

## Антибиотикорезистентность нозокомиальных карбапенемазопродуцирующих штаммов Enterobacterales в России: результаты эпидемиологического исследования 2014-2016 гг.

Шайдуллина Э.Р.<sup>1,2</sup>, Эйдельштейн М.В.<sup>1</sup>, Скленова Е.Ю.<sup>1</sup>, Сухорукова М.В.<sup>1</sup>, Козлов Р.С.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО «Смоленский государственный медицинский университет» Минздрава России, Смоленск, Россия

<sup>2</sup> ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия

### Контактный адрес:

Эльвира Расиловна Шайдуллина  
Эл. почта: Elvira.Shaidullina@antibiotic.ru

Ключевые слова: Enterobacterales, карбапенемазы, нозокомиальные инфекции, цефтазидим/авибактам, азтреонам/авибактам.

**Цель.** Оценить частоту встречаемости и профиль чувствительности к антибактериальным препаратам изолятов Enterobacterales, продуцирующих карбапенемазы (CPE).

**Материалы и методы.** Проанализировано 5539 изолятов порядка Enterobacterales, полученных от госпитализированных пациентов из 52 медицинских учреждений 27 городов России в 2014-2016 гг. Определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводили с использованием метода микроразведений в бульоне в соответствии с ISO 20776-1:2006. Авибактам тестировали в комбинации с бета-лактамами при фиксированной концентрации 4 мг/л. Результаты тестирования интерпретировали на основании пограничных значений МПК в соответствии с EUCAST v 8.1. Скрининг на фенотипическую продукцию карбапенемаз проводили методом CIM. Присутствие генов наиболее распространенных карбапенемаз KPC, OXA-48, VIM, IMP и NDM определяли методом ПЦР в режиме реального времени. Внутривидовое типирование *Klebsiella pneumoniae* проводили методом мультилокусного секвенирования-типирования.

**Результаты.** CPE составили 9,9% от всех протестированных изолятов. У 7,7% изолятов выявлена продукция сериновых карбапенемаз группы OXA-48, 1,9% – металло-бета-лактамаз группы NDM, 0,3% – совместная продукция OXA-48 и NDM. Наибольшую *in vitro* активность в отношении CPE проявляли комбинации цефтазидим/авибактам и азтреонам/авибактам, которые подавляли рост 78,1% изолятов (при концентрации цефтазидима  $\leq 8$  мг/л) и 99,3% изолятов (при концентрации азтреонама  $\leq 4$  мг/л) соответственно. При этом 94,5% продуцентов карбапенемаз были чувствительны к азтреонаму/авибактаму при концентрации антибиотика  $\leq 0,5$  мг/л. Среди не-бета-лактамных антибиотиков наибольшую активность показал тигециклин, чувствительными к которому были 84,8% изолятов CPE. Фенотип экстремальной резистентности проявляли 11,0% от всех изолятов CPE.

**Выводы.** Результаты проведенного исследования свидетельствуют об увеличении распространенности CPE в стационарах РФ. Карбапенемазы группы OXA-48 встречались значительно чаще, чем NDM. Среди всех антибиотиков, протестированных в отношении клинических изолятов CPE, выделенных от госпитализированных пациентов, комбинации авибактама с цефтазидимом и азтреонамом были наиболее активными *in vitro*.

## Antimicrobial resistance of nosocomial carbapenemase-producing Enterobacterales in Russia: results of surveillance, 2014-2016

Shaidullina E.R.<sup>1,2</sup>, Edelstein M.V.<sup>1</sup>, Skleenova E.Yu.<sup>1</sup>, Sukhorukova M.V.<sup>1</sup>, Kozlov R.S.<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk State Medical University, Smolensk, Russia

<sup>2</sup> Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia

### Contacts:

Elvira R. Shaidullina  
E-mail: Elvira.Shaidullina@antibiotic.ru

Key words: Enterobacterales, carbapenemases, nosocomial infections, ceftazidime/avibactam, aztreonam/avibactam.

**Objective.** To assess the prevalence and antimicrobial susceptibility of carbapenemase-producing Enterobacterales (CPE).

**Materials and methods.** A total of 5539 Enterobacterales isolates recovered from hospitalized patients in 52 medical institutions in 27 cities in Russia in 2014-2016 were tested. Antibiotic susceptibility testing (AST) was performed using broth microdilution method according to ISO 20776-1:2006. Avibactam was tested in combinations with beta-lactams at fixed concentration of 4 mg/l. AST results were interpreted according to EUCAST v8.1 clinical breakpoints. Carbapenemase production was assessed by carbapenem inactivation method (CIM). Genes for the most common carbapenemases: NDM, VIM, IMP, KPC, and OXA-48, were detected by real-time PCR. Carbapenemase-producing isolates of *Klebsiella pneumoniae* were subtyped by multilocus sequence typing (MLST).

**Results.** CPE comprised 9.9% of all tested isolates. 7.7% of the isolates were found to produce serine-based carbapenemases of OXA-48 group, 1.9% – metallo-beta-lactamases of NDM group, 0.3% – to co-produce of OXA-48 and NDM. Ceftazidime/avibactam and aztreonam/avibactam demonstrated the highest *in vitro* activity by inhibited growth of 78.1% (at  $\leq 4$  mg/L ceftazidime concentration) and 99.3% (at  $\leq 4$  mg/L aztreonam concentration) of the CPE isolates, respectively. Moreover, 94.5% of carbapenemase producers were susceptible to aztreonam/avibactam at  $\leq 0.5$  mg/L aztreonam concentration. Among non-beta-lactam agents, tigecyclin was the most active with 84.8% susceptibility rate. Notably, 11.0% of all CPE were categorized as extensively drug-resistant (XDR).

