

Межрегиональная ассоциация  
по клинической микробиологии  
и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский  
институт антимикробной  
химиотерапии

ГБОУ ВПО СГМА  
Минздрава России

Учредитель:

Межрегиональная ассоциация  
по клинической микробиологии  
и антимикробной химиотерапии

Издатель:

ООО «Издательский дом «М-Вести»  
www.m-vesti.ru

Журнал зарегистрирован  
Комитетом РФ по печати  
30.09.1999 г. (№ 019273)  
Тираж 2000 экз.

Подписные индексы:

По каталогу «Газеты. Журналы»  
агентства «Роспечать»:  
82125 – для индивид. подписчиков;  
82126 – для организаций.

Адрес для корреспонденции:  
127434, г. Москва, а/я 116.  
Тел./факс: (495)980-8928

Адрес электронной почты:  
cmac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:  
www.antibiotic.ru/cmac  
www.m-vesti.ru

Журнал входит в Перечень российских  
рецензируемых научных журналов,  
в которых должны быть опубликованы  
основные научные результаты  
диссертаций на соискание ученой  
степени доктора и кандидата наук

Присланные в редакцию статьи проходят  
рецензирование

Мнение редакции может не совпадать  
с точкой зрения авторов публикуемых  
материалов

Ответственность за достоверность  
рекламных публикаций несут  
рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал  
обязательна

## Содержание

### Болезни и возбудители

Н.С. Соловьева, Т.Ф. Оттен, В.Ю. Журавлев,  
Н.Н. Гашенко, М.В. Шульгина — Бактериологическая  
и молекулярно-генетическая верификация бактериемии  
у ВИЧ-инфицированных больных. . . . . 248

### Антибиотикорезистентность

М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн, Е.Ю. Склеенова,  
Н.В. Иванчик, А.В. Тимохова, А.В. Дехнич, Р.С. Козлов  
и исследовательская группа «МАРАФОН» — Антибиотикорезистентность  
нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России:  
результаты многоцентрового эпидемиологического  
исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. . . . . 254

М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн, Е.Ю. Склеенова,  
Н.В. Иванчик, А.В. Тимохова, А.В. Дехнич, Р.С. Козлов  
и исследовательская группа «МАРАФОН» — Антибиотикорезистентность  
нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России:  
результаты многоцентрового эпидемиологического  
исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. . . . . 266

М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн, Е.Ю. Склеенова,  
Н.В. Иванчик, А.В. Тимохова, А.В. Дехнич, Р.С. Козлов  
и исследовательская группа «МАРАФОН» — Антибиотикорезистентность  
нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах  
России: результаты многоцентрового эпидемиологического  
исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. . . . . 273

М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн, Е.Ю. Склеенова,  
Н.В. Иванчик, А.В. Тимохова, А.В. Дехнич, Р.С. Козлов  
и исследовательская группа «МАРАФОН» — Антибиотикорезистентность  
нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в стационарах  
России: результаты многоцентрового эпидемиологического  
исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. . . . . 280

И.А. Эйдельштейн, М.В. Эйдельштейн, Е.В. Шипицына,  
Т.А. Хуснутдинова, А.М. Савичева, Р.С. Козлов — Оценка  
распространенности «классических» механизмов устойчивости  
к фторхинолонам у *Chlamydia trachomatis*, связанных  
с мутациями в генах топоизомераз . . . . . 287

### Фармакоэпидемиология и фармакоэкономика

Ю.А. Белькова, С.А. Рачина, Р.С. Козлов,  
В.М. Мищенко, Р.А. Павлюков, С.Н. Козлов, А.И. Абубакирова,  
Б.В. Бережанский, Н.А. Зубарева, И.А. Карпов, Ш.Х. Палютин,  
У.С. Портнягина, Е.К. Самуйло — Потребление и затраты  
на системные антимикробные препараты в отделениях  
реанимации и интенсивной терапии многопрофильных  
стационаров Российской Федерации и Республики Беларусь:  
результаты многоцентрового фармакоэпидемиологического  
исследования . . . . . 294

### Лабораторная диагностика

М.Ю. Чернуха, Л.Р. Аветисян, И.А. Шагинян, Г.В. Алексеева,  
Л.В. Авакян, Н.Ю. Каширская, Н.И. Капранов, С.Ю. Семькин,  
Е.А. Сиянова, О.С. Медведева, С.А. Красовский, М.В. Усачева,  
Е.И. Кондратьева, Е.Л. Амелина, А.Г. Чучалин, А.Л. Гинцбург — Алгоритм  
микробиологической диагностики хронической инфекции лёгких  
у больных муковисцидозом. . . . . 312

### Информация

Перечень статей, опубликованных в 2014 г. . . . . 325  
Список авторов . . . . . 327

Journal of:  
Interregional Association for Clinical  
Microbiology and Antimicrobial  
Chemotherapy  
Institute of Antimicrobial  
Chemotherapy

Publisher:  
«Ltd. Publishing House «M-Vesti»  
www.m-vesti.ru

Journal is registered by  
Russian Committee  
on Press and Mass Media  
30 September 1999 (No 019273)  
Print run 2,000

Corresponding Address:  
Journal «Clinical Microbiology  
and Antimicrobial Chemotherapy»,  
127434, Moscow, Russia,  
PO Box 116  
Tel./Fax: +7 (495)980-8928  
Email: cmac@antibiotic.ru

Internet address:  
www.antibiotic.ru/cmacc  
www.m-vesti.ru

Peer reviewed

Opinions expressed do not necessarily  
reflect the views of the Editorial Board

The publisher and the Interregional  
Association for Clinical Microbiology and  
Antimicrobial Chemotherapy disclaim  
any responsibility for reliability  
of advertisements

All rights reserved

Proper citation is required

# Contents

## Diseases and Pathogens

- N.S. Solovieva, T.F. Otten, V.Yu. Zhuravlev,  
N.S. Gashchenko, M.V. Shulgina — Bacteriological and Molecular  
Diagnosis of Bacteremia in HIV-positive Patients . . . . . 248

## Antimicrobial Resistance

- M.V. Sukhorukova, M.V. Edelstein, E.Yu. Skleenova, N.V. Ivanchik,  
A.V. Timokhova, E.A. Sheck, A.V. Dekhnich, R.S. Kozlov, and the «MARATHON»  
Study Group — Antimicrobial Resistance of Nosocomial Enterobacteriaceae  
Isolates in Russia: Results of National Multicenter Surveillance  
Study «MARATHON» 2011–2012 . . . . . 254
- M.V. Sukhorukova, M.V. Edelstein, E.Yu. Skleenova, N.V. Ivanchik,  
A.V. Timokhova, E.A. Sheck, A.V. Dekhnich, R.S. Kozlov, and the «MARATHON»  
Study Group — Antimicrobial Resistance of Nosocomial *Acinetobacter* spp.  
Isolates in Russia: Results of National Multicenter Surveillance  
Study «MARATHON» 2011–2012 . . . . . 266
- M.V. Sukhorukova, M.V. Edelstein, E.Yu. Skleenova, N.V. Ivanchik,  
A.V. Timokhova, E.A. Sheck, A.V. Dekhnich, R.S. Kozlov, and the «MARATHON»  
Study Group — Antimicrobial Resistance of Nosocomial *Pseudomonas*  
*aeruginosa* Isolates in Russia: Results of National Multicenter  
Surveillance Study «MARATHON» 2011–2012 . . . . . 273
- M.V. Sukhorukova, M.V. Edelstein, E.Yu. Skleenova, N.V. Ivanchik,  
A.V. Timokhova, E.A. Sheck, A.V. Dekhnich, R.S. Kozlov, and the  
«MARATHON» Study Group — Antimicrobial Resistance of Nosocomial  
*Staphylococcus aureus* Isolates in Russia: Results of National Multicenter  
Surveillance Study «MARATHON» 2011–2012 . . . . . 280
- I.A. Edelstein, M.V. Edelstein, E.V. Shipitsyna, T.A. Khusnutdinova,  
A.M. Savicheva, R.S. Kozlov — Evaluation of Prevalence of Classical  
Fluoroquinolone Resistance Mechanisms in *Chlamydia trachomatis*  
Due to Mutations in the Topoisomerase Genes . . . . . 287

## Pharmacoepidemiology

- Y.A. Belkova, S.A. Rachina, R.S. Kozlov, V.M. Mischenko, R.A. Pavlukov,  
S.N. Kozlov, A.I. Abubakirova, B.V. Berezhanskiy, N.A. Zubareva,  
I.A. Karpov, S. Kh. Palyutin, U.S. Portnyagina, E.K. Samuylo — Systemic  
Antimicrobials Consumption and Expenditures in Intensive Care Units  
of Hospitals in Russian Federation and Republic of Belarus:  
Results of Multicenter Pharmacoepidemiological Study . . . . . 294

## Laboratory diagnosis

- M.Yu. Chernukha, L.R. Avetisyan, I.A. Shaginyan, G.V. Alekseeva,  
L.V. Avakyan, N.Yu. Kashirskaya, N.I. Kapranov, S.Yu. Semykin,  
E.A. Siyanova, O.S. Medvedeva, S.A. Krasovskiy, M.V. Usacheva,  
E.I. Kondratieva, E.L. Amelina, A.G. Chuchalin, A.L. Gintzburg —  
Microbiological Diagnosis Algorithm for Chronic Lung Infection  
in Patients with Cystic Fibrosis . . . . . 312

## Information

- List of Articles, published in 2014 . . . . . 325  
List of Authors . . . . . 327

Главный редактор: А.И. Синопальников	Москва	Editor-in-Chief: A.I. Sinopalnikov	Moscow
Исполнительный директор: Г.Г. Пискунов	Москва	Production Manager: G.G. Piskunov	Moscow
Зам. главного редактора: А.В. Дехнич	Смоленск	Deputy Editor-in-Chief: A.V. Dekhnich	Smolensk
Ответственный секретарь: А.В. Веселов	Смоленск	Editorial Manager: A.V. Veselov	Smolensk

Редакционная коллегия:		Editorial Board:	
Г.Е. Афиногенов	С.-Петербург	G.E. Afinogenov	St.-Petersburg
А.А. Визель	Казань	A.A. Vizel	Kazan
Н.А. Ефименко	Москва	N.A. Efimenko	Moscow
Л.К. Катосова	Москва	L.K. Katosova	Moscow
Н.Н. Клишко	С.-Петербург	N.N. Klimko	St.-Petersburg
Р.С. Козлов	Смоленск	R.S. Kozlov	Smolensk
Ю.В. Лобзин	С.-Петербург	Ju.V. Lobzin	St.-Petersburg
В.В. Малеев	Москва	V.V. Maleev	Moscow
Э.А. Ортенберг	Тюмень	E.A. Ortenberg	Tjumen
В.И. Петров	Волгоград	V.I. Petrov	Volgograd
В.В. Покровский	Москва	V.V. Pokrovskiy	Moscow
М.Н. Преображенская	Москва	M.N. Preobrazhenskaya	Moscow
В.А. Руднов	Екатеринбург	V.A. Rudnov	Ekaterinburg
А.М. Савичева	С.-Петербург	A.M. Savicheva	St.-Petersburg
С.В. Сидоренко	Москва	S.V. Sidorenko	Moscow
И.С. Тартаковский	Москва	I.S. Tartakovski	Moscow
А.А. Тотолян	С.-Петербург	A.A. Totoljan	St.-Petersburg
А.А. Фирсов	Москва	A.A. Firsov	Moscow
Г.Я. Ценева	С.-Петербург	G.Ya. Tseneva	St.-Petersburg
С.Б. Якушин	Смоленск	S.B. Yakushin	Smolensk

