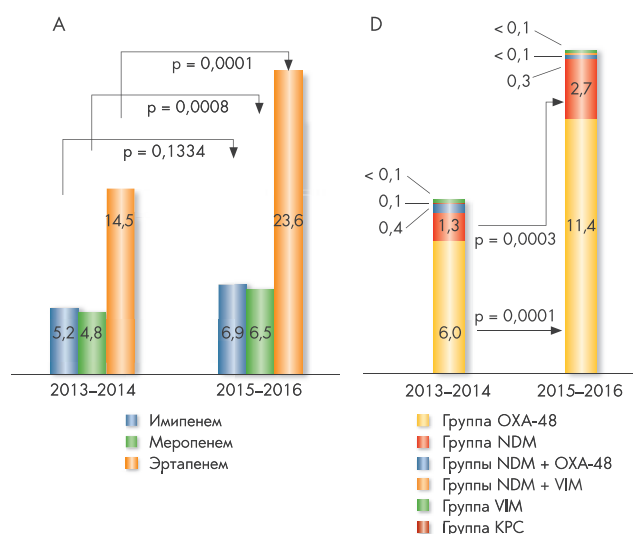


Рисунок 2. Динамика резистентности к карбапенемам (А) и продукции карбапенемаз (В) у нозокомиальных штаммов Enterobacteriales в России по данным исследований «МАРАФОН» в 2013–2014 гг. и 2015–2016 гг., %

Таблица 2. Чувствительность нозокомиальных изолятов Enterobacterales (n = 2786) к антибиотикам

Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мг/л																% изолятов по категориям*			МПК, мг/л					
	0,008	0,016	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	У	Р	50%	90%			
Азтреонам/авибактам (4 мг/л)***	10,2	6,9	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	25,0	3,6	71,5	64	256				
Амикацин	58,4	20,4	14,4	3,8	1,3	0,5	0,5	<0,1	0,1	0,2	0,1	<0,1	0,1	<0,1	0,1						0,06	0,25			
Амоксициллин/клавуланат (2 мг/л)					0,4	1,7	9,5	23,0	26,6	14,6	4,3	2,9	0,9	0,6	0,6	14,9	75,9	4,3	19,8	4	512				
Ампициллин					0,1	0,3	0,4	1,4	2,5	1,4	1,8	2,5	2,4	2,3	84,7		6,1		93,9	256	256				
Гентамицин					0,9	6,0	17,6	18,7	6,5	1,0	0,6	2,2	6,3	9,7	11,3	19,3	49,7	1,0	49,3	4	256				
Доксисицилин***					0,6	3,5	14,0	15,3	7,2	10,9	15,4	19,6	9,8	2,5	1,3						8	64			
Имипенем					6,1	45,1	17,9	8,6	6,5	5,3	3,6	2,0	1,9	3,0							89,5	3,6	6,9	0,125	4
Колистин					0,1	2,9	16,7	37,8	18,5	5,5	1,6	1,2	1,0	0,5	0,6	1,1	12,6	81,4		18,6	0,5	256			
Меропенем					68,0	8,8	3,8	2,7	3,4	3,2	1,6	2,0	2,4	4,1							90,0	3,6	6,5	0,06	4
Нетилицин					2,2	7,8	11,6	10,8	4,3	6,3	13,7	13,9	8,7	20,7							36,7	6,3	57,0	8	64
Пиперациллин/тазобактам (4 мг/л)					3,6	1,5	6,4	17,6	11,5	8,0	9,7	6,8	5,5	5,3	24,2						48,5	9,7	41,8	16	256
Тигецилин****	0,5	2,6	14,3	19,9	25,1	19,8	8,4	6,4	2,5	0,6											0,5	2			
Тикарциллин/клавуланат (2 мг/л)					0,7	1,2	1,9	5,9	6,3	4,1	5,5	4,8	8,1	61,5							16,0	4,1	79,9	256	256
Тобрамицин					0,1	0,8	4,2	12,1	13,9	4,5	3,4	5,7	15,7	14,7	8,0	2,9	14,1	35,5	3,5	61,1	16	256			
Триметоприм/сульфаметоксазол (1:19)**	<0,1	21,9	5,1	3,9	3,4	2,0	1,1	0,8	0,3	0,1	0,9	16,4	44,1								36,3	1,1	62,6	128	256
Фосфомицин					1,0	3,5	7,1	9,5	7,9	9,3	14,5	14,8	13,2	8,1	7,1	4,0					67,7		32,3	16	256
Хлорамфеникол	<0,1	<0,1	<0,1	0,1	0,3	2,8	17,9	20,2	12,7	3,8	3,8	6,1	32,1								41,4		58,6	16	256
Цефепим	15,4	3,6	2,3	2,2	2,4	2,0	3,7	5,2	7,6	8,1	9,7	11,0	26,8								25,9	5,7	68,4	32	256
Цефотаксим	10,7	4,4	2,4	1,8	1,5	0,8	1,3	1,4	2,0	1,8	3,8	5,0	63,0								20,8	0,8	78,4	256	256
Цефтазидим	3,1	5,7	7,8	5,1	3,8	3,4	4,0	3,8	5,9	8,0	9,2	16,7	23,5								25,5	7,4	67,2	32	256
Цефтазидим/авибактам (4 мг/л)	23,4	13,5	18,5	18,3	16,9	4,7	0,8	0,4	0,4	<0,1											96,5		3,5	0,25	1
Ципрофлоксацин	20,0	3,3	2,3	1,8	3,0	2,0	3,2	3,3	3,4	4,7	8,8	11,8	32,2								27,5	3,0	69,5	32	128
Эртапенем	0,2	<0,1	52,1	8,5	8,0	7,6	3,5	3,4	2,7	2,7	3,5	7,7									76,4		23,6	0,06	16