**Conclusions.** This study shows sharp increase in the prevalence of CPE in Russian hospitals. Carbapenemases of the OXA-48 group were the most prevalent in Enterobacterales followed by NDM. Among all antibiotics tested against CPE isolated from hospitalized patients, combinations of avibactam with ceftazidime and aztreonam were the most active *in vitro*.

## Введение

Грамотрицательные бактерии порядка Enterobacterales являются в совокупности наиболее частой причиной нозокомиальных инфекций. В рамках проводимого в России исследования «МАРАФОН» показано, что доля изолятов Enterobacterales среди всех возбудителей нозокомиальных инфекций составляла 33,7% в 2011-2012 гг. и 43,1% в 2013-2014 гг. [1, 2]. Рост резистентности энтеробактерий к антибактериальным препаратам, в частности, к современным цефалоспорином и карбапенемам, является наиболее клинически значимой проблемой.

Широкое распространение среди изолятов энтеробактерий бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) [1-5] привело к необходимости использования карбапенемов в терапии инфекций, вызванных такими возбудителями. Это, в свою очередь, послужило причиной того, что за последнее десятилетие значительно возросла доля энтеробактерий, резистентных к карбапенемам не только в России [AMRmap: <http://map.antibiotic.ru/?id=2gcNW51PB32PB13>, <http://map.antibiotic.ru/?id=wHGP10Vx32Vx13>], но и во всем мире. Главным образом за счет продукции плазмидо-опосредованных карбапенемаз [6, 7].

Почти все карбапенемазопroduцирующие Enterobacterales (carbapenemase-producing Enterobacterales – CPE) имеют фенотип множественной лекарственной устойчивости. Ограниченный выбор антибактериальных препаратов, эффективных в терапии инфекций, вызванных CPE, непосредственно приводит к повышению смертности. Ретроспективные исследования показывают, что смертность от таких инфекций может достигать 52-56% [8, 9].

В феврале 2017 г. Всемирная организация здравоохранения (ВОЗ) включила карбапенемазопroduцирующие энтеробактерии в группу микроорганизмов критического приоритета по разработке новых лекарственных препаратов и представляющих наибольшую угрозу человечеству [10]. Таким образом, быстрое глобальное распространение CPE приводит к необходимости использования новых препаратов в терапии инфекций, вызванных этими возбудителями.

В данном исследовании мы оценивали частоту встречаемости и профиль чувствительности к антибактериальным препаратам изолятов CPE, полученных от госпитализированных пациентов в России. Особое внимание было уделено оценке *in vitro* активности комбинаций оксимино-бета-лактамов: цефтазидима и азтреонама с новым ингибитором бета-лактамаз – авибактамом в отношении CPE.

## Материалы и методы

**Бактериальные изоляты.** В исследование было включено 5539 последовательно выделенных, не повторяющихся (по одному на пациента/случай инфекции) изолятов порядка Enterobacterales, полученных от госпитализированных пациентов из 52 медицинских учреждений 27 городов России в рамках многоцентрового проспективного исследования «МАРАФОН» в период с 2014 по 2016 гг. Изоляты получены от пациентов с инфекциями

мочевых путей (33%), нижних отделов дыхательных путей (30,6%), интраабдоминальными инфекциями (16,1%), инфекциями кожи и мягких тканей (12,6%), инфекциями кровотока (4,2%) и других (3,6%) (Рисунок 1). Видовая идентификация бактерий проводилась с помощью MALDI-TOF масс-спектрометрии (Bruker Biotyper System; Bruker Daltonics, Германия) на базе центральной лаборатории НИИ антимикробной химиотерапии (НИИАХ ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, г. Смоленск). Видовое распределение изолятов представлено в Таблице 1.

**Определение чувствительности к антибактериальным препаратам.** Определение минимальной подавляющей концентрации (МПК) всех антибактериальных препаратов проводили с использованием метода микро-разведений в бульоне Мюллера-Хинтон (Oxoid, Великобритания) в соответствии требованиями Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST, [www.eucast.org](http://www.eucast.org)) и методологией ISO 20776-1:2006 / ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 [11-13]. Авибактам тестировали в комбинации с бета-лактамами при фиксированной концентрации 4 мг/л. Результаты тестирования интерпретировали на основании МПК, в соответствии с клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», версия 2015-02 [14] и EUCAST v 8.1 [13]. Для контроля качества определения чувствительности использовали штаммы *Escherichia coli* ATCC®25922, *E. coli* ATCC®35218 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853.

**Определение бета-лактамаз.** Для всех изолятов со сниженной чувствительностью к меропенему, эртапенему (МПК >0,125 мг/л) или имипенему (МПК >1 мг/л) проводили скрининг на фенотипическую экспрессию карбапенемаз методом инактивации карбапенемов (CIM-тест) [15]. Присутствие генов наиболее распространенных у Enterobacterales карбапенемаз *blaKPC*, *blaOXA-48*, *blaNDM*, *blaVIM* и *blaIMP* определяли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов «Ампли-Сенс® MDR KPC/OXA-48-FL» и «Ампли-Сенс® MDR MBL-FL» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) и системы Rotor-Gene™ 6000 (Corbett Research, Австралия).