Международный редакционный совет:		International Advisory Board:	
П. Аппельбаум	Херши, США	P. Appelbaum	Hershey, USA
Дж. Бартлет	Балтимор, США	J. Bartlett	Baltimore, USA
И. Березняков	Харьков, Украина	I. Bereznyakov	Kharkov, Ukraine
Х. Гарау	Барселона, Испания	J. Garau	Barcelona, Spain
Н. Дои	Ниигата, Япония	N. Doi	Niigata, Japan
Ж. Занель	Манитоба, Канада	G. Zhanel	Manitoba, Canada
Э. Каплан	Миннеаполис, США	E. Kaplan	Minneapolis, USA
Д. Корналия	Верона, Италия	G. Cornaglia	Verona, Italy
С. Леви	Бостон, США	S. Levy	Boston, USA
Д. Ливермор	Лондон, Великобритания	D. Livermore	London, UK
Т. Мацеи	Флоренция, Италия	T. Mazzei	Florence, Italy
Т. Мацумото	Китакуши, Япония	T. Matsumoto	Kitakyushu, Japan
К. Набер	Штраубинг, Германия	K. Naber	Straubing, Germany
К. Норд	Гудинге, Швеция	C. Nord	Huddinge, Sweden
А. Родлоф	Лейпциг, Германия	A. Rodloff	Leipzig, Germany
Э. Рубинштейн	Манитоба, Канада	E. Rubinstein	Manitoba, Canada

Редактор номера: С.М. Кузнецова	Москва	Editor of Issue: S.M. Kuznetsova	Moscow
------------------------------------	--------	-------------------------------------	--------

## Бактериологическая и молекулярно-генетическая верификация бактериемии у ВИЧ-инфицированных больных

Н.С. Соловьева, Т.Ф. Оттен, В.Ю. Журавлев, Н.Н. Гашченко, М.В. Шульгина

ФГБУ «Санкт-Петербургский НИИ фтизиопульмонологии» Минздрава России, Санкт-Петербург, Россия

Проведено сравнение эффективности микробиологических и молекулярно-генетических методов идентификации инфекционного агента в 130 образцах венозной крови при септических состояниях у больных ВИЧ-инфекцией. Инфекционный агент был выявлен в 45,4% образцов. Посев на жидкие среды позволил выделить культуру возбудителя в 37,7% образцов, ПЦР-РВ для выявления ДНК микобактерий туберкулезного комплекса – еще в 10 (7,7%) образцах.

*M. tuberculosis* был выявлен в 29,2% этиологически верифицированных случаев, *M. avium* и *M. intracellulare* – в 9,2%. Комплекс молекулярно-генетических и современных микробиологических методов позволили повысить эффективность этиологической диагностики септических состояний и сократить время получения результатов исследования.

**Ключевые слова:** бактериемия, сепсис, ВИЧ-инфекция, туберкулез, *M. tuberculosis*.

### Bacteriological and Molecular Diagnosis of Bacteremia in HIV-positive Patients

N.S. Solovieva, T.F. Otten, V.Yu. Zhuravlev, N.S. Gashchenko, M.V. Shulgina

Saint-Petersburg Scientific Research Institute of Phtiziopulmonology, Saint-Petersburg, Russia

The study aimed to compare efficacy of microbiologic and molecular genetic methods in identification of an infectious agent in blood samples from HIV-positive patients with septic symptoms. 130 venous blood samples were studied using microbiological and molecular methods. Infectious agent was identified in 45.4% cases, by culture — in 37.7, by real-time PCR for mycobacterium tuberculosis complex specific DNA — in 10 additional samples (7.7%).

*M. tuberculosis* was found in 29.2% of all verified cases, *M. avium* and *M. intracellulare* — in 9.2%. The battery of molecular and modern microbiological tests led to increased efficacy of etiological diagnosis in patients with sepsis and decreased tests' turnaround time.

**Key words:** bacteremia, sepsis, HIV, tuberculosis, *M. tuberculosis*.

## Введение

Генез и течение бактериемии и сепсиса у больных с ВИЧ-инфекцией в бессимптомной стадии заболевания с уровнем CD4-лимфоцитов более  $0,5 \times 10^9/\text{л}$  не отличается от подобного состояния у лиц без ВИЧ-инфекции. Риск развития септических состояний значительно увеличивается у больных ВИЧ-инфекцией с низким уровнем CD4-лимфоцитов (менее  $0,2 \times 10^9/\text{л}$ ) [1]. Лихорадка – главный диагностический признак сепсиса и достаточно часто при ВИЧ-инфекции является манифестирующим симптомом прогрессирования основного заболевания или сопутствующих патологических процессов. При этом бактериальный сепсис у данной категории пациентов регистрируется с начала эпидемии ВИЧ-инфекции и является частой причиной летальных исходов [2,3]. При проведении дифференциальной диагностики у данной категории пациентов для формулировки клинического диагноза необходимо назначение целенаправленного бактериологического исследования крови.

Клиническое значение выявления бактериемии заключается в верификации диагноза и определении этиологии инфекционного процесса, доказательстве механизма развития сепсиса, обосновании выбора, смены или оценки эффективности антибактериальной терапии [4]. Необходимо отметить, что в основном у иммунокомпрометированных пациентов с выраженным системным воспалением бактериемия может быть вызвана как туберкулезными, так и нетуберкулезными микобактериями (до 28% случаев), что требует использования специальных методов исследования [5, 6].

В связи с этим повышение эффективности методов этиологической верификации септических состояний, идентификации инфекционных агентов бактериемий и оценка возможностей современных микробиологических и молекулярно-генетических методов в диагностике этих состояний остается актуальной задачей.

**Цель исследования** – сравнение эффективности традиционных и новых микробиологических и молекулярно-генетических методов идентификации инфекционного агента в крови при септических состояниях у больных ВИЧ-инфекцией.

## Материал и методы

**Дизайн исследования.** Были исследованы образцы венозной крови, полученные от 130 больных ВИЧ-инфекцией из городских стационаров Санкт-Петербурга и Областной больницы УФСИН Ленинградской области. Показанием для включения пациента в исследование было нали-

чие выраженного синдрома системного воспаления: аксиллярная температура выше  $38^\circ\text{C}$ , тахикардия больше 90 ударов в 1 мин., частота дыхания выше 20 в 1 мин. [7, 8], уровень CD4, равный или ниже  $0,2 \times 10^9/\text{л}$ .

Образцы крови собирались во флаконы со средами для автоматизированной системы ВАСТЕС™ 9050 и в дополнительную вакуумную пробирку Green Vac-Tube ЭДТА-К3, для исследования методом микроскопии, посева на плотные среды для выделения микобактерий туберкулеза и для *полимеразной цепной реакции в режиме реального времени* (ПЦР-РВ).

**Реагенты, среды, оборудование.** Применяли наборы реагентов для работы с автоматизированной системой ВАСТЕС™ 9050: автоматизированной системой для гемокультивирования BD ВАСТЕС™ 9050/FX, BD ВАСТЕС™ Myco/F Lytic medium, BD ВАСТЕС Plus Aerobic Lytic/F, BD ВАСТЕС Mycosis IC/F, тест-систем BD Enterotube™ II, MPT 64 *M. tuberculosis* complex (Becton Dickinson, США).

Посев крови также проводился на плотные яичные среды Левенштейна–Йенсена и Финн-П, приготовленные в лаборатории в соответствии с инструкцией [9].

Для идентификации микобактерий туберкулеза применяли иммунохроматографический тест для детекции антигена MPT 64 *M. tuberculosis* complex (Becton Dickinson, США). Для дифференцировки немикобактериальной флоры применяли BD Enterotube™ II.

Для окраски мазков крови по Граму и Цилю–Нильсену применяли готовые наборы «Микро-Грамм-НИЦФ» и «Микро-Циль–Нильсен-НИЦФ» (ЗАО «НИЦФ», СПб, РФ). Для выявления *кислотоустойчивых бактерий* (КУБ) люминесцентными красителями использовали 0,1% раствор аурамина О и 0,01% раствор родамина В (Sigma, США).

Выделение ДНК *M. tuberculosis* complex осуществляли с помощью набора «Амплитуб-РВ М-сорб-туб-2». Для амплификации нуклеотидной мультикопийной последовательности IS6110, специфичной для *M. tuberculosis* complex, использовали тест-набор «Амплитуб-РВ-Скрин» (ООО «Синтол», Россия). Амплификация проводилась в термоциклере с оптическим модулем ICycler IQ5 (Bio-Rad, Франция).

Для дифференциации нетуберкулезных микобактерий использовали реагенты GenoType® Mycobacterium CM/AS на основе мультиплексной амплификации с биотинилированными праймерами и последующей реверс-гибридизацией производства (Hain Lifescience, Германия).

**Методы.** Полученные образцы венозной крови засеивались на одну или три питательные среды ВАСТЕС 9050: 130 флаконов среды BD ВАСТЕС™ Мусо/F Lytic medium (для выявления микобактерий), по 80 флаконов среды BD ВАСТЕС Plus Aerobic Lytic/F (для выделения аэробной микрофлоры) и BD ВАСТЕС Mucosis IC/F (для выделения грибковой флоры). Параллельно проводился посев (130 образцов) на плотные яичные среды Левенштейна–Йенсена и Финн-2 для выделения микобактерий. Проводилось также исследование мазков, приготовленных из образцов и окрашенных по Граму и люминесцентными красителями для выявления КУБ.

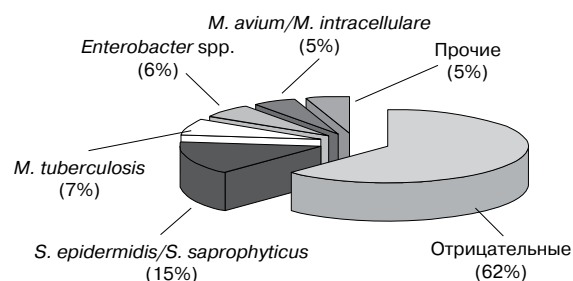
Выделение общей ДНК проводили из 1,0 мл венозной крови с последующей амплификацией специфичного для микобактерий туберкулезного комплекса ДНК-последовательности IS6110 по программе, согласно рекомендациям производителя тест-системы ООО «Синтол» (Россия).