Здесь и далее в Таблицах 3–6 и 8:

* Ч – чувствительный; У – чувствительный при увеличенной экспозиции; Р – резистентный.

** Указанные значения МПК соответствуют концентрации триметоприма.

*** Пограничные значения МПК не установлены EUCAST.

**** Пограничные значения установлены EUCAST только для *E. coli* и *S. koseri*.

Таблица 3. Чувствительность нозокомиальных изолятов *K. pneumoniae* (n = 1316) к антибиотикам

Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мг/л													% изолятов по категориям*				МПК, мг/л		
	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	У	Р	50%	90%
Азтреонам	5,9	1,9	1,9	0,7	0,3	0,5	0,2	0,8	2,7	4,9	5,5	10,3	64,4			10,7	0,7	88,6	256	256
Азтреонам/авибактам (4 мг/л)**	41,6	27,5	23,7	5,6	0,6	0,2	0,2	<0,1	0,2	<0,1	0,2	<0,1	0,2						0,125	0,25
Амикацин			0,3	2,2	11,1	16,2	25,1	15,4	2,7	3,0	1,1	0,4	0,8	21,7		70,3	2,7	27,1	4	512
Амоксициллин/клавуланат (2 мг/л)			0,2	0,2	0,5	3,2	1,4	2,2	3,7	6,7	7,4	14,1	57,9			10,2		89,8	256	256
Ампициллин					0,2			0,5	2,1	2,7	1,4	0,6	92,6			0,7		99,3	256	256
Гентамицин			0,8	7,3	16,0	10,6	1,7	0,5	0,3	1,6	7,2	12,9	16,4	24,6		36,5	0,5	63,1	64	256
Доксициклин***			0,3	1,1	11,6	17,6	6,5	5,5	18,4	29,6	8,8	0,7							16	32
Имипенем	3,6	42,2	17,9	7,4	6,3	6,1	4,7	3,3	3,1	5,4						83,4	4,7	11,9	0,25	8
Колистин	0,2	4,6	18,5	41,4	19,5	6,5	2,3	1,8	1,2	0,8	0,8	1,2	1,1			90,7		9,4	0,5	2
Меропенем	50,1	10,5	5,2	3,8	5,8	5,8	3,0	3,6	4,3	7,9						81,2	6,7	12,2	0,06	16
Нетилицин			2,8	6,9	5,4	1,3	1,8	7,2	18,9	17,2	11,0	27,4				18,2	7,2	74,5	16	64
Пиперациллин/тазобактам (4 мг/л)			0,2	<0,1	1,3	6,1	8,8	7,4	10,1	7,2	7,1	7,1	44,6			23,9	10,1	66,0	128	256
Тигециклин****	<0,1	<0,1	1,6	17,3	34,8	29,6	10,5	4,8	1,1	0,2									0,5	2
Тикарциллин/клавуланат (2 мг/л)					0,4	<0,1	0,5	2,4	2,8	1,3	2,7	2,4	5,7	81,8		6,2	1,3	92,5	256	256
Тобрамицин	0,2	0,6	5,1	7,6	2,3	0,7	2,3	6,8	22,4	18,3	10,4	3,3	20,1			16,4	2,3	81,3	32	256
Триметоприм/сульфаметоксазол (1:19)**			9,1	3,8	2,2	4,3	2,6	1,5	0,8	0,5	<0,1	0,3	5,4	69,5		22,0	1,5	76,5	256	256
Фосфомицин					0,2	0,3	1,7	6,8	18,7	21,1	22,7	13,6	10,3	4,6		48,8		51,2	64	256
Хлорамфеникол					<0,1	0,2	2,1	13,0	11,3	8,3	4,4	3,6	3,3	53,9		26,6		73,4	256	256
Цефепим	6,2	1,2	0,9	0,8	0,8	0,8	1,6	4,3	8,4	9,0	12,8	16,8	36,3			10,0	2,4	87,6	128	256
Цефотаксим	6,3	1,0	0,9	0,7	0,3	0,6	0,5	0,4	0,3	0,9	2,4	3,9	81,8			9,2	0,6	90,2	256	256
Цефтазидим	1,1	3,2	2,6	2,3	1,8	0,9	0,8	2,3	4,4	6,5	9,1	24,2	40,8			10,9	1,8	87,3	128	256
Цефтазидим/авибактам (4 мг/л)	8,9	8,0	17,0	23,5	28,5	7,7	0,9	<0,1	0,5			<0,1	4,9			94,5		5,5	0,5	2
Ципрофлоксацин	9,6	1,6	1,8	0,5	2,9	1,5	2,8	3,7	2,1	4,7	7,2	14,0	47,6			13,5	2,9	83,6	64	128
Эртапенем	26,4	10,0	10,6	11,5	4,9	5,2	5,2	5,0	6,5	14,9						58,4		41,6	0,5	32