**Рисунок 1.** Распределение нозокомиальных изолятов Enterobacterales в зависимости от локализации инфекции

**Таблица 1.** Видовое разнообразие нозокомиальных изолятов Enterobacterales (n=5539), включая изоляты, продуцирующие карбапенемазы (CPE). % – процент изолятов от общего числа

Вид микроорганизма	Всего изолятов (%)	Всего карбапенемазо-продуцирующих изолятов (%)	Тип карбапенемазы				
			OXA-48	KPC	NDM	NDM+OXA-48	VIM+NDM
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2243 (40,5)	477 (8,6)	383 (6,9)	2 (≤0,1)	78 (1,4)	14 (0,3)	
<i>Escherichia coli</i>	2096 (37,8)	24 (0,4)	12 (0,2)		12 (0,2)		
<i>Enterobacter cloacae</i>	314 (5,7)	4 (≤0,1)	3 (≤0,1)		1 (≤0,1)		
<i>Proteus mirabilis</i>	292 (5,3)	11 (0,2)			10 (0,2)		1 (≤0,1)
<i>Serratia marcescens</i>	202 (3,7)	25 (0,5)	22 (0,4)		3 (≤0,1)		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	120 (2,2)	1 (≤0,1)	1 (≤0,1)				
<i>Citrobacter freundii</i>	55 (1,0)	1 (≤0,1)	1 (≤0,1)				
<i>Morganella morganii</i>	55 (1,0)						
<i>Klebsiella aerogenes</i>	47 (0,9)	3 (≤0,1)	3 (≤0,1)				
<i>Proteus vulgaris</i>	38 (0,7)						
<i>Enterobacter asburiae</i>	30 (0,5)						
<i>Citrobacter braakii</i>	13 (0,2)						
<i>Providencia rettgeri</i>	6 (0,1)						
<i>Serratia liquefaciens</i>	6 (0,1)						
<i>Enterobacter spp.</i>	5 (≤0,1)						
<i>Proteus penneri</i>	4 (≤0,1)						
<i>Enterobacter kobei</i>	3 (≤0,1)						
<i>Serratia ureilytica</i>	3 (≤0,1)	1 (≤0,1)	1 (≤0,1)				
<i>Hafnia alvei</i>	2 (≤0,1)						
<i>Citrobacter youngae</i>	1 (≤0,1)						
<i>Enterobacter cancerogenus</i>	1 (≤0,1)						
<i>Providencia stuartii</i>	1 (≤0,1)						
<i>Raoultella planticola</i>	1 (≤0,1)						
<i>Salmonella spp.</i>	1 (≤0,1)						
	5539	547 (9,9)	426 (7,7)	2 (≤0,1)	104 (1,9)	14 (0,3)	1 (≤0,1)

В качестве положительных контролей были использованы штаммы *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *P. aeruginosa* из коллекции НИИАХ, продуцирующие карбапенемазы перечисленных групп.

Вывод о продукции бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) делали в случае выявления сниженной чувствительности (МПК  $\geq 1$  мг/л) хотя бы к одному из следующих оксимино-бета-лактамов: цефтазидиму, цефотаксиму, цефепиму или азтреонаму, и наличия синергизма с клавулановой кислотой (снижения МПК не менее, чем на 2 разведения в присутствии 4 мг/л клавулановой кислоты) [16].

**Молекулярно-генетическое типирование.** Внутривидовое типирование карбапенемазопродуцирующих штаммов *K. pneumoniae* проводили методом мультилокусного секвенирования-типирования (MLST) согласно схеме, предложенной Институтом Пастера ([https://bigsdatabase.pasteur.fr/klebsiella/primers\\_used.html](https://bigsdatabase.pasteur.fr/klebsiella/primers_used.html)) [17]. Анализ полученных нуклеотидных последовательностей, определение аллельных профилей и соответствующих сиквенс-типов (ST) проводили с помощью программы Bionumerics v 8.0. в соответствии с принятой номенклатурой (<http://bigsdatabase.pasteur.fr/klebsiella/>). Данные генотипирования изолятов депонированы в базу данных BIGSdb.

**Анализ и представление результатов исследования.** Результаты оценки чувствительности к антибиотикам и

выявления генов приобретенных карбапенемаз у исследованных бактериальных изолятов представлены на онлайн ресурсе AMRmap [18].

## Результаты

Результаты определения чувствительности к антимикробным препаратам для всех Enterobacterales и отдельно для группы CPE приведены в Таблицах 2 и 3. Среди не-бета-лактаменных антибиотиков в отношении энтеробактерий наибольшую активность проявляли колистин, амикацин и тигециклин; доля изолятов, чувствительных (категория S) и чувствительных при увеличенной экспозиции (категория I) к этим антибиотикам составляла 91,3%, 85,5% и 83,3% соответственно.

Высокие показатели устойчивости наблюдались для всех оксимино-бета-лактамов (цефалоспорины III-IV поколения и азтреонам). Более 60% всех изолятов проявляли устойчивость хотя бы к одному из препаратов данной группы. Продукция БЛРС обнаружена у 69,1% всех изолятов энтеробактерий.