Идентификацию выделенных культур микобактерий проводили методами окраски по Цилю–Нильсену, иммунохроматографическим тестом и с помощью детекции антигена МРТ 64 *M. tuberculosis* complex (Becton Dickinson, США). Идентификация неспецифической бактериальной флоры проводилась с использованием тест-систем BD Enterotube™ II для грам(–) бактерий и биохимических тестов для грам(+) бактерий. При наличии отрицательного результата амплификации, положительного роста на среде ВАСТЕС™ Мусо F/Lytic, отрицательного результата хроматографического теста BD и при положительной микроскопии КУМ проводилась дифференцировка нетуберкулезных микобактерий молекулярно-генетическим методом, по программе и инструкциям производителя тест-системы.

**Статистический анализ** полученных данных проводили с использованием приложений «Microsoft Office Excel 2003». 95% доверительный интервал рассчитывался по методу Клоппера–Пирсона, для выявления статистической достоверности различий между группами был использован критерий Стьюдента. Различия в сравниваемых группах считались достоверными при уровне двусторонней статистической значимости ( $p$ ) менее 0,05.

### Результаты исследований

Образцы крови от 80 больных с синдромом системного воспалительного ответа были помещены в три жидкие среды (Мусо/F Lytic, Plus Aerobic/F и Mucosis IC/F). Рост микроорганизмов был обнаружен в 31 образце, 28 из которых (90,3%) дали рост на среде Мусо/F Lytic. Доля



Результаты этиологической верификации септических состояний методом посева.

культур, выросших на средах Plus Aerobic/F и Mucosis IC/F, была значимо ниже: 38,7% ( $p=0,01$ ) и 29% ( $p=0,01$ ) соответственно. Различия в эффективности Plus Aerobic/F и Mucosis IC/F были статистически недостоверными ( $p=0,49$ ). Из 12 образцов, выросших на среде Plus Aerobic /F, 10 выросли и на среде Мусо/F Lytic; две культуры, выросшие только на этой среде, были идентифицированы как *Enterococcus faecalis*. Среди 9 образцов, выросших на среде Mucosis IC/F, 2 культуры выросли только на этой среде (*Staphylococcus epidermidis* и *E. faecalis*). Микобактерии дали рост только на среде Мусо/F Lytic.

В связи с большей эффективностью среды Мусо/F Lytic, дополнительные исследования 50 образцов крови были проведены с использованием именно этой среды. Суммарно на эту среду было посеяно 130 образцов крови.

Рост микроорганизмов на всех жидких средах был выявлен в 49 образцах (37,7%, 95% ДИ=29,3–46,6) (рисунок). Суммарная эффективность выделения микобактерий методом посева составила 11,5% (15 из 130 образцов, 95% ДИ=6,6–18,3), значительная часть из них оказались нетуберкулезными. *M. tuberculosis* были выявлены в 9 случаях (6,9%, 95% ДИ=3,2–12,7), *M. avium* – в 5 (3,9%, 95% ДИ=1,2–8,8), *M. intracellulare* – в 1 случае (0,8%, 95% ДИ=0,2–4,2) из 130. Методом ПЦР-РВ удалось выявить ДНК *M. tuberculosis* еще в 10 образцах и увеличить суммарную диагностическую эффективность комплекса тестов до 45,4% (95% ДИ=36,6–54,4); частота выявления *M. tuberculosis* составила при этом 14,6% (95% ДИ=11,0–21,9). Ни в одном случае не были обнаружены смешанные культуры.

Доля случаев с туберкулезной бактериемией, подтвержденной микробиологическими методами и ПЦР, среди всех верифицированных случаев составила 32,2% (95% ДИ=20,1–45,6).

Сравнение эффективности выявления микобактерий из образцов крови различными методами (табл. 1) показало наибольшую эффективность

Таблица 1. Выявление микобактерий в крови 130 больных ВИЧ-инфекцией с симптомами сепсиса (% образцов, в которых были выявлены микобактерии)

Методы	<i>M. tuberculosis</i>			<i>M. avium/M. intracellulare</i>			
	абс.	%	95% ДИ	абс.	%	95% ДИ	
Люминесцентная микроскопия	3	2,3	0,5–6,6	2	1,5	0,2–5,5	
Посев на среды	Мусо/F Lytic	9	6,9	3,2–12,7	6	4,6	1,7–9,8
	Левенштейна–Йенсена	6	4,6	1,7–9,8	2	1,5	0,5–6,6
	Финн II	7	5,4	2,2–10,8	3	2,3	0,5–6,6
ПЦР-РВ	19	14,6	11,0–21,9	–	–	–	

Таблица 2. Спектр микроорганизмов, выделенных из крови больных ВИЧ-инфекцией с симптомами сепсиса методом посева на жидкие среды

Микроорганизм	Количество выделенных культур		95% ДИ
	абс.	%	
<i>S. epidermidis</i>	17	34,7	21,7–49,6
<i>M. tuberculosis</i>	9	18,4	8,8–32,0
<i>M. avium</i>	5	10,2	3,4–22,2
<i>M. intracellulare</i>	1	2,0	0,1–10,8
<i>Enterobacter</i> spp.	6	12,2	4,6–26,8
<i>Citrobacter</i> spp.	2	4,1	0,5–14,0
<i>Acinetobacter</i> spp.	1	2,0	0,1–10,8
<i>S. saprophyticus</i>	2	4,1	0,5–14,0
<i>Candida glabrata</i>	1	2,0	0,1–10,8
<i>E. faecalis</i>	1	2,0	0,1–10,8
Всего	49	100	–

при выявлении *M. tuberculosis* ПЦР-РВ – 19 положительных образцов (14,6%, 95% ДИ=9,0–21,9%). Однако этот метод не позволяет выявить нетуберкулезные микобактерии. Эффективность использования двух плотных сред (Левенштейна–Йенсена и Финн II) и жидкой среды Мусо/F Lytic для выделения *M. tuberculosis* оказалась достоверно ниже эффективности ПЦР-РВ: 4,6% (95% ДИ=1,7–9,8,  $p=0,006$ ), 5,4% (95% ДИ=2,2–10,8,  $p=0,01$ ) и 6,9% (95% ДИ=3,2–12,7,  $p=0,04$ ). Различия в эффективности использования плотных и жидкой сред были недостоверны ( $p=0,422$ ).

Диагностическая эффективность применения плотных сред при выделении *M. avium* составила 1,5% для среды Левенштейна–Йенсена (95% ДИ=0,2–5,5) и 2,3% для среды Финн II (ДИ=0,03). Различия со средой Мусо/F Lytic недостоверны ( $p=0,051$  и  $0,074$  соответственно). Единственный штамм *M. intracellulare* был выделен только на среде Мусо/F Lytic.

Эффективность метода люминесцентной микроскопии для выявления КУБ в мазках крови составила 2,3% (95% ДИ=0,5–6,6) для *M. tuberculosis*

( $p=0,01$  по сравнению с ПЦР-РВ и  $p=0,074$  по сравнению со средой Мусо/F Lytic) и 1,5% (95% ДИ=0,2–5,5) для *M. avium* ( $p>0,05$  по сравнению со средой Мусо/F Lytic – различия недостоверны).

Время появления роста культуры немикобактериальных бактерий на жидких средах составляло в среднем 1,2 (1–3) сут, рост единственной культуры *Candida* – 3 сут. Среднее время появления роста микобактерий туберкулеза на среде Мусо/F Lytic было 28,2 (17–38) сут, *M. avium* – 19,1 (7–26) сут, для единственной культуры *M. intracellulare* – 34 сут. Тест ПЦР-РВ на выявление ДНК микобактерий туберкулеза в образцах крови занимал один рабочий день.

Спектр выделенных микроорганизмов на всех средах представлен в табл. 2. Значительную долю среди выделенных культур составили коагулазонегативные стафилококки (*S. epidermidis* и *S. saprophyticus*), являющиеся представителями нормальной микрофлоры человека (38,8% от всех выделенных штаммов, 95% ДИ=25,2–53,8), что может быть результатом нарушения асептики при взятии крови.

## Обсуждение результатов

Востребованность быстрых и эффективных методов этиологической диагностики при синдроме системного воспаления у больных ВИЧ-инфекцией обусловлена непосредственной угрозой жизни для таких пациентов, связанной с быстрым прогрессированием полиорганной недостаточности.

Бактериемию как ключевой фактор в патогенезе специфического воспалительного процесса при туберкулезе в историческом аспекте отмечали многие исследователи. Однако, по обобщенным данным, бактериемия отмечалась у 3,7–5,3% больных с различными формами туберкулеза [10, 11]. По данным последних десятилетий, при использовании молекулярно-генетических методов ДНК микобактерий туберкулеза в крови обнаружили у 3,5% пациентов с различными клиническими формами туберкулеза и отрицательным ВИЧ-статусом и у 14,6–21,4% (при исследовании периферической крови) с ко-инфекцией туберкулеза и ВИЧ [12, 13].

На основании полученных нами результатов можно сделать вывод, что наиболее эффективным методом выявления возбудителей сепсиса/септических состояний у больных ВИЧ-инфекцией является культуральный метод с помощью автоматизированной системы ВАСТЕС (среда Мусо/F lytic): микроорганизмы были выделены в 37,7% образцов. Применение комплекса микробиологических и молекулярно-генетических методов позволило выявить возбудителя сепсиса в 45,4% случаев у ВИЧ-инфицированных больных с синдромом системного воспаления. Микобактерии были выявлены в 11 из 49 случаев выделения возбудителей культуральным методом. Дополнительно к методу посева, ПЦР-РВ, специфичный для микобактерий туберкулеза, позволил выявить инфекционный агент (микобактерии туберкулезного комплекса) еще в 10 случаях.

Эффективность ПЦР-РВ для выявления *M. tuberculosis* составила 14,6% против 6,9% при использовании наиболее эффективной среды Мусо/F Lytic. Сравнение временных затрат ПЦР-РВ диагностики и бактериологических методов в случае туберкулезного сепсиса показывает значительные преимущества молекулярно-генетической технологии: подтверждение туберкулезной природы системного воспаления методом ПЦР-РВ соста-

вило 1 сутки, а при посеве на жидкую среду Мусо/F Lytic – в среднем 28 суток (от 17 до 38 суток).

Однако только посев на жидкую среду позволил выделить культуру возбудителя немикобактериальной природы и нетуберкулезных микобактерий у 6 пациентов, на этом основании установить достоверный диагноз и начать адекватную терапию.

Применение молекулярно-генетических методов для идентификации как туберкулезных, так и нетуберкулезных микобактерий, вместо методов биохимической и фенотипической идентификации, позволило сократить время постановки этиологического диагноза от нескольких суток до двух недель.