Таблица 4. Чувствительность нозокомиальных изолятов *E. coli* (n = 837) к антибиотикам

Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мг/л												% изолятов по категориям*			МПК, мг/л				
	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	У	Р	50%	90%
Азтреонам	9,3	13,9	4,2	0,5	1,2	3,1	3,8	5,6	8,2	10,0	8,1	10,2	21,9			29,0	6,9	64,0	32	256
Азтреонам/авибактам (4 мг/л)***	81,6	11,0	2,4	0,6	1,8	1,1	0,8	0,1	0,4	0,2									0,06	0,125
Амикацин			0,4	0,2	5,3	28,6	35,0	18,0	7,0	2,4	0,4	0,1	0,1	0,1	2,5	87,5	7,1	5,5	4	16
Амоксициллин/клавуланат (2 мг/л)		0,2	0,2	0,4	1,9	5,0	12,5	12,3	10,2	11,7	11,4	11,4	22,8			32,6		67,4	32	256
Ампициллин			0,1		0,5	3,5	7,9	2,9	0,8	0,1	0,4	0,7	83,2			14,8		85,2	256	256
Гентамицин		0,5	2,0	17,6	32,9	15,3	1,6	0,2	2,5	6,1	7,9	6,9	6,6			68,2	1,6	30,2	1	128
Доксициклин***			1,2	7,0	21,5	8,8	3,1	17,7	17,7	13,9	8,7	0,4							8	32
Имипенем	14,5	68,0	11,2	3,8	0,8	0,4	0,6	0,1	0,6							98,7	0,6	0,7	0,125	0,25
Колистин		1,2	17,7	49,5	25,0	5,4	0,4	0,4	0,2			0,1	0,2			98,7		1,3	0,5	1
Меропенем		93,5	3,1	1,1	0,7	0,1	0,5	0,1	0,1	0,1	0,6					99,0	0,2	0,7	0,06	0,06
Нетилицин		0,8	7,9	19,4	22,7	6,3	5,4	10,8	13,5	8,0	5,3					57,1	5,4	37,5	1	32
Пиперациллин/тазобактам (4 мг/л)			0,6	0,2	10,6	32,0	17,3	9,8	10,6	7,0	3,1	2,6	6,0			70,6	10,6	18,8	4	64
Тигециклин	1,4	8,5	43,4	30,7	12,1	3,1	0,6	0,1	0,1							96,1		3,9	0,125	0,5
Тикарциллин/клавуланат (2 мг/л)				0,4	0,6	1,3	7,4	6,7	5,3	7,8	7,8	12,1	50,8			16,4	5,3	78,4	256	256
Тобрамицин		0,6	2,2	14,9	31,2	8,1	3,2	5,0	9,4	13,4	7,2	2,7	2,0			57,0	3,2	39,8	2	64
Триметоприм/сульфаметоксазол (1:19)**	0,1	35,8	3,8	3,0	1,4	0,5	0,2	0,1		0,4	1,8	36,8	16,0			44,7	0,2	55,1	128	256
Фосфомицин				2,9	9,6	20,2	26,0	17,9	11,1	5,6	3,0	1,7	1,2	0,7	0,1	96,3		3,7	2	16
Хлорамфеникол	0,1	0,1	0,1	0,1	0,6	2,6	29,5	34,5	11,6	2,5	2,7	4,1	11,4			67,7		32,3	8	256
Цефепим	20,7	4,4	2,4	2,9	3,6	3,2	7,0	7,8	7,6	7,6	5,9	5,3	21,6			33,9	10,3	55,8	8	256
Цефотаксим	15,7	8,4	1,4	0,6	1,0	0,4	1,9	1,8	3,0	2,9	4,3	5,3	53,5			27,0	0,4	72,6	256	256
Цефтазидим	1,8	8,7	12,1	5,9	4,4	5,6	6,5	5,9	8,4	11,2	10,8	10,4	8,5			32,9	12,1	55,1	8	128
Цефтазидим/авибактам (4 мг/л)	40,3	22,6	20,9	8,1	4,5	1,4	0,8	0,4	0,2				0,7			99,0		1,0	0,125	0,5
Ципрофлоксацин	26,5	0,8	0,5	2,7	3,8	0,7	1,2	0,8	4,5	5,0	14,3	13,4	25,6			30,6	3,8	65,6	32	128
Эртапенем	78,5	6,3	4,7	4,5	2,3	1,7	0,4	0,2	0,5	1,0						94,0		6,0	0,06	0,5

Таблица 5. Чувствительность к антибиотикам нозокомиальных изолятов Enterobacterales, продуцирующих хромосомные цефалоспорины AmrC (n = 408)[#]

Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мг/л																% изолятов по категориям*				МПК, мг/л		
	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	У	Р	50%	90%			
Азтреонам	15,4	8,8	12,3	5,6	2,9	1,5	1,5	1,5	1,5	4,9	12,0	9,8	10,3	13,5		45,1	2,9	52,0	16	256			
Азтреонам/авибактам (4 мг/л)***	50,6	24,3	15,2	5,2	3,4	0,5	0,2				0,2			0,2					0,06	0,25			
Амикацин			1,0	2,7	13,7	35,8	19,6	7,8	2,9	0,5	1,2	1,5	0,2	13,0		80,6	2,9	16,4	2	512			
Амоксициллин/клавуланат (2 мг/л)					0,7	1,5	2,2	4,4	5,4	15,7	70,1					2,2		97,8	256	256			
Ампициллин					0,5	2,0	2,9	6,4	8,1	10,0	70,1					2,5		97,6	256	256			
Гентамицин		2,2	11,5	24,8	18,4	4,7	1,2	1,0	1,5	5,6	6,6	5,9	16,7			61,5	1,2	37,3	1	256			
Доксициклин***			0,2	1,2	9,8	27,9	19,1	19,6	8,1	6,6	5,9	1,5							4	32			
Имипенем	0,2	17,2	33,1	20,6	14,2	7,6	2,9	1,2	1,0	2,0						92,9	2,9	4,2	0,25	2			
Колистин		2,0	14,0	18,9	10,5	4,7	2,5	1,2	2,0		1,0	2,9	40,4			50,0		50,0	2	256			
Меропенем	73,3	12,7	3,4	3,2	1,5	2,0	0,5	1,0	1,7	0,7						96,1	1,5	2,5	0,06	0,5			
Нетилицин		3,4	12,0	17,2	13,0	8,1	7,4	8,1	10,0	4,7	16,2					53,7	7,4	39,0	2	64			
Пиперациллин/тазобактам (4 мг/л)		4,4	1,5	7,8	25,5	12,5	8,6	10,5	6,9	7,4	8,1					60,3	10,5	29,2	4	128			
Тигециклин****		2,0	12,3	30,9	30,6	12,5	8,6	2,9	0,2										1	4			
Тикарциллин/клавуланат (2 мг/л)			1,2	0,5	1,2	9,3	12,0	7,4	7,4	6,4	8,6	46,1				24,3	7,4	68,4	128	256			
Тобрамицин	0,2	1,7	6,1	21,1	14,2	7,8	7,1	5,1	9,1	9,8	3,9	1,0	12,7			51,2	7,1	41,7	2	256			
Триметоприм/сульфаметоксазол (1:19)**		31,1	13,0	11,0	5,4	2,9	0,5	0,5		0,7	10,5	24,3				63,5	0,5	36,0	0,5	256			
Фосфомицин			0,5	2,5	3,7	3,9	6,1	11,3	21,1	22,8	9,6	5,9	8,6	4,2		71,8		28,2	32	256			
Хлорамфеникол					1,7	11,5	25,7	30,1	5,6	3,2	5,4	16,7				39,0		61,0	16	256			