Доля изолятов Enterobacterales, резистентных к карбапенемам: эртапенему, меропенему, имипенему и дорипенему, составила: 14,8%, 4,6%, 3,6% и 6,9% соответственно. Наиболее высокие показатели устойчивости к карбапенемам наблюдались среди изо-

Таблица 2. Чувствительность нозокомиальных изолятов Enterobacterales (n=5539) к антимикробным препаратам

Антибиотики	% изолятов с указанным значением МПК, мг/л													% изолятов по категориям <sup>1</sup>			МПК, мг/л	
	≤0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	≥256	S	I	R	50%	90%
Азтреонам	18,1	10,2	4,9	1,6	1,4	1,5	2,1	2,6	4,8	6,5	6,3	8,5	31,6	36,2	3,6	60,2	32	≥256
Азтреонам/ авибактам (4 мг/л) (n=5538)	66,2	17,6	10,7	3,0	1,0	0,5	0,3	0,1	0,1	0,1	0,1	<0,1	0,3	98,5	0,8	0,7	≤0,06	0,25
Цефтазидим	4,8	10,3	12,1	5,8	3,9	3,1	3,6	3,7	5,2	7,1	8,2	13,7	18,7	36,8	6,7	56,5	16	≥256
Цефтазидим/ авибактам (4 мг/л)	28,2	16,7	17,4	15,8	14,4	3,9	0,7	0,3	0,3	0,1	<0,1	<0,1	2,2	97,4		2,6	0,25	1
Цефотаксим	19,1	7,3	2,7	2,1	1,5	0,6	1,2	1,3	1,8	1,7	3,3	4,9	52,5	32,6	0,6	66,7	≥256	≥256
Цефепим	25,5	4,9	2,4	1,9	2,1	2,4	3,6	5,4	7,0	7,1	8,5	9,4	19,8	36,8	6,0	57,2	16	≥256
Эртапенем (n=5538)	60,5	8,6	7,0	6,1	3,1	2,6	2,1	2,1	2,6	5,4				82,2	3,1	14,8	≤0,06	8
Имипенем	9,7	50,8	15,0	7,2	5,4	4,4	2,5	1,4	1,4	2,2				92,6	3,9	3,6	0,125	2
Меропенем	74,3	8,0	3,3	2,1	2,7	2,4	1,3	1,3	1,4	3,1				92,9	2,6	4,6	≤0,06	1
Дорипенем	65,8	10,4	6,2	4,6	4,0	2,1	1,5	1,2	1,6	2,7				91,0	2,1	6,9	≤0,06	1
Пиперациллин/ тазобактам (4 мг/л)			3,9	2,1	9,6	22,5	12,2	7,4	9,3	5,6	4,7	4,7	18,1	57,7	9,3	33,1	4	≥256
Гентамицин		1,1	7,3	20,1	22,3	7,2	61,0	0,7	1,8	5,7	9,7	8,6	14,6	57,8	1,1	41,1	1	≥256
Нетилмицин		2,5	10,2	16,9	12,0	4,6	7,1	12,3	12,2	6,9	15,5			46,2	7,1	46,8	4	64
Амикацин			0,6	2,8	13,3	27,8	25,7	12,4	2,9	1,8	0,7	0,4	11,6	82,5	2,9	14,5	4	≥512
Ципрофлоксацин (n=5538)	31,1	2,6	2,6	2,9	2,2	2,5	3,2	3,7	4,9	8,4	10,7	25,3		36,2	2,9	60,8	8	128
Тигециклин	3,8	17,4	20,8	24,0	17,4	7,9	5,8	2,4	0,5					83,4	7,9	8,7	0,5	2
Колистин	0,3	3,1	19,6	38,0	17,3	5,0	1,3	1,2	0,9	0,5	0,5	1,0	11,4	83,3		16,7	0,5	≥256
Фосфомицин			2,5	6,4	9,1	10,5	8,7	9,8	13,3	12,9	11,0	6,6	9,1	73,2		26,8	16	128
Триметоприм/ сульфаметоксазол (1:19) <sup>2</sup>	<0,1	27,2	7,1	4,3	3,5	1,4	1,0	0,6	0,3	0,5	0,9	16,4	36,6	43,6	1,0	55,4	128	≥256

<sup>1</sup> S – чувствительность, I – чувствительность при увеличенной экспозиции препарата, R – резистентность.

<sup>2</sup> Значение МПК соответствует триметоприму.

лятов *K. pneumoniae* – 31,2%, 9,9%, 7,2% и 14,2% соответственно. Продукция карбапенемаз была обнаружена у 547 (9,9%) изолятов из 20 городов, из которых 477 (8,6%) – *K. pneumoniae*, 24 (0,4%) – *E. coli*, 25 (0,5%) – *Serratia marcescens*, 11 (0,2%) – *Proteus mirabilis*, 4 (<0,1%) – *Enterobacter cloacae*, 3 (<0,1%) – *Klebsiella aerogenes*, 1 (<0,1%) – *Citrobacter freundii*, 1 (<0,1%) – *Klebsiella oxytoca*, 1 (<0,1%) – *Serratia ureilytica* (Таблица 1).

Сериновые карбапенемазы группы OXA-48 обнаружены у 426 изолятов, что составляет 7,7% от всех включенных в исследование изолятов. Представители преобладающего вида *K. pneumoniae* были отнесены к 19 сиквенс-типам: ST395 (доминирующий сиквенс-тип), ST147, ST307, ST383, ST48, ST218, ST377, ST15, ST336, ST2499, ST3229, ST11, ST17, ST23, ST101, ST437, ST895, ST1440, ST3229.

У двух изолятов *K. pneumoniae* (ST258), выделенных в Санкт-Петербурге, обнаружены ферменты группы КРС.