Несмотря на то что в связи с малым количеством исследованных образцов и выделенных культур, достоверных различий в эффективности применения жидкой среды и двух плотных сред не выявлено, на среде Мусо/F Lytic удалось выделить больше культур *M. tuberculosis* и нетуберкулезных микобактерий, чем на плотных яичных средах. При этом не было ни одной культуры, которая выросла бы только на плотных средах и не выросла на жидкой среде. В связи с этим, мы считаем применение среды Мусо/F Lytic предпочтительным, особенно при подозрении на микобактериоз.

Туберкулезная природа сепсиса была выявлена в 32,2% от всех всех этиологически верифицированных случаев. Нетуберкулезные микобактерии (*M. avium*/*M. intracellulare*) были выявлены в 9,2% от всех этиологически верифицированных случаев системного воспаления.

Применение комплекса микробиологических методов с использованием жидких питательных сред и молекулярно-диагностических методов для выявления этиологии септического состояния сегодня является наиболее эффективным способом верификации диагноза при синдроме системного воспаления и, особенно, у ВИЧ-инфицированных пациентов. При подозрении на туберкулезную природу воспаления в первоочередном порядке необходимо применять молекулярно-генетические методы.

### Благодарность.

Исследование проводилось с реагентами и при использовании оборудования, предоставленными безвозмездно компанией BD Diagnostics.



## Литература

1. Хаертынова И.М., Романенко О.М., Сиразиева Ф.К., Замятина Э.А., Курмашева Е.В., Микусев Р.Ю. и др. Особенности течения сепсиса у больных ВИЧ-инфекцией. В кн.: Материалы научно-практической конференции с международным участием «Сепсис: проблемы диагностики, терапии и профилактики» Харьков, 2006. - С. 232-3.
2. Markowitz N., Hansen N.I., Hopewell P.C., et al. Incidence of tuberculosis in the United States among HIV-infected persons. The pulmonary complications of HIV infection study group. *Ann Intern Med* 1997; 126:123-32.
3. Пантелеев А.М. Туберкулез органов дыхания у больных с ВИЧ-инфекцией. *ВИЧ-инфекция и иммуносупрессия* 2010; (1):16-22.
4. Грувер К.П., Белобородов В.Б. Клиническое значение бактериемии у больных сепсисом. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2011; 13(1):90-7.
5. Grinsztejn B., Fandinho F.C., Veloso V.G., et al. Mycobacteremia in patients with the acquired immunodeficiency syndrome. *Arch Intern Med* 1997; 157:2359-63.
6. Waddell R.D., Lishimpi K., von Reyn C.F., et al. Bacteremia due to *Mycobacterium tuberculosis* or *M. bovis*, bacille Calmette-Guérin (BCG) among HIV-positive children and adults in Zambia. *AIDS* 2001; 15:55-60.
7. American College of Chest Physicians/society of Critical Care Medicine Consensus Conference Committee: American College of Chest Physicians/Society of Critical Care Medicine Consensus Conference. Definition for sepsis and multiple organ failure and guidelines for the use of innovative therapies in sepsis. *Crit Care Med* 1992; 20:864-74.
8. Abraham E., Matthay M.A., Dinarello C.A., et al. Consensus conference definitions for sepsis, septic shock, acute lung injury, and acute respiratory distress syndrome: Time for a reevaluation. *Crit Care Med* 2000; 28:232-5.
9. Приказ МЗ РФ от 21 марта 2003 г №109 «О совершенствовании противотуберкулезных мероприятий в Российской Федерации». Приложение 11. Инструкция по унифицированным микробиологическим исследованиям при выявлении, диагностике и лечении туберкулеза.
10. Беневоленский П.И. Туберкулезная бациллемия при туберкулезе и нетуберкулезных заболеваниях. Л.: Военно-морская медицинская академия, 1945. - 57 с.
11. Dalencour F. La bacillémie tuberculeuse et la phtisiogénèse; essai d'une synthèse de la phtisiologie. Paris: Doin (Clamart: impr. de Habauzit); 1954.
12. Richter C., Kox L.F., Van-Leeuwen J.V., Mtoni I., Kolk A.H. Clinical significance of mycobacteremia in pulmonary tuberculosis. *Eur J Clin. Microbiol Infect Dis* 1996; 15:813-7.
13. Mumtaz A.K., Sajjad H.M., Shahid A.A., Tariq B., Masood A. Peripheral blood-based polymerase chain reaction in diagnosis of pulmonary tuberculosis. *J Ayub Med Col Abbottabad* 2006; 18:25-8.

## Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг.

М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн, Е.Ю. Склеенова, Н.В. Иванчик, А.В. Тимохова, А.В. Дехнич, Р.С. Козлов и исследовательская группа «МАРАФОН»\*

НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО СГМА Минздрава России, Смоленск, Россия

Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* в совокупности являются наиболее частыми возбудителями нозокомиальных инфекций. В данной статье представлены результаты оценки чувствительности к антибактериальным препаратам 573 изолятов *Enterobacteriaceae*, выделенных в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций (МАРАФОН) в 25 стационарах 18 городов России в 2011–2012 гг. Энтеробактерии составили в общей сложности 33,7% всех выделенных бактериальных возбудителей. Наиболее частыми видами были *Klebsiella pneumoniae* (16,9%), *Escherichia coli* (7,9%) и *Enterobacter cloacae* (2,6%). Подавляющее большинство исследованных изолятов были нечувствительны к оксимино- $\beta$ -лактамам — цефотаксиму (83,8%), цефтазидиму (81,3%), цефепиму (79,1%) и азтреонаму (80,6%). Продукция  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра (ESBL) обнаружена у 78,2% всех изоля-

тов, в том числе, у 90,6% *K. pneumoniae* и 82,1% *E. coli*. Нечувствительность к карбапенемам — меропенему, имипенему и эртапенему, проявляли соответственно 2,8, 8,4 и 14,0% изолятов, в большинстве случаев — *K. pneumoniae*. У 3,7% изолятов выявлена продукция карбапенемаз групп OXA-48 (3,3%) и NDM-1 (0,4%). Большинство изолятов были нечувствительны к тобрамицину (74,0%), гентамицину (60,4%), ципрофлоксацину (70,5%) и триметоприму/сульфаметоксазолу (63,7%). Среди не- $\beta$ -лактамных антибиотиков наиболее высокую активность *in vitro* проявляли фосфомицин, тигециклин, колистин и амикацин, нечувствительными к которым были соответственно 14,1, 15,9, 16,1 и 36,1% всех изолятов. Фенотипом экстремальной резистентности (XDR) обладали 11,7% изолятов.

**Ключевые слова:** *Enterobacteriaceae*, *E. coli*, *K. pneumoniae*, антибиотикорезистентность, нозокомиальные инфекции.

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

\* Астанина М. А., Жданова О. А., Большшева Г. С. (Воронеж), Новикова Р. И. (Ижевск), Валиуллина И. Р. (Казань), Кокарева Т. С., Частоедова А. Н. (Киров), Попов Д. А., Рог А. А., Поликарпова С. В. (Москва), Гординская Н. А., Некаева Е. С., Абрамова Н. В. (Нижегород), Доманская О. В., Землянская О. А., Горюнова Л. А. (Новокузнецк), Скальский С. В., Елохина Е. В., Попова Л. Д. (Омск), Божкова С. А., Гомон Ю. М. (Санкт-Петербург), Кречикова О. И., Мищенко В. М., Рачина С. А. (Смоленск), Стреш Ю. А., Гудкова Л. В., Колосова И. П., Вунукайнен Т. М. (Томск), Ортенберг Э. А., Хохлавина Р. М. (Тюмень), Портнягина У. С., Шамаева С. Х., Матвеев А. С. (Якутск), Палютин Ш. Х., Власова А. В., Ершова М. Г. (Ярославль), Лебедева М. С., Феоктистова Л. В. (Новосибирск), Гордеева С. А., Долинина В. В., Чернявская Ю. Л. (Мурманск), Багин В. А., Розанова С. М., Первалова Е. Ю. (Екатеринбург).

## Antimicrobial Resistance of Nosocomial *Enterobacteriaceae* Isolates in Russia: Results of National Multicenter Surveillance Study «MARATHON» 2011–2012

M.V. Sukhorukova, M.V. Edelstein, E.Yu. Skleenova, N.V. Ivanchik, A.V. Timokhova, E.A. Sheck, A.V. Dekhnich, R.S. Kozlov, and the «MARATHON» Study Group\*

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

Species of the family *Enterobacteriaceae* represent the most prevalent group of nosocomial pathogens. In this paper, we report the data on antimicrobial susceptibility of 573 isolates of *Enterobacteriaceae* collected in 25 hospitals of 18 cities of Russia in 2011–2012 as part of the national multicenter surveillance study on antimicrobial resistance of nosocomial pathogens, «MARATHON». *Enterobacteriaceae* isolates jointly comprised 33.7% of all bacterial nosocomial isolates. The most abundant species were *Klebsiella pneumoniae* (16.9%), *Escherichia coli* (7.9%) and *Enterobacter cloacae* (2.6%). Most of the isolates were insusceptible to oximino- $\beta$ -lactams: cefotaxime (83.8%), ceftazidime (81.3%), cefepime (79.1%) and aztreonam (80.6%). Production of extended-spectrum  $\beta$ -lactamases (ESBLs) was detected in 78.2% of all isolates, including 90.6% of *K. pneumoniae* and 82.1%

of *E. coli*. The non-susceptibility rates to carbapenems were: 2.8% to meropenem, 8.4% to imipenem and 14.0% to etrapenem. The majority of carbapenem resistant isolates were *K. pneumoniae*. 3.7% of all isolates were found to produce carbapenemases of OXA-48 – (3.3%) and NDM-1-group (0.4%). Most of the isolates were insusceptible to tobramycin (74.0%), gentamicin (60.4%), ciprofloxacin (70.5%) and trimethoprim-sulfamethoxazole (63.7%). Among non- $\beta$ -lactam agents, the lowest resistance rates were observed with fosfomycin (14.1%), tigecycline 15.9%, colistin (16.1%) and amikacin (36,1%). Notably, 11.7% of the isolates were categorised as extensively drug-resistant (XDR).

**Key words:** *Enterobacteriaceae*. *E. coli*, *K. pneumoniae*, antimicrobial resistance, nosocomial infections.

### Введение

Бактерии семейства *Enterobacteriaceae* в совокупности являются наиболее частыми возбудителями нозокомиальных инфекций. Доля изолятов *Enterobacteriaceae* ( $n=573$ ) среди всех бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций ( $n=1700$ ), выделенных в рамках исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг., составила 33,7%. Сходные показатели распространенности нозокомиальных инфекций, вызванных *Enterobacteriaceae*, были отмечены в аналогичных исследованиях, проведенных в РФ ранее: 30,1% в 2002–2004 гг. и 34,5% в 2006–2007 гг. [1–4]. Более 50% изолятов энтеробактерий относились к *K. pneumoniae* и >23% – к *E. coli* (табл. 1).