Цефепим	27,5	8,8	5,9	4,7	5,6	3,7	2,7	3,4	6,1	7,1	7,4	5,6	11,5			52,5	6,4	41,2	1	256			
Цефотаксим	4,9	7,6	9,3	8,3	7,1	2,9	2,5	2,9	4,2	1,5	5,6	37,5				37,3	2,9	59,8	32	256			
Цефтазидим	2,9	5,6	14,2	10,3	8,1	5,6	7,1	4,4	5,9	9,1	10,8	5,1				41,2	12,8	46,1	4	128			
Цефтазидим/авибактам (4 мг/л)	13,7	15,2	25,0	29,7	12,7	1,5		0,2	0,7		0,2	1,0				98,0		2,0	0,25	1			
Ципрофлоксацин	34,8	13,0	7,8	4,7	2,5	6,4	8,8	6,9	3,4	3,2	2,2	2,5	3,9			60,3	2,5	37,3	0,125	16			
Эртапенем		59,8	12,0	10,3	5,1	3,4	2,7	1,0	1,0	2,0	2,7					87,3		12,8	0,06	1			

[#] *Enterobacter cloacae* (n = 162); *Serratia marcescens* (n = 124); *Morganella morganii* (n = 28); *Citrobacter freundii* (n = 26); *Klebsiella aerogenes* (n = 25); *Enterobacter asburiae* (n = 22); *Citrobacter braakii* (n = 6); *Enterobacter kobei* (n = 3); *Serratia liquefaciens* (n = 3); *Serratia ureilytica* (n = 3); *Enterobacter spp.* (n = 2); *Providencia rettgeri* (n = 2); *Enterobacter cancerogenus* (n = 1); *Hafnia alvei* (n = 1).

Таблица 6. Продукция БЛРС у нозокомиальных изолятов энтеробактерий

	Всего изолятов, n	Продуценты БЛРС, n	%
Enterobacterales	2786	1890	67,8
<i>K. pneumoniae</i>	1316	995	75,6
<i>E. coli</i>	837	591	70,6
Продуценты хромосомных цефалоспоринов AmpC [#]	408	167	41,0

[#] *Enterobacter cloacae* (n = 162); *Serratia marcescens* (n = 124); *Morganella morganii* (n = 28); *Citrobacter freundii* (n = 26); *Klebsiella aerogenes* (n = 25); *Enterobacter asburiae* (n = 22); *Citrobacter braakii* (n = 6); *Enterobacter kobei* (n = 3); *Serratia liquefaciens* (n = 3); *Serratia ureilytica* (n = 3); *Enterobacter spp.* (n = 2); *Providencia rettgeri* (n = 2); *Enterobacter cancerogenus* (n = 1); *Hafnia alvei* (n = 1).