У 104 изолятов (1,9%) обнаружены металло-бета-

лактамазы группы NDM. Представители преобладающего вида *K. pneumoniae* отнесены к 7 сиквенс-типам: ST11, ST395, ST437, ST147, ST15, ST45, ST1160. Помимо этого, у 14 (0,3%) изолятов, принадлежащих к двум сиквенс типам *K. pneumoniae*: ST160 и ST395, выявлена сочетанная продукция двух типов карбапенемаз: NDM и OXA-48. У одного изолята *P. mirabilis* обнаружена сочетанная продукция карбапенемаз групп VIM и NDM (Таблица 1). Металло-бета-лактамазы группы IMP в рамках данного исследования обнаружены не были.

В общей сложности CPE были выявлены в 28 стационарах из 20 городов РФ, принимавших участие в данном исследовании. По сравнению с 2011-2012 гг. доля CPE выросла в 4,5 раза (AMRmap, <http://map.antibiotic.ru/?id=7T3b042Az46Az13>) (Рисунок 2). Таким образом, полученные результаты свидетельствуют о быстром росте распространенности устойчивости к карбапенемам и продукции карбапенемаз среди штаммов энтеробактерий, вызывающих инфекции у госпитализированных пациентов.

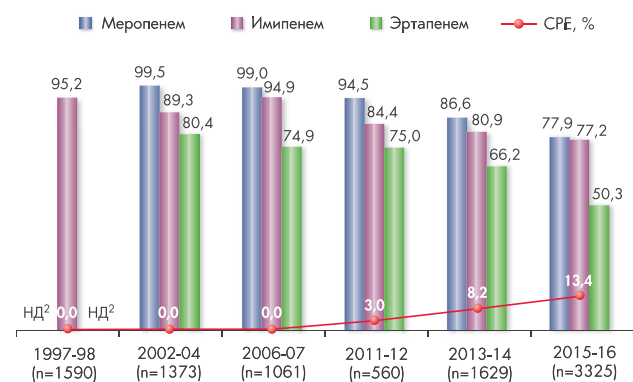
Результаты оценки чувствительности изолятов, экс-

**Таблица 3.** Чувствительность нозокомиальных изолятов Enterobacteriales, продуцирующих карбапенемазы (n=547) к антимикробным препаратам

Антибиотики	% изолятов с указанным значением МПК, мг/л													% изолятов по категориям <sup>1</sup>			МПК, мг/л	
	≤0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	≥256	S	I	R	50%	90%
Азтреонам	0,4	1,3	5,1	3,3	0,6	0,4	1,1	0,4	1,7	2,6	2,7	6,2	74,4	10,6	1,5	87,9	≥256	≥256
Азтреонам/ авибактам (4 мг/л)	19,7	26,9	39,9	10,1	1,5	0,7	0,6	0,4	0,4					98,0	1,3	0,7	0,25	0,5
Цефтазидим		0,4	0,7	2,9	5,1	1,1	1,7	3,7	0,4	1,8	5,5	20,1	59,6	9,1	2,7	88,1	≥256	≥256
Цефтазидим/ авибактам (4 мг/л)	1,8	1,5	8,8	22,1	33,1	9,1	1,5	0,2	0,6			0,2	21,2	78,1		21,9	1	≥256
Цефотаксим	0,4			0,7	0,9	1,8	2,9	2,2	0,9	0,4	0,9	1,7	87,2	2,0	1,8	96,2	≥256	≥256
Цефепим		0,2	1,1	1,7	2,2	2,4	1,1	1,7	3,1	3,1	12,4	22,5	48,6	5,1	3,5	91,4	128	≥256
Эртапенем	0,4	0,2	0,4	1,7	3,5	10,1	12,5	8,8	14,5	48,2				2,6	3,5	94,0	16	≥32
Имипенем		0,7	0,7	5,9	16,3	16,8	13,2	11,5	13,2	21,8				40,4	24,7	34,9	4	≥32
Меропенем	0,6	0,4	3,5	9,3	12,8	11,3	7,5	10,4	13,0	31,3				37,8	17,9	44,2	8	≥32
Дорипенем	0,6	0,6	5,9	11,5	11,0	11,0	8,6	9,5	15,2	26,3				29,4	11,0	59,6	8	≥32
Пиперациллин/ тазобактам (4 мг/л)					0,2			0,2	0,2	0,2	2,6	6,6	90,1	0,4	0,2	99,5	≥256	≥256
Гентамицин		0,4	1,7	12,3	12,1	2,9	0,7	0,4	1,1	5,7	9,3	12,4	41,1	29,3	0,7	70,0	128	≥256
Нетилмицин		0,7	2,4	2,7	1,7	2,0	7,9	15,2	16,3	6,2	44,8		0,2	9,5	7,9	82,6	32	≥64
Амикацин				0,7	2,4	11,7	21,0	13,5	4,0	2,7	2,4	0,2	41,3	49,4	4,0	46,6	16	≥256
Ципрофлоксацин	2,4	1,8	0,6	0,6	1,7	3,3	2,4	1,8	3,5	5,5	12,4	64,2		4,8	0,6	94,7	≥128	≥128
Тигецилин		1,7	9,1	27,6	28,9	17,6	12,3	2,4	0,6					67,3	17,6	15,2	1	4
Колистин	0,2	1,3	21,6	33,3	17,9	4,6	2,6	1,3	1,7	2,0	3,3	3,1	7,3	78,8		21,2	0,5	≥128
Фосфомицин			0,2	0,2	1,1	1,8	0,9	3,3	11,5	14,7	28,6	18,7	19,0	33,7		66,3	64	≥256
Триметоприм/ сульфаметоксазол (1:19) <sup>2</sup>		2,9	3,8	4,2	6,0	3,1	2,2	0,6	1,1	0,7	0,6	7,1	67,6	20,1	2,2	77,7	≥256	≥256

<sup>1</sup> S – чувствительность, I – чувствительность при увеличенной экспозиции препарата, R – резистентность.