Различные виды энтеробактерий значительно отличаются друг от друга по спектру природной устойчивости к антибиотикам. Наиболее широким спектром природной устойчивости к  $\beta$ -лактамам характеризуются виды энтеробактерий, продуцирующие так называемые хромосомные цефалоспори-

назы (AmpC): *Enterobacter* spp., *Citrobacter freundii*, *Serratia* spp., *Morganella morganii* и некоторые другие [5]. Отдельным видам свойственна также устойчивость к не- $\beta$ -лактамам антибиотикам, которые обычно рассматриваются как «препараты резерва», но в последнее время все чаще используются для лечения нозокомиальных инфекций в связи с ростом устойчивости к «препаратам первого ряда». Так, *Morganella morganii* является природно устойчивой к фосфомицину, тетрациклинам, тигециклину, полимиксином и нитрофуранам; *Proteus* spp., *Providencia* spp. – к тетрациклинам, тигециклину, полимиксином и нитрофуранам; *Serratia marcescens* – к полимиксином и нитрофуранам [6]. В то же время, такие виды как *Klebsiella pneumoniae* и *Enterobacter cloacae* обладают исключительной способностью к формированию вторичной резистентности к антибиотикам разных классов и по этой причине входят в группу наиболее проблемных бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций – ESKAPE [7].

\* Astanina M. A., Zhdanova O. A., Bolyisheva G. S. (Voronezh), Novikova R. I. (Izhevsk), Valiulina I. R. (Kazan), Kokareva T. S., Chastoedova A. N. (Kirov), Popov D. A., Rog A. A., Polikarpova S. V. (Moscow), Gordinskaya N. A., Nekaeva E. S., Abramova N. V. (Nizhniy Novgorod), Domanskaya O. V., Zemlyanskaya O. A., Goryunova L. A. (Novokuznetsk), Skalsky S. V., Elokina E. V., Popova L. D. (Omsk), Bozhkova S. A., Gomon Yu. M. (Saint-Petersburg), Kretchikova O. I., Mishenko V. M., Ratchina S. A. (Smolensk), Strezh Yu. A., Gudkova K. V., Kolosova I. P., Vunukainen T. M. (Toms), Ortenberg E. A., Khokhlyavina R. M. (Tyumen), Portnyagina U. S., Shamaeva S. H., Matveev A. S. (Yakutsk), Palyutin S. H., Vlasova A. V., Ershova M. G. (Yaroslavl), Lebedeva M. S., Feoktistova L. V. (Novosibirsk), Gordeeva S. A., Dolinina V. V., Chernyavskaya Yu. L. (Murmansk), Bagin V. A., Rozanova S. M., Perevalova E. Yu. (Ekaterinburg)

Таблица 1. Видовой состав изолятов — представителей семейства *Enterobacteriaceae*

Изолят	Количество (%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	287 (50,1)
<i>Escherichia coli</i>	134 (23,4)
<i>Enterobacter cloacae</i>	45 (7,9)
<i>Serratia marcescens</i>	33 (5,8)
<i>Proteus mirabilis</i>	29 (5,1)
<i>Enterobacter aerogenes</i>	11 (1,9)
<i>Proteus vulgaris</i>	9 (1,6)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	7 (1,2)
<i>Citrobacter freundii</i>	6 (1)
<i>Morganella morganii</i>	6 (1)
<i>Enterobacter asburiae</i>	3 (0,5)
<i>Proteus penneri</i>	1 (0,2)
<i>Raoultella ornithinolytica</i>	1 (0,2)
<i>Serratia ureilytica</i>	1 (0,2)

Наиболее клинически значимой является проблема резистентности нозокомиальных штаммов энтеробактерий к современным цефалоспорином и карбапенемам. По данным ранее проведенных исследований, устойчивость к цефалоспорином среди госпитальных штаммов энтеробактерий в РФ достигла уровня >50% уже к 2004 г., главным образом вследствие эпидемического распространения штаммов, продуцирующих  $\beta$ -лактамазы расширенного спектра (БЛРС, ESBL) [2, 8]. В связи с тем, что ESBL-продуцирующие штаммы как правило обладают ассоциированной устойчивостью к антибиотикам разных групп, препаратами выбора для лечения нозокомиальных инфекций, вызванных такими штаммами, остаются карбапенемы. Однако появление и распространение у энтеробактерий устойчивости к карбапенемам, в том числе опосредованной продукцией карбапенемаз, является в настоящее время не менее реальной угрозой, определяющей необходимость проведения регулярного мониторинга чувствительности возбудителей внутрибольничных инфекций [9, 10–13].

**Материал и методы**

**Источники бактериальных изолятов.** В исследование включены бактериальные изоляты, представители семейства *Enterobacteriaceae* (n=573), собранные в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций (МАРАФОН) в 25 стационарах 18 городов России (Воронежа, Екатеринбург, Ижевска,

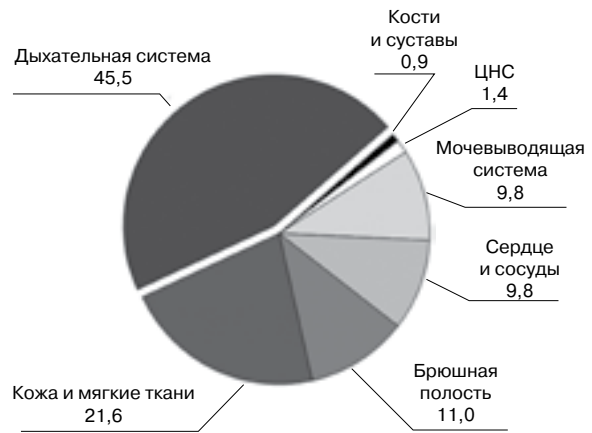


Рис. 1. Распределение нозокомиальных изолятов энтеробактерий в зависимости от локализации инфекции (в %)

Казани, Кирова, Москвы, Мурманска, Нижнего Новгорода, Новокузнецка, Новосибирска, Омска, Санкт-Петербурга, Смоленска, Томска, Тюмени, Челябинска, Якутска и Ярославля) с января 2011 г. по декабрь 2012 г. Выделение и первичная идентификация бактериальных изолятов проводились в локальных клинических микробиологических лабораториях центров — участников исследования. Все включенные в исследование изоляты были расценены как нозокомиальные с учетом: 1) их вероятной этиологической значимости в развитии определенной инфекционной патологии и 2) соответствия формальным критериям нозокомиальной инфекции, т.е. инфекции, развившейся у пациента не менее чем через 48 часов после госпитализации, не находившейся в инкубационном периоде и не явившейся следствием предшествующей госпитализации. Распределение исследованных изолятов в соответствии с источниками их выделения и локализацией инфекций представлено на рис. 1. Окончательная видовая идентификация изолятов и определение их чувствительности к антимикробным препаратам проводились в центральной лаборатории НИИ антимикробной химиотерапии (НИИАХ, Смоленск).

**Видовая идентификация и хранение изолятов.**

Все исследованные изоляты были идентифицированы до вида методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции/ионизации — времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) с использованием системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper v.3.0 (Bruker Daltonics, Германия). Рекомендуемые значения «Score»  $\geq 2,2$  были использованы в качестве кри-

Таблица 2. Чувствительность нозокомиальных изолятов *Enterobacteriaceae* (n=573) к антибактериальным препаратам

Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мг/л											% изолятов по категориям <sup>1</sup>			МПК, мг/л					
	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	УР	Р	МПК <sub>50</sub>	МПК <sub>90</sub>
Азтреонам	7,9	4,9	4,9	2,8	2,1	1,7	2,1	1,6	1,4	3,7	8,2	9,4	11,9	42,4	19,4	3,7	77,0	128	≥256	
Амикацин			0,2	0,2	0,2	7,9	14,8	21,3	19,5	9,8	2,4	1,0	1,4	1,2	20,2	63,9	9,8	26,4	8	≥512
Амоксициллин/клавуланат (2 мг/л)					0,2	1,0	1,9	4,5	4,2	9,2	7,7	7,9	11,0	52,4	11,9		88,1	≥256	≥256	
Ампициллин						0,3	0,3	0,9	0,9	0,3	0,3	1,4	4,7	90,8	2,4		97,6	≥256	≥256	
Гентамицин					2,1	23,2	14,3	1,0	0,5	0,9	2,4	5,2	13,1	37,2	39,6	1,0	59,3	≥128	≥256	
Доксициклин						2,1	18,0	20,4	7,0	9,8	20,4	12,9	6,5	3,0	40,5	7,0	52,5	16	64	
Имипенем	42,8	19,0	12,7	11,2	11,2	3,3	2,6	3,3	2,3	0,5	2,3				91,6	5,6	2,8	0,12	2	
Колistin	0,3	4,4	4,4	26,5	41,9	10,8	0,7	0,5	0,2	0,2	0,2	0,2	0,2	14,1	83,9		16,1	1	≥256	
Меропенем	74,9	12,6	4,0	3,1	3,1	2,3	0,3	0,9	0,3	1,6					97,2	1,2	1,6	0,06	0,25	
Пиперациллин/тазо-бактам (4 мг/л)			1,6	2,4	2,1	9,8	15,4	12,2	20,8	9,9	9,9	3,8	4,9	17,1	43,5	20,8	35,8	16	≥256	
Тигециклин			7,5	16,9	35,6	24,1	10,1	3,3	1,7	0,7					84,1	10,1	5,8	0,5	2	
Тикарциллин/клавуланат (2 мг/л)					0,5	0,9	2,6	4,9	3,5	3,8	2,4	3,3	6,6	71,4	12,4	3,8	83,8	≥256	≥256	
Тобрамицин			0,5	7,5	14,8	3,1	2,3	3,3	5,2	12,4	12,4	24,8	4,7	21,3	26,0	2,3	71,7	64	≥256	
Триметоприм/сульфа-метоксазол (1:19) <sup>2</sup>			15,9	8,7	4,7	5,6	1,4	1,7	1,4	2,4	2,4	2,3	16,6	36,8	36,3	1,7	62,0	128	≥256	
Фосфомидин			3,7	9,2	5,6	2,8	10,1	18,2	21,8	14,5	14,5	6,6	2,3	2,6	85,9		14,1	16	64	
Хлорамфеникол					3,5	0,2	5,1	24,6	18,5	3,5	3,5	2,4	3,8	38,4	33,3		66,7	16	≥256	
Цефепим	11,2	3,8	1,4	1,4	3,1	2,3	1,4	1,7	4,4	5,2	10,3	11,9	41,9	20,9	3,7	75,4	128	≥256	≥256	
Цефокситин					4,7	28,1	20,9	13,4	8,2	8,2	8,0	8,2	8,4		53,8	13,4	32,8	8	128	
Цефоперазон/суль-бактам (1:1) <sup>3</sup>	0,3	1,0	3,1	3,0	4,7	4,7	6,5	11,9	24,6	21,8	11,5	4,5	2,3		16,2	0,7	83,1	16	64	
Цефотаксим	6,5	5,1	1,9	0,5	2,3	0,7	0,7	0,9	1,9	1,6	1,2	2,1	74,7					≥256	≥256	
Цефтазидим	2,6	4,0	4,9	2,8	4,4	3,7	4,7	4,5	4,7	9,4	12,2	12,0	30,0		18,7	8,4	72,9	64	≥256	
Ципрофлоксацин	12,4	6,8	4,9	3,3	2,1	1,7	3,7	6,5	7,9	4,4	5,2	11,3	29,8		29,5	1,7	68,8	16	≥128	
Эртапенем	41,9	20,2	13,4	10,5	3,0	2,3	3,5	2,1	0,7	2,4				86,0	3,0	11,0	0,12	2	2	

Примечание. Здесь и в табл. 3–6:

<sup>1</sup> Ч – чувствительность, УР – умеренная резистентность, Р – резистентность.