Для 57 из 349 изолятов *K. pneumoniae*, продуцирующих карбапенемазы, было проведено молекулярно-генетическое типирование, по результатам которого они были отнесены к 17 сиквенс-типам (ST) и 13 клональным группам (CG). Несмотря на большое разнообразие циркулирующих штаммов, отмечено преобладание четырех CG (ST), относящихся к «международным клонам высокого риска»: CG395 (ST395) – 26 (45,6%) изолятов, CG11 (ST11, ST437, ST895) – 7 (12,3%), CG147 (ST147) – 6 (10,5%) и CG307 (ST307, ST2499) – 6 (10,5%).

10 изолятов *K. pneumoniae*, продуцирующих металло-бета-лактамазы группы NDM-1, были отнесены к трем CG или ST: CG11 (ST11, ST437), ST147 и ST45; 45 штаммов, продуцирующих сериновые карбапенемазы группы OXA-48, – к одиннадцати CG или ST: ST395, CG307 (ST307, ST2499), CG11 (ST11, ST895), CG17 (ST17, ST336), ST15, ST48, ST101, ST147, ST218, ST377, ST1440. Два изолята, продуцирующие одновременно две карбапенемазы, OXA-48 и NDM-1, принадлежали к одному сиквенс-типу – ST1160.

Результаты определения чувствительности к АМП свидетельствуют о наиболее высокой активности цефтазидима/авибактама в отношении изолятов Enterobacterales: доля резистентных к нему изолятов составила 3,5%.

Устойчивость к колистину выявлена у 18,6% от всех

изолятов, принадлежащих в основном к видам Enterobacterales с природной резистентностью. Приобретенная резистентность к колистину выявлена у 9,4% изолятов *K. pneumoniae* и у 1,3% изолятов *E. coli*.

У 3 из 11 изолятов *E. coli*, резистентных к колистину, обнаружен ген *msr-1*; данные изоляты были чувствительны к карбапенемам, тигециклину и фосфомицину.

Отмечается высокая активность тигециклина: доля резистентных изолятов *E. coli* составила 3,9%, а значения МПК₅₀ и МПК₉₀ для *K. pneumoniae* составили 0,5 мг/л и 2 мг/л соответственно, что не превышает значение эпидемиологической точки отсечения (ECOFF), установленной EUCAST (≤ 2 мг/л) [14].

Резистентность к фосфомицину среди всех энтеробактерий составила 32,3% и существенно различалась между отдельными видами: 51,2% – у *K. pneumoniae* и 3,7% – у *E. coli*.

Среди аминогликозидов наибольшей активностью *in vitro* обладал амикацин – 19,8% резистентных изолятов.

Результаты оценки чувствительности карбапенемазопродуцирующих изолятов энтеробактерий представлены в Таблице 8. Следует отметить, что МПК имипенема, меропенема и эртапенема не превышали пограничные значения для чувствительных штаммов соответственно у 39,7%, 37,7% и 2,7% карбапенемазопродуцирующих изолятов, включенных в исследование в 2015–2016 гг.

В отношении изолятов энтеробактерий, экспрессирующих известные карбапенемазы, наиболее высокую активность *in vitro* показали комбинации цефтазидима и азтреонама с авибактамом. При этом выявлена ожидаемо высокая активность цефтазидима/авибактама в отношении подавляющего большинства протестированных к данной комбинации изолятов энтеробактерий, продуцирующих сериновые карбапенемазы OXA-48 и KPC, и низкие значения МПК азтреонама/авибактама (от 0,06 до 1 мг/л) для изолятов, продуцирующих карбапенемазы NDM-1.

Из не-бета-лактамных антибиотиков в отношении карбапенемазопродуцирующих энтеробактерий наибольшей активностью *in vitro* обладал колистин – 78,8% чувствительных изолятов; доля изолятов, чувствительных к амикацину и фосфомицину составила 45,6% и 32,9% соответственно. Значения МПК₅₀ и МПК₉₀ тигециклина для всех карбапенемазопродуцирующих изолятов составляли 1 мг/л и 4 мг/л.