<sup>2</sup> Значение МПК соответствует триметоприму.



**Рисунок 2.** Динамика снижения чувствительности<sup>1</sup> к карбапенемам и роста распространенности карбапенемаз среди нозокомиальных штаммов Enterobacteriales в России (по данным многоцентровых исследований НИИИХ/МАКМАХ)

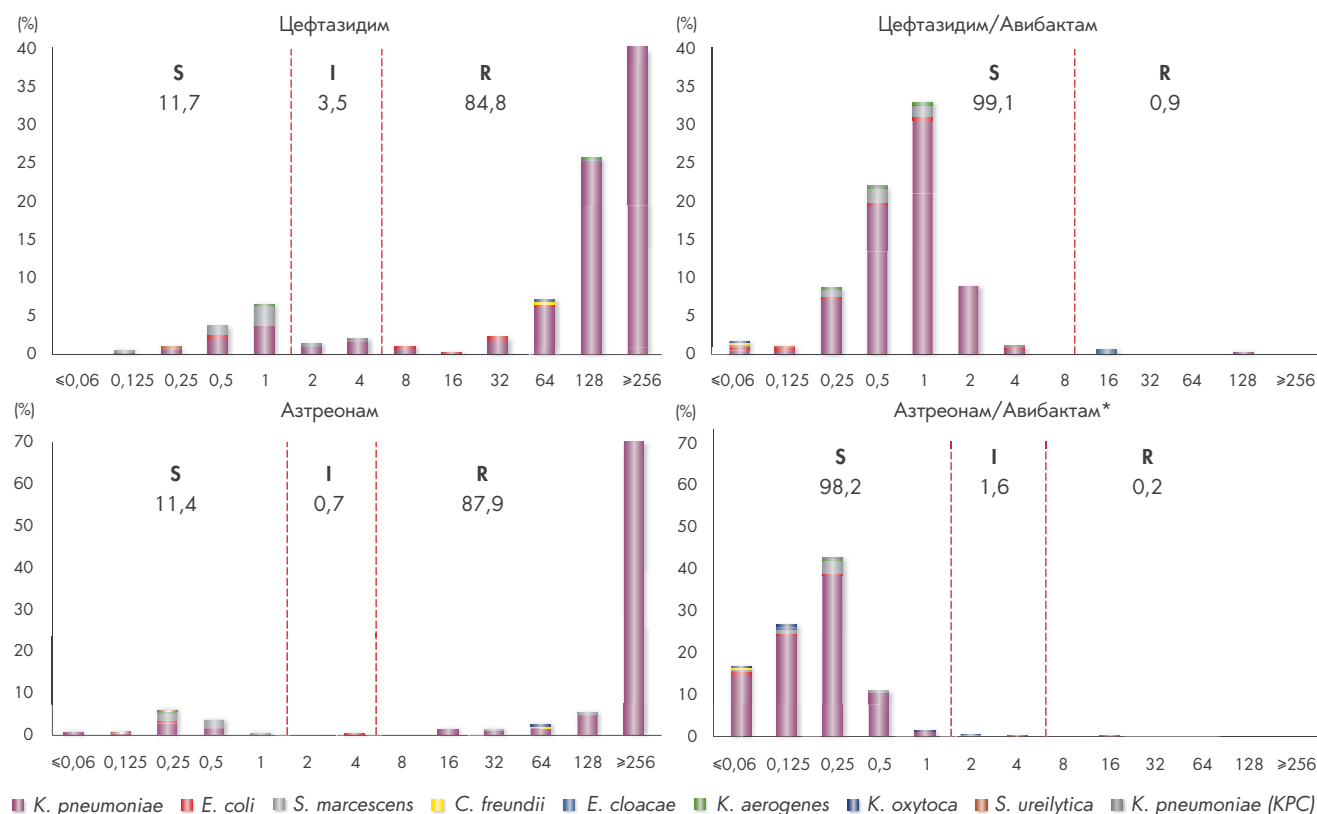
<sup>1</sup> Процент чувствительных (S) изолятов.

<sup>2</sup> НД – нет данных.

продуцирующих карбапенемазы (n=547), представлены в Таблице 3. В подавляющем большинстве изоляты CRE были резистентны (94,0% изолятов с МПК >1 мкг/мл) или проявляли сниженную чувствительность к эртапенему (3,5% изолятов с МПК >0,5 мкг/мл). Следует, однако, отметить, что у 40,4% и 37,8% изолятов CRE значения МПК имипенема и меропенема не превышали уровень 2 мг/л и, следовательно, соответствовали категории чувствительности (S) согласно критериям EUCAST. Высокий процент чувствительных изолятов к карбапенемам среди продуцентов карбапенемаз показывает важность использования дополнительных методов выявления CRE в практике клинических лабораторий помимо рутинной постановки диско-диффузионного метода.