<sup>2</sup> Указанные значения МПК соответствуют концентрации триметоприма.

<sup>3</sup> Потграничные значения МПК не установлены EUCAST и CLSI.

Таблица 3. Чувствительность нозокомиальных изолятов *K. pneumoniae* (n=287) к антибактериальным препаратам

Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мг/л											% изолятов по категориям <sup>1</sup>			МПК, мг/л				
	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	УР	Р	МПК <sub>50</sub>
Азтреонам	3,1	2,8	2,1	0,7	0,7	0,7	0,7	0,3	0,7	0,7	6,3	10,1	11,8	59,9	9,4	1,0	89,5	≥256	≥256
Амикацин				6,3	10,8	19,5	25,4	4,9	2,8	0,7	2,1	1,7	25,8		62,0	4,9	33,1	8	≥512
Амоксициллин/клавуланат (2 мг/л)				0,3	3,1	3,1	2,1	11,5	8,0	9,1	10,5	52,3			8,7		91,3	≥256	≥256
Ампициллин								0,3	1,4	4,5	93,7						100,0	≥256	≥256
Гентамицин				1,4	23,7	2,4	0,7	0,3	2,1	4,5	17,1	47,4			27,5	0,7	71,8	128	≥256
Доксициклин				2,1	23,7	23,3	5,9	3,5	26,5	12,2	2,8				49,1	5,9	44,9	8	64
Имипенем	28,2	23,7	11,8	13,9	3,8	3,8	5,6	3,8	1,0	4,2					85,4	9,4	5,2	0,12	4
Колистин	0,3	3,8	29,6	49,1	12,5	1,4	0,7	0,3	0,3	0,3	0,3	1,0			95,5		4,5	1	2
Меропенем	67,9	12,9	4,2	5,6	3,8	0,7	1,4	0,3	3,1						95,1	1,7	3,1	0,06	0,5
Пиперациллин/тазобактам (4 мг/л)				0,3	1,0	12,2	13,6	24,4	13,6	5,9	3,5	25,4			27,2	24,4	48,4	16	≥256
Тигециклин				5,9	49,5	31,7	9,4	2,4	0,7	0,3					87,1	9,4	3,5	0,5	2
Тикарциллин/клавуланат (2 мг/л)								0,3	2,8	2,4	2,1	0,7	4,9	86,8			94,4	≥256	≥256
Тобрамицин				0,7	8,0	6,3	0,3	1,7	2,4	4,5	13,9	30,0	4,9	27,2	15,3	1,7	82,9	64	≥256
Триметоприм/сульфаметоксазол (1:19) <sup>2</sup>				9,4	9,4	5,6	4,2	1,7	3,1	2,1	4,2	2,1	1,4	56,1			66,6	≥256	≥256
Фосфомидин				0,3	0,3	8,0	23,0	30,7	19,9	9,1	2,4	4,2	2,1		82,2		17,8	16	64
Хлорамфеникол				1,7	3,8	18,1	16,4	2,4	2,1	3,1	52,3				23,7		76,3	≥256	≥256
Цефепим	3,8	2,1	0,3	1,0	2,4	0,3	0,7	3,5	4,9	12,5	15,3	52,6			9,8	0,7	89,5	≥256	≥256
Цефокситин				2,8	35,5	20,2	18,1	9,4	8,4	4,9	0,7				58,5	18,1	23,3	8	64
Цефоперазон/сульбактам (1:1) <sup>3</sup>	0,3	2,4	1,4	1,7	3,5	10,5	25,1	28,9	16,0	7,0	3,1						32	128	
Цефотаксим	3,8	2,1	0,7	3,1	0,3					1,7	88,2				9,8		90,2	≥256	≥256
Цефтазидим	0,3	0,7	2,4	2,1	3,8	1,4	1,4	3,8	2,8	8,0	12,9	13,6	46,7		9,4	2,8	87,8	128	≥256
Ципрофлоксацин	3,8	10,1	1,7	1,4	1	1,7	1	8,4	13,2	5,9	4,5	34,5			18,1	1,7	80,1	32	≥128
Эртапенем	27,9	22,3	15,0	12,9	3,5	3,5	5,6	3,8	1,0	4,5					78,0	3,5	18,5	0,12	4

терия надежной видовой идентификации. До проведения анализа изоляты хранили в заморозке при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 30% глицерина.

**Определение чувствительности к антибактериальным препаратам.** Определение чувствительности ко всем антибактериальным препаратам, кроме тигециклина, проводили методом последовательных разведений в агаре Мюллера–Хинтон (Oxoid, Великобритания) [14, 15], а к тигециклину — методом последовательных разведений в бульоне Мюллера–Хинтон (Oxoid, Великобритания) в соответствии с требованиями *Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам* (EUCAST, [www.eucast.org](http://www.eucast.org)) и стандартов ISO 20776–1:2006 / ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 [16, 17]. Категории чувствительности изолятов к антимикробным препаратам определяли на основании пограничных значений *минимальных подавляющих концентраций* (МПК), установленных EUCAST [18] (для большинства препаратов) или *Институтом клинических лабораторных стандартов* (CLSI) [19] (для цефокситина и доксициклина). Для контроля качества определения чувствительности использовали штаммы: *Escherichia coli* ATCC®25922, *E. coli* ATCC®35218 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853.

**Оценка продукции бета-лактамаз расширенного спектра.** Для выявления продукции ESBL проводили параллельное определение МПК оксиминоцефалоспоринов: цефотаксима, цефтазидима и цефепима и их комбинаций с клавулановой кислотой в фиксированной концентрации 4 мг/л. Результат теста оценивали как положительный при наличии  $\geq 8$ -кратного снижения МПК хотя бы одного из цефалоспоринов в присутствии клавулановой кислоты [20]. В отдельных случаях, когда значения МПК хотя бы одного из оксиминоцефалоспоринов составляли 1 –  $\geq 256$  мг/л и снижались в 2–4 раза при добавлении клавуланата, для выявления ESBL дополнительно использовали метод двойных дисков [21]. Штамм *Klebsiella pneumoniae* ATCC®700603 (SHV-12) был использован в качестве положительного контроля.

**Выявление карбапенемаз.** Продукцию карбапенемаз определяли с помощью «ручного» Carba-NP теста с использованием В-PER II в качестве лизирующего буфера, имипенема — в качестве субстрата и фенолового красного — в качестве рН индикатора [22], а также коммерческих наборов «Rapid CARB Screen Kit» (Rosco Diagnostica, Дания). Наличие генов наиболее распространенных *металло-β-лактамаз* (MBL): VIM-, IMP- и NDM-типов и сериновых карбапенемаз (групп KPC и OXA-48) 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 Rotog-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия). Штаммы *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* из коллекции НИИАХ, продуцирующие известные карбапенемазы перечисленных типов, были использованы в качестве положительных контролей.

### Результаты исследований

Результаты оценки чувствительности всех изолятов *Enterobacteriaceae*, а также отдельных наиболее распространенных и проблемных с точки зрения антибиотикотерапии видов энтеробактерий — *K. pneumoniae*, *E. coli* и видов, продуцирующих хромосомные цефалоспорины (AmpC), представлены в табл. 2–6.

Нечувствительность (резистентность или умеренная резистентность) к оксимино-β-лактамам (цефалоспорины III–IV поколения и азтреонаму) выявлена у  $>80\%$  всех изолятов энтеробактерий, в том числе: у  $>90\%$  изолятов *K. pneumoniae*,  $>80\%$  изолятов *E. coli* и от 62,9% (к цефепиму) до 81,0% (к цефотаксиму) изолятов — продуцентов хромосомных AmpC. При этом продукция ESBL обнаружена у 78,2% всех изолятов, в том числе у 90,6% *K. pneumoniae* и 82,1% *E. coli* (табл. 7). На рис. 2 представлены данные о динамике устойчивости к цефалоспорины III–IV поколения и частоте продукции ESBL у нозокомиальных штаммов энтеробактерий в РФ по результатам исследования «МАРАФОН», а также более ранних исследований, проведенных НИИАХ/МАКМАХ [2].

Нечувствительность к карбапенемам — меропенему, имипенему и эртапенему проявляли соответственно 2,8, 8,4 и 14,0% всех изолятов энтеробактерий. Наиболее высокая частота резистентности к карбапенемам отмечена среди изолятов *K. pneumoniae*: 4,9, 14,6 и 22,0% соответственно. Продукция карбапенемаз, относящихся к группам OXA-48 ( $n=19$ ) и NDM-1 ( $n=2$ ), выявлена у 21 (3,7%) изолята, включая 20 (7,0%) изолятов *K. pneumoniae* и 1 (0,7%) *E. coli* (см. табл. 7). Таким образом, по сравнению с результатами предшествующих исследований [1, 3], в данном исследовании отмечен значительный рост частоты устойчивости к карбапенемам и продукции карбапенемаз (рис. 3).