Таблица 7. Видовой состав изолятов энтеробактерий, продуцирующих известные карбапенемазы (n = 401)

Вид	Количество	Типы карбапенемаз				
		VIM + NDM	NDM	OXA-48	KPC	OXA-48 + NDM
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	349		57	283	1	8
<i>Escherichia coli</i>	16		6	10		
<i>Proteus mirabilis</i>	8	1	7			
<i>Enterobacter cloacae</i>	2		1	1		
<i>Klebsiella aerogenes</i>	3			3		
<i>Serratia spp.</i>	23		3	20		

Таблица 8. Чувствительность к антибиотикам нозокомиальных изолятов Enterobacterales, продуцирующих карбапенемазы (n = 401)

Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мг/л														% изолятов по категориям*			МПК, мг/л	
	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	У	Р	50%
Азтреонам	0,2	1,0	5,5	3,5	0,5	0,2	0,7	0,2	1,2	2,7	2,2	5,5	76,3		10,7	1,0	88,3	256	256
Азтреонам/авибактам (4 мг/л)**	17,2	24,9	42,9	11,7	1,7	0,7	0,7											0,25	0,5
Амикацин				0,7	1,7	9,5	19,5	14,2	3,7	2,5	2,0	0,2	1,7	44,1	45,6	3,7	50,6	32	512
Амоксициллин/клавуланат (2 мг/л)						0,2	0,2	0,2				0,2	99,0		0,3		99,8	256	256
Ампициллин						0,2							99,8		0,3		99,8	256	256
Гентамицин	0,5	1,2	10,5	12,0	2,5	0,7	0,2	1,2	6,0	8,0	14,0	43,1		26,7	0,8	72,6	128	256	
Доксициклин**					3,5	14,0	10,0	5,7	15,7	36,4	12,0	2,5	0,2					32	64
Имипенем	0,7	1,0	5,2	15,0	17,7	16,0	11,5	12,5	20,4					39,7	16,0	44,4	4	32	
Колистин	0,2	1,0	20,7	34,2	17,7	5,0	2,7	1,0	1,2	2,0	2,5	3,2	8,5	78,8		21,2	0,5	128	
Меропенем	0,7	0,5	4,0	8,7	12,2	11,5	8,0	11,0	15,2	28,2				37,7	19,0	43,4	8	32	
Нетилицин	0,5	2,2	2,7	1,5	2,2	6,7	14,0	16,0	5,5	48,6				9,2	6,7	84,0	32	64	
Пиперациллин/тазобактам (4 мг/л)					0,2		0,2	0,2	0,2	0,7	6,0	90,3		0,5	0,3	99,3	256	256	
Тигециклин****	1,2	10,2	29,4	29,9	16,2	10,2	2,0	0,7									1	4	
Тикарциллин/клавуланат (2 мг/л)									1,0		1,7	97,3					100,0	256	256
Тобрамицин	0,2	1,2	1,7	1,0	2,0	2,7	3,5	17,2	15,2	9,0	6,2	39,9		6,2	2,7	91,0	64	256	
Триметоприм/сульфаметоксазол (1:19)**	2,7	2,7	3,7	5,7	2,7	2,5	0,7	1,0			0,5	6,5	71,1	17,7	2,5	79,8	256	256	
Фосфомицин				0,2	0,7	2,2	0,7	2,5	12,2	14,2	30,4	17,2	12,7	6,7	32,9		67,1	64	256
Хлорамфеникол						0,2	3,5	7,7	11,5	5,7	5,5	61,3		11,5		88,5	256	256	
Цефепим			1,0	1,7	2,5	3,0	1,2	1,2	3,0	2,7	11,2	21,7	50,6	5,2	4,2	90,5	256	256	
Цефотаксим				0,5	0,7	2,5	3,0	2,2	1,0	0,5	0,5	1,0	88,0	1,3	2,5	96,3	256	256	
Цефтазидим	0,2	1,0	3,0	5,7	1,2	0,7	0,5	0,5	2,2	3,0	20,4	61,3		10,0	2,0	88,0	256	256	
Цефтазидим/авибактам (4 мг/л)	2,0	1,5	9,0	21,4	33,7	10,2	1,5	0,2	0,2		0,2	20,0		79,6		20,5	1	256	
Ципрофлоксацин	1,0	1,5	2,2	0,5	0,7	1,7	3,2	2,5	1,0	3,5	5,5	11,5	65,1	5,2	0,8	94,0	128	128	
Эртапенем	0,5	0,2	0,2	1,7	3,2	9,7	12,0	9,2	16,0	47,1				2,7		97,3	16	32	