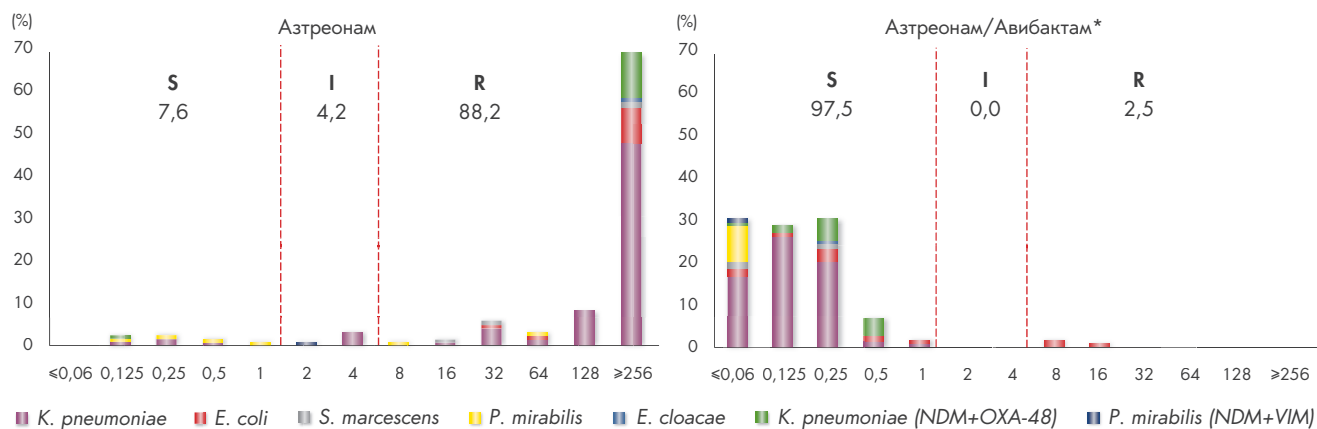
Более 90% изолятов CRE проявляли резистентность хотя бы к одному препарату из группы оксимино-бета-лактамов. При этом наибольшую активность в отношении изолятов проявляли азтреонам и цефтазидим в комбинации с авибактамом. Авибактам значительно увеличивал активность азтреонама и цефтазидима – количество чувствительных CRE повышалось с 12,1% до 99,3% и с 11,9% до 78,1% соответственно. Подавляющее большинство (97,0%) изолятов, продуцирующих сериновые карбапенемазы, включая все изоляты





**Рисунок 3.** Значения МПК для цефтазидима и азтреонама и их комбинаций с авибактамом для изолятов энтеробактерий, продуцирующих сериновые карбапенемазы OXA-48 или KPC. По оси X отмечены значения МПК, мг/л; по оси Y – процент изолятов

\* В виду отсутствия критериев EUCAST для данной комбинации, для определения категорий чувствительности использованы пограничные значения МПК для азтреонама.



**Рисунок 4.** Значения МПК для азтреонама и его комбинации с авибактамом для изолятов энтеробактерий, продуцирующих карбапенемазы группы NDM. По оси X отмечены значения МПК, мг/л; по оси Y – процент изолятов

\* В виду отсутствия критериев EUCAST для данной комбинации, для определения категорий чувствительности использованы пограничные значения МПК для азтреонама.

*K. pneumoniae* из преобладающих международных клонов высокого риска (ST395 и ST147), были чувствительны к цефтазидиму/авибактаму при концентрации  $\leq 2$  мг/л и азтреонаму/авибактаму –  $\leq 0,5$  мг/л. Четыре изолята (2 *K. pneumoniae* и 2 *E. cloacae*), экспрессирующие OXA-48, проявляли резистентность к цефтазидиму/авибактаму (Рисунок 3). Комбинация азтреонам/авибактам также была активна в отношении 97,0% изолятов, продуцирующих металло-бета-лактамазу NDM, при концентрации азтреонама  $\leq 4$  мг/л, при этом значения МПК у 95,0% изолятов не превышали 0,5 мг/л. Три изолята *E. coli*, экспрессирующих карбапенемазу группы NDM, проявляли резистентность к этой комбинации при концентрации азтреонама  $\geq 8$  мг/л (Рисунок 4).

Среди не-бета-лактамных препаратов наиболее активным в отношении изолятов СРЕ был тигециклин (доля чувствительных (S+I) штаммов составила 84,8%). *In vitro* активность других не-бета-лактамных антибиотиков в отношении СРЕ составила (в порядке убывания процента чувствительных (S+I) изолятов): колистина – 78,8%, амикацина – 53,4%, фосфомицина – 33,7%, гентамицина – 30,0%, нетилмицина – 17,4%, ципрофлоксацина – 5,3%.

Среди изолятов, экспрессирующих карбапенемазу, 487 (89,0%) обладали фенотипом множественной резистентности (MDR), то есть проявляли устойчивость не менее чем к трем группам антимикробных препаратов, согласно международным критериям [19]. Шестьдесят изолятов (11,0%) имели фенотип экстремальной резистентности (XDR), т.е. были устойчивы ко всем, кроме одной или двух категорий антимикробных препаратов). Среди XDR изолятов – все изоляты сохраняли чувствительность к комбинации азтреонам/авибактам (при концентрации азтреонама  $\leq 4$  мг/л), 38 (6,9%) – к комбинации цефтазидим/авибактам (при концентрации цефтазидима  $\leq 8$  мг/л).