Среди не-β-лактамных антибиотиков наиболее высокую активность *in vitro* проявляли фосфомицин, тигециклин и колистин, нечувствительными к которым были соответственно

Таблица 4. Чувствительность нозокомиальных изолятов *E. coli* (n=134) к антибактериальным препаратам

Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мг/л													% изолятов по категориям <sup>1</sup>			МПК, мг/л		
	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	УР	Р	МПК <sub>50</sub>
Азтреонам	6,7	9,7	9,7	1,5											17,9	2,2	79,9	128	≥256
Амикацин					1,5	18,7	23,9	15,7	24,6	2,2	1,5				59,7	24,6	15,7	8	≥512
Амоксициллин/клавуланат (2 мг/л)							6,0	9,0	9,7	9,7	7,5	13,4	44,8		14,9		85,1	128	≥256
Ампициллин							3,7	3,0	1,5				91,8		6,7		93,3	≥256	≥256
Гентамицин					19,4	35,8	2,2	0,7	0,7	1,5	6,0	11,9	21,6		55,2	2,2	42,5	2	≥256
Доксициклин					3,0	20,1	10,4	4,5	20,1	15,7	17,2	8,2	0,7		33,6	4,5	61,9	16	64
Имипенем	63,4	15,7	9,0	6,0	2,2	1,5	0,7	0,7		0,7				97,8	1,5	0,7	0,06	0,5	0,5
Колistin		0,7	9,7	26,9	49,3	13,4								100,0			1	2	
Меропенем		95,5	1,5	0,7	0,7	0,7		0,7						99,3	0,7		0,06	0,06	0,06
Пиперациллин/тазобактам (4 мг/л)					1,5	21,6	21,6	11,2	18,7	6,0	3,0	7,5	9,0		56,0	18,7	25,4	8	128
Тигециклин		32,1	53,0	13,4	1,5									100,0			0,25	0,5	0,5
Тикарциллин/клавуланат (2 мг/л)					3,0	3,7	2,2	0,7	2,2	2,2	6,7	11,2	70,1		9,0	0,7	90,3	≥256	≥256
Тобрамицин					2,2	25,4	5,2	0,7	2,2	1,5	14,2	27,6	8,2	12,7	32,8	0,7	66,4	32	≥256
Триметоприм/сульфаметоксазол (1:19) <sup>2</sup>		21,6	4,5	0,7	5,2				1,5	6,0	6,7	47,0	6,7		32,1		67,9	128	128
Фосфомидин		14,2	33,6	20,9	4,5	7,5	13,4	3,7	2,2					100,0			1	8	8
Хлорамфеникол					8,2	47,0	17,9			2,2		16,4			63,4		36,6	8	≥256
Цефепим	13,4	3,7	0,7		2,2	1,5	1,5	7,5	7,5	11,2	9,7	39,6		20,1	3,0	76,9	64	≥256	≥256
Цефокситин					5,2	27,6	39,6	13,4	6,0	2,2	3,7	2,2		72,4	13,4	14,2	8	32	32
Цефоперазон/сульбактам (1:1) <sup>3</sup>		2,2	5,2	4,5	3,7	3,7	6,7	16,4	32,1	14,9	7,5	1,5	1,5		17,9		82,1	≥256	≥256
Цефотаксим	6,7	10,4	0,7				0,7	3,0	1,5	2,2	74,6			17,9			≥256	≥256	≥256
Цефтазидим			7,5	9,0	1,5	6,0	9,7	3,7	3,7	11,9	16,4	14,2	16,4		17,9	15,7	66,4	32	≥256
Ципрофлоксацин	19,4	3,0	5,2		0,7	1,5	0,7	1,5	2,2	7,5	11,9	46,3		27,6	0,7	71,6	64	≥128	≥128
Эртапенем		63,4	17,9	6,7	6,7	2,2	0,7	1,5		0,7				94,8	2,2	3,0	0,06	0,06	0,5



Таблица 5. Чувствительность нозокомиальных изолятов *Enterobacteriaceae*, продуцирующих хромосомные Amp<sup>r</sup>C цефалоспорины (*n*=134)<sup>4</sup>, к антибактериальным препаратам

Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мг/л													% изолятов по категориям <sup>1</sup>			МПК, мг/л			
	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч		УР	Р	МПК <sub>30</sub>
Азтреонам	8,6	3,8	5,7	5,7	5,7	3,8	4,8	1,9	5,7	13,3	12,4	12,4	11,4	22,9	27,6	6,7	65,7	32	≥256	
Амикацин			1,0	14,3	18,1	23,8	12,4	5,7	2,9	1,0	1,9	1,0	1,0	18,1	69,5	5,7	24,8	4	≥512	
Амоксициллин/клавуланат (2 мг/л)						1,0					7,6	11,4	80,0		1,0		99,0	≥256	≥256	
Ампициллин							1,0		1,0	1,0	1,9	8,6	87,6		1,0		99,0	≥256	≥256	
Гентамицин			1,9	25,7	19,0	1,0	1,0	1,9	1,0	7,6	5,7	35,2			46,7	1,0	52,4	16	≥256	
Доксциклин					4,8	32,4	15,2	13,3	18,1	12,4	1,9	1,9			37,1	15,2	47,6	8	64	
Имипенем	30,5	19,0	25,7	15,2	4,8	1,9	1,9	1,0							97,1	2,9		0,25	0,5	
Колистин					27,6	27,6	7,6				37,1				62,9		37,1	1	≥256	
Меропенем	73,3	16,2	7,6	1,0	1,0										99,0	1,0		0,06	0,25	
Пиперациллин/тазобактам (4 мг/л)			1,9	1,9	10,5	19,0	13,3	22,9	9,5	1,0	7,6	12,4			46,7	22,9	30,5	16	≥256	
Тигециклин			2,9	40,0	37,1	15,2	2,9	1,0	1,0						80,0	15,2	4,8	1	2	
Тикарциллин/клавуланат (2 мг/л)					4,8	3,8	6,7	5,7	1,9	6,7	7,6	62,9			15,2	5,7	79,0	≥256	≥256	
Тобрамицин			9,5	19,0	2,9	4,8	4,8	12,4	9,5	16,2	1,9	19,0			31,4	4,8	63,8	16	≥256	
Триметоприм/сульфаметоксазол (1:19) <sup>2</sup>		20,0	15,2	7,6	11,4	1,0	1,0	1,9		1,0	2,9	38,1			55,2	1,0	43,8	1	≥256	
Фосфомицин			1,9	7,6	1,9	2,9	8,6	14,3	27,6	16,2	7,6	3,8	1,9	5,7	81,0		19,0	16	128	
Хлорамфеникол					2,9	15,2	29,5	12,4	1,9	1,0	34,3				21,0		79,0	16	≥256	
Цефепим	16,2	6,7	4,8	4,8	8,6	3,8	1,0	1,9	3,8	6,7	8,6	28,6			37,1	12,4	50,5	8	≥256	
Цефокситин					1,0	1,0		4,8	10,5	17,1	25,7	40,0			1,9	4,8	93,3	128	≥256	
Цефоперазон/сульбактам (1:1) <sup>3</sup>	1,9	1,9	2,9	2,9	5,7	8,6	10,5	21,0	21,0	9,5	3,8	1,9						16	64	
Цефотаксим		5,7	7,6	1,9	3,8	2,9	1,9	3,8	7,6	1,9	3,8	1,9	57,1		19,0	2,9	78,1	≥256	≥256	
Цефтазидим		3,8	6,7	7,6	7,6	4,8	5,7	6,7	9,5	11,4	10,5	15,2			25,7	10,5	63,8	16	≥256	
Ципрофлоксацин	22,9	6,7	16,2	6,7	6,7	10,5	8,6	1,9	2,9	4,8	5,7	6,7			59,0		41,0	0,25	64	
Эртапенем		27,6	26,7	22,9	13,3	3,8	1,9	1,0	1,0						90,5	3,8	5,7	0,12	0,5	

Примечание. <sup>4</sup> *Citrobacter freundii* (n=6), *Enterobacter aerogenes* (n=11), *Enterobacter asburiae* (n=3), *Enterobacter cloacae* (n=45), *Morganella morganii* (n=6), *Serratia marcescens* (n=33), *Serratia ureilytica* (n=1).

Таблица 6. Чувствительность к антибактериальным препаратам нозокомиальных изолятов *Enterobacteriaceae*, продуцирующих карбапенемазы ( $n=21$ )<sup>5</sup>

Антибиотики	% изолятов со значением МПК, мг/л													% изолятов по категориям <sup>1</sup>			МПК, мг/л			
	0,03	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	УР	Р	МПК <sub>50</sub>	МПК <sub>90</sub>
Азтреонам	4,8											4,8	90,5			4,8	95,2		≥256	≥256
Амикацин					23,8	57,1	4,8								14,3	81,0	4,8	14,3	8	≥512
Амоксициллин/клавуланат (2 мг/л)										100,0							100,0		256	≥256
Ампициллин										100,0							100,0		256	≥256
Гентамицин					19,0	4,8				33,3		42,9				23,8	76,2		128	≥256
Доксициклин							4,8	9,5	61,9	23,8						4,8	95,2		32	64
Имипенем					14,3	28,6	4,8		52,4							14,3	33,3		32	32
Колistin			19,0	28,6	42,9	4,8				4,8						95,2	4,8		1	1
Меропенем			9,5	33,3			4,8	4,8	47,6							42,9	4,8		16	32
Пиперациллин/газобактам (4 мг/л)										100,0							100,0		≥256	≥256
Тигециклин					14,3	61,9	19,0	4,8								76,2	19,0		1	2
Тикарциллин/клавуланат (2 мг/л)										100,0							100,0		≥256	≥256
Тобрамицин									33,3	47,6							100,0		64	256
Триметоприм/сульфаметоксазол (1:19) <sup>2</sup>									4,8								100,0		≥256	≥256
Фосфомидин							9,5	33,3	28,6	14,3	4,8	9,5				71,4	28,6		32	128
Хлорамфеникол					14,3		28,6			42,9						14,3	85,7		128	≥256
Цефепим			4,8				4,8	38,1	33,3	14,3	4,8	38,1	9,5			4,8	57,1		32	64
Цефокситин										9,5							100,0		≥256	≥256
Цефоперазон/сульбактам (1:1) <sup>3</sup>							4,8	28,6	19,0	9,5							95,2		64	128
Цефотаксим					4,8					95,2						4,8	95,2		≥256	≥256
Цефтазидим					4,8					95,2						4,8	95,2		≥256	≥256
Ципрофлоксацин							33,3	4,8	14,3	47,6							100,0		64	≥128
Эртапенем						14,3	28,6		57,1								100,0		32	32

Примечание. <sup>5</sup> *K. pneumoniae* OXA-48 ( $n=18$ ), *K. pneumoniae* NDM-1 ( $n=2$ ), *E. coli* OXA-48 ( $n=1$ ).

Таблица 7. Продукция ESBL и карбапенемаз у различных видов *Enterobacteriaceae*

Изоляты	Количество (%) ESBL-продуцирующих изолятов	Количество (%) карбапенемазо- продуцирующих изолятов
<i>C. freundii</i> (n=6)	1 (16,7)	0 (0)
<i>E. aerogenes</i> (n=11)	7 (63,6)	0 (0)
<i>E. asburiae</i> (n=3)	2 (66,7)	0 (0)
<i>E. cloacae</i> (n=45)	26 (57,8)	0 (0)
<i>E. coli</i> (n=134)	110 (82,1)	1 (0,7)
<i>K. oxytoca</i> (n=7)	1 (14,3)	0 (0)
<i>K. pneumoniae</i> (n=287)	260 (90,6)	20 (7,0)
<i>M. morgani</i> (n=6)	2 (33,3)	0 (0)
<i>P. mirabilis</i> (n=29)	17 (58,6)	0 (0)
<i>P. penneri</i> (n=1)	0 (0)	0 (0)
<i>P. vulgaris</i> (n=9)	1 (11,1)	0 (0)
<i>R. ornithinolytica</i> (n=1)	0 (0)	0 (0)
<i>S. marcescens</i> (n=33)	21 (63,6)	0 (0)
<i>S. ureilytica</i> (n=1)	0 (0)	0 (0)
Всего (n=573)	448 (78,2)	21 (3,7)



Рис. 2. Динамика устойчивости\* к цефалоспорином III–IV поколения и продукции ESBL у нозокомиальных штаммов энтеробактерий в РФ по данным многоцентровых исследований НИИАХ/МАКМАХ.  
\*% нечувствительных (умеренно резистентных и резистентных изолятов).