Заключение

Результаты долгосрочного мониторинга этиологической структуры и антибиотикорезистентности нозокомиальных инфекций в стационарах России в описываемый период (2015–2016 гг.) свидетельствуют о сохранении доминирующей роли энтеробактерий среди возбудителей нозокомиальных инфекций и чрезвычайно широком распространении резистентности к большинству АМП у изолятов энтеробактерий, выделенных у пациентов с нозокомиальными инфекциями (крайне высокий уровень устойчивости к оксимино-бета-лактамам, статистически значимое увеличение доли изолятов, устойчивых к карбапенемам (до 14,4%), распространенность карбапенемазопродуцирующих изолятов и высокий уровень устойчивости к аминогликозидам и фторхинолонам). В связи с этим сформулировать научно обоснованные рекомендации по выбору эмпирической терапии нозокомиальных инфекций в России не представляется возможным.

Литература

1. Reshedko G.K., Ryabkova E.L., Kretchikova O.I., et al. Antimicrobial Resistance Patterns of Gram-negative Nosocomial Pathogens in Russian ICUs. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2008;10(2):96-112. Russian. (Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И. и соавт. Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров России. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2008;10(2):96-112.)
2. Sukhorukova M., Kozyreva V., Ivanchik N., et al. Five-year trends in the prevalence and types of ESBLs and antimicrobial susceptibility of ESBL-producing nosocomial strains of Enterobacteriaceae in Russia. *Proceedings of 20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)*. Vienna, Austria; 2010. Abstr. P716.
3. Skleenova E., Sukhorukova M., Timokhova A., et al. Sharp increase in carbapenem-non-susceptibility and carbapenemase production rates in nosocomial Gram-negative bacteria in Russia over the last decade. *Proceedings of 53rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)*. Denver, CO, USA; 2012. Abstr. C2-1092.
4. Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Shevchenko O.V., et al. Prevalence and Molecular Epidemiology of Gram-negative Bacteria Producing Metallo- β -lactamases (MBLs) in Russia, Belarus and Kazakhstan. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2012;14(2):132-152. Russian. (Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Шевченко О.В. и соавт. Распространенность и молекулярная эпидемиология грамотрицательных бактерий, продуцирующих металло- β -лактамазы, в России, Беларуси и Казахстане. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2012;14(2):132-152.)
5. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Enterobacteriaceae* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "MARATHON" 2011-2012. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2014;16(4):254-265. Russian. (Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011-2012 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2014;16(4):254-265.)
6. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacteriaceae isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "MARATHON" 2013-2014. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2017;19(1):49-56. Russian. (Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2013-2014 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017;19(1):49-56.)
7. Edelstein M., Pimkin M., Palagin I., Edelstein I., Stratchounski L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47(12):3724-3732. DOI: 10.1128/aac.47.12.3724-3732.2003
8. ISO 20776-1:2006 "Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems - Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. Part 1. Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases".
9. GOST R ISO 20776-1-2010 Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems. Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. Part 1. Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infection us diseases. Russian. (Национальный Стандарт ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы in vitro Исследование чувствительности инфекционных аген-

Сухорукова М.В. и соавт.

- тов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод лабораторного исследования активности антимикробных агентов против быстрорастущих аэробных бактерий, вызывающих инфекционные болезни.)
10. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 9.0. 2019. Available at: www.eucast.org/clinical_breakpoints/. Accessed June 24, 2019.
 11. van der Zwaluw K., de Haan A., Pluister G.N., et al. The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a Simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram-Negative Rods. *PLoS One*. 2015;10:e0123690. DOI: 10.1371/journal.pone.0123690
 12. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Ver 2.0. 2017. Available at: www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf. Accessed June 24, 2019.
 13. Diancourt L., Passet V., Verhoef J., Grimont P.A., Brisse S. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J Clin Microbiol*. 2005;43:4178-4182. DOI: 10.1128/JCM.43.8.4178-4182.2005
 14. Tigecycline / *Klebsiella pneumoniae* International MIC Distribution – Reference Database 2019-07-19. Available at: <https://mic.eucast.org/Eucast2/regShow.jsp?Id=41209>. Accessed July 19, 2019.