## Заключение

В результате проведенного исследования определено наличие и разнообразие генов основных типов карбапенемаз среди клинических изолятов энтеробактерий, выделенных в стационарах России в 2014-2016 гг. Среди всех Enterobacterales, включенных в исследование (n=5539), у 547 выявлена продукция карбапенемаз.

## Литература

1. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacteriaceae isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "MARAFON" 2013-2014. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2014;16:254-265. Russian. (Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова 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.).
2. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacteriaceae isolates in Russia:

Среди всех видов энтеробактерий наиболее часто продукция карбапенемаз встречалась у *K. pneumoniae* – типичного представителя госпитальной микрофлоры. Основным типом карбапенемаз, продуцируемых энтеробактериями, были ферменты группы OXA-48, относящиеся к сериновым карбапенемазам класса D. Менее распространены металло-бета-лактамазы группы NDM. Анализ динамики продукции карбапенемаз среди энтеробактерий в России показывает устойчивый рост количества СРЕ, доля которых в 2015-2016 гг. достигла 22,6%.

Результаты оценки антибиотикочувствительности СРЕ, полученные от госпитализированных пациентов в России, показывают, что среди всех протестированных антибиотиков комбинации авибактама с цефтазидимом и азтреонамом были наиболее активными *in vitro*. Обе комбинации высокоактивны в отношении изолятов, продуцирующих OXA-48, тогда как азтреонам/авибактам был активен в отношении большинства продуцентов NDM (включая изоляты, ко-экспрессирующие OXA-48 и NDM).

Таким образом, на основании проведенного исследования можно сделать вывод о росте числа случаев продукции карбапенемаз у представителей порядка Enterobacterales в стационарах России. Такая ситуация ведет к неизбежному росту числа случаев неэффективной терапии, росту антибиотикорезистентности и необходимости использования новых препаратов. Использование авибактама в сочетании с цефтазидимом и азтреонамом становится ценной альтернативой лечения инфекции, вызванных СРЕ. А постоянный мониторинг устойчивости к карбапенемам и другим антибактериальным препаратам и их рациональное применение остаются важными для сдерживания роста распространенности карбапенемаз и сохранения активности антибиотиков.

## Конфликт интересов

Статья подготовлена при финансовой поддержке компании Пфайзер. В статье выражена позиция авторов, которая может отличаться от позиции компании Пфайзер.

## Благодарность

Работа выполнена при поддержке Казанского (Приволжского) федерального университета в целях повышения его конкурентоспособности среди ведущих мировых научно-образовательных центров.

1. results of multicenter epidemiological study "MARAFON" 2013-2014. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2017;19:49-56. Russian. (Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова 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.).
3. 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. 20<sup>th</sup> European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Vienna, Austria; 10-13 April 2010. Abstract P716.

4. Coque T.M., Baquero F., Canton R. Increasing prevalence of ESBL-producing Enterobacteriaceae in Europe. *Euro Surveill.* 2008;13(47):pii:19044.
5. Doi Y., Iovleva A., Bonomo R.A. The ecology of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) in the developed world. *J Travel Med.* 2017;24(Suppl 1):S44-S51.
6. Albiger B., Glasner C., Struelens M., et al. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae in Europe: assessment by national experts from 38 countries, May 2015. *Euro Surveill.* 2015;20(45).
7. Nordmann P., Poirel L. The difficult-to-control spread of carbapenemase-producing among Enterobacteriaceae worldwide. *Clin Microbiol Infect.* 2014;20(9):821-830.
8. Mariappan S., Sekar U., Kamalanathan A. Carbapenemase-producing Enterobacteriaceae: Risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Int J Appl Basic Res.* 2017;7(1):32-39.
9. Sotgui, G. Are B.M., Pesapane L. Nosocomial transmission of carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* in an Italian university hospital: a molecular epidemiological study. *J Hosp Infect.* 2018;99(4):413-418. DOI: 10.1016/j.jhin.2018.03.033
10. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. 2017. – Available at: <http://www.who.int/en/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>. Accessed January 28, 2019.
11. 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 агентов 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.)
12. 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".
13. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 8.1. 2018. Available at: [www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/). Accessed November 27, 2018.
14. Clinical recommendations. Susceptibility testing of microorganisms to antimicrobial agents. Ver. 2015-02. Available at: [www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2015.pdf](http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2015.pdf). Accessed November 27, 2018. Russian. (Клинические рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия 2015-02. Доступно по адресу: [www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2015.pdf](http://www.antibiotic.ru/minzdrav/files/docs/clrec-dsma2015.pdf). Ссылка активна на 27 ноября 2018 г.)
15. van der Zwaluw K., de Haan A., Pluister G.N., et al. 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(3):e0123690.
16. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Ver 2.0. 2017. Available at: [http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Resistance\\_mechanisms/EUCAST\\_detection\\_of\\_resistance\\_mechanisms\\_170711.pdf](http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf). Accessed January 28, 2019.
17. Diancourt L., Passet V., Verhoef J., Grimont P.A., Brisse S. Multilocus sequence typing of *Klebsiella pneumoniae* nosocomial isolates. *J Clin Microbiol.* 2005;43(8):4178-4182.
18. Kuzmenkov A.Yu., Trushin I.V., Avramenko A.A., et al. AMRmap: an online platform for monitoring antibiotic resistance. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija.* 2017;19(2):84-90. Russian. (Кузьменков А.Ю., Трушин И.В., Авраменко А.А. и соавт. AMRmap: Интернет-платформа мониторинга антибиотикорезистентности. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017;19(2):84-90.)
19. Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268-281.