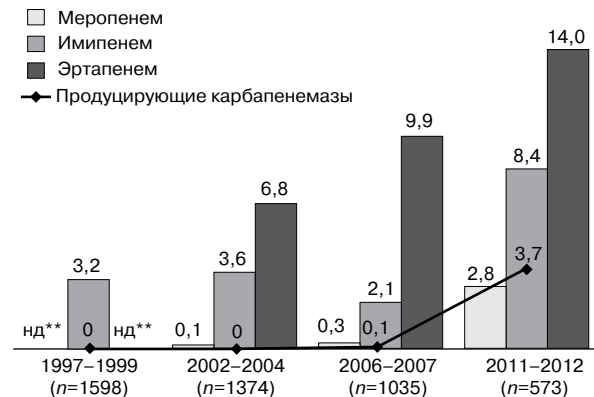


Рис. 3. Динамика устойчивости\* к карбапенемам и продукции карбапенемаз у нозокомиальных штаммов энтеробактерий в РФ по данным многоцентровых исследований НИИАХ/МАКМАХ.  
\*% нечувствительных (умеренно резистентных и резистентных изолятов).  
\*\* НД — нет данных

14,1, 15,9 и 16,1% всех изолятов, принадлежащих в основном к видам *Enterobacteriaceae* с природной резистентностью. Приобретенная резистентность к колистину, тигециклину и фосфомицину была выявлена у 4,5, 12,9 и 17,8% изолятов *K. pneumoniae*, однако среди изолятов *E. coli* случаев приобретенной устойчивости к данным препаратом обнаружено не было.

В соответствии с международными критериями [23], фенотипом множественной резистентно-

сти (MDR) — устойчивости к антимикробным препаратам, принадлежащим как минимум к трем различным категориям, обладали 540 (94,2%) изолятов, включая всех продуцентов ESBL и карбапенемаз, а фенотипом экстремальной резистентности (XDR) — устойчивости ко всем препаратам, за исключением одной или двух категорий антимикробных препаратов, — 67 (11,7%) изолятов *Enterobacteriaceae*. XDR изоляты, как правило, сохраняли чувствительность только к меропенему

( $n=54$ ), колистину ( $n=51$ ), тигециклину ( $n=46$ ) и/или фосфомицину ( $n=30$ ).

Результаты оценки чувствительности карбапенемазопродуцирующих изолятов энтеробактерий представлены в табл. 6. Все изоляты, экспрессирующие карбапенемазы, проявляли устойчивость к эртапенему, однако у 3 (14,3%) и 9 (42,9%) из них значения МПК имипенема и меропенема не превышали уровни пограничных значений для умеренно резистентных штаммов (МПК  $\leq 2$  мг/л). Все, за исключением одного изолята, проявляли также устойчивость к оксиминоцефалоспорином и азтреонаму вследствие одновременной продукции ESBL. Вместе с тем, большинство продуцентов карбапенемаз сохраняли чувствительность к амикацину (81,0%), колистину (95,2%), фосфомицину (71,4%) и тигециклину (76,2%).

### Заключение

Результаты данного исследования свидетельствуют о широком распространении резистентности к большинству антибактериальных препаратов среди нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в России.

Крайне высокая частота резистентности к современным цефалоспорином у всех видов энтеробактерий (>80%) и прежде всего у *K. pneumoniae* (>90%), обусловленная в основном распространением ESBL (78%), исключает возможность их эмпирического применения для лечения внутрибольничных инфекций, вызванных *Enterobacteriaceae*.

### Литература

1. Решедько Г. К., Рябкова Е. Л., Кречикова О. И., Сухорукова М. В., Шевченко О. В., Эйдельштейн М. В., Козлов Р. С., Туркутюков В. Б., Нехаева Г. И., Бочкарев Д. Н., Розанова С. М., Боронина Л. Г., Агапова Е. Д., Марусина Н. Е., Мултых И. Г., Тарабан В. К., Здзитовецкий Д. Э., Сарматова Н. И., Тихонов Ю. Г., Поликарпова С. В. и др. Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров России. Клин микробиол антимикроб химиотер 2008; 10 (2):96-112.
2. Sukhorukova M., Kozlyeva V., Ivanchik N., Edelstein M., Kozlov R. and members of ROSNET study group. Five-year trends in the prevalence and types of ESBLs and antimicrobial susceptibility of ESBL-producing nosocomial strains of *Enterobacteriaceae* in Russia. Abstr. P716. 20th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). 2010. Vienna, Austria.
3. Skleenova E., Sukhorukova M., Timokhova A., Martinovich A, Savochkina J., Edelstein M., Kozlov R. Sharp increase in carbapenem-non-susceptibility and carbapenemase production rates in nosocomial Gram-negative bacteria in Russia over the last decade. Abstr. C2-1092. 53<sup>rd</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), 2012, Denver, CO, USA.
4. Эйдельштейн М. В., Склеенова Е. Ю., Шевченко О. В., Тапальский Д. В., Азизов И. С., Дсоуза Д. В., Тимохова А. В., Сухорукова М. В., Козырева В. К., Сафронова Е. В., Астахова М. В., Карпов И. А., Шамаева С. Х., Абрамова Н. В., Гординская Н. А., Козлов Р. С. Распространенность и молекулярная эпидемиология грамотрицательных бактерий, продуцирующих металло-бета-лактамазы, в России, Беларуси и Казахстане. Клин микробиол антимикроб химиотер 2012; 14(2):132-52.
5. Livermore DM. Beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. Clin Microbiol Rev 1995; 8 (4):557-84.
6. Leclercq R, Cantón R, Brown DF, Giske CG, Heisig P, MacGowan AP, Mouton JW, Nordmann P, Rodloff AC,

Несмотря на то что карбапенемы сохраняют активность в отношении большинства (86–97%) нозокомиальных штаммов энтеробактерий, следует отметить резкое увеличение доли изолятов, резистентных к препаратам данной группы, в том числе штаммов, продуцирующих карбапенемазы (3,7%). Обязательный мониторинг устойчивости к карбапенемам и ограничение их неоправданного использования являются в этой ситуации абсолютно необходимыми для сдерживания дальнейшего роста резистентности.

Высокая частота сочетанной устойчивости к традиционно используемым не- $\beta$ -лактамным антибиотикам — аминогликозидам (36–74%) и фторхинолонам (70%), также не позволяет рекомендовать их широкое применение (в виде монотерапии или в составе комбинированной терапии), за исключением случаев подтвержденной чувствительности или при наличии актуальных и достоверных локальных данных о низкой распространенности резистентности.

Так называемые «препараты резерва» — тигецилин, колистин и фосфомицин, проявляющие активность в отношении >80% нозокомиальных штаммов энтеробактерий, могут быть рекомендованы, с учетом известных ограничений в спектре активности и фармакокинетике данных препаратов, для более широкого использования, особенно в стационарах с высоким уровнем распространенности карбапенеморезистентных штаммов.

- Rossolini GM, Soussy CJ, Steinbakk M, Winstanley TG, Kahlmeter G. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. *Clin Microbiol Infect* 2013; 19(2):141-60.
7. Pendleton JN, Gorman SP, Gilmore BF. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther* 2013; 11 (3):297-308.
  8. Edelstein L, 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):3724-32.
  9. Karaiskos I, Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother*. 2014;15 (10):1351-70.
  10. Cantón R, Akóva M, Carmeli Y, Giske CG, Glupczynski Y, Gniadkowski M, Livermore DM, Miriagou V, Naas T, Rossolini GM, Samuelsen Ø, Seifert H, Woodford N, Nordmann P; European Network on Carbapenemases. Rapid evolution and spread of carbapenemases among *Enterobacteriaceae* in Europe. *Clin Microbiol Infect* 2012; 18(5):413-31.
  11. Shevchenko OV, Mudrak DY, Skleenova EY, Kozyreva VK, Ilina EN, Ikryannikova LN, Alexandrova IA, Sidorenko SV, Edelstein MV. First detection of VIM-4 metallo- $\beta$ -lactamase-producing *Escherichia coli* in Russia. *Clin Microbiol Infect*. 2012; 18(7):E214-7.
  12. Ageevets VA, Partina IV, Lisitsyna ES, Ilina EN, Lobzin YV, Shlyapnikov SA, Sidorenko SV. Emergence of carbapenemase-producing Gram-negative bacteria in Saint Petersburg, Russia. *Int J Antimicrob Agents* 2014; 44(2):152-5.
  13. Barantsevich EP, Churkina IV, Barantsevich NE, Pelkonen J, Schlyakhto EV, Woodford N. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* producing NDM-1 carbapenemase in Saint Petersburg, Russia. *J Antimicrob Chemother* 2013; 68(5):1204-6.
  14. Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc* 2008; 3(2):163-75.
  15. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48(S1):5-16.
  16. 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.
  17. 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.
  18. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 4.0 2014 ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)).
  19. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Wayne, PA:2014.
  20. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). EUCAST guideline for the detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. V 1.0 2013 ([http://www.eucast.org/resistance\\_mechanisms/](http://www.eucast.org/resistance_mechanisms/)).
  21. Эйдельштейн М. В. Выявление бета-лактамаз расширенного спектра у грамотрицательных бактерий с помощью фенотипических методов. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2001; 3(2):183-9.
  22. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Rapid identification of carbapenemase types in *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* spp. by using a biochemical test. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56(12):6437-40.
  23. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. 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):268-81.

## Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг.

М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн, Е.Ю. Склеенова, Н.В. Иванчик, А.В. Тимохова, Е.А. Шек, А.В. Дехнич, Р.С. Козлов и исследовательская группа «МАРАФОН»\*

НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО СГМА Минздрава России, Смоленск, Россия

*Acinetobacter baumannii* и родственные виды, относящиеся к *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex, являются одними из наиболее проблемных возбудителей нозокомиальных инфекций. В данной статье представлены результаты оценки чувствительности к антибактериальным препаратам 252 изолятов *Acinetobacter* spp., выделенных в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций (МАРАФОН) в 25 стационарах 18 городов России в 2011–2012 гг. *Acinetobacter* spp., в частности *A. baumannii*, составили соответственно 14,8 и 13,9% всех выделенных бактериальных возбудителей. Нечувствительность к карбапенемам — меропенему и имипенему проявляли соответственно 67,5 и 96,0% изолятов, что на 28,9 и 90,9% выше аналогичных показателей в 2006–2007 гг. У 46,8% изолятов *A. baumannii* выявлено наличие генов приобретенных карбапенемаз молекулярного клас-

са D, относящихся к группам OXA-40 (38,0%), OXA-23 (4,6%) и OXA-58 (4,2%); у одного изолята *A. pittii* — наличие гена металло- $\beta$ -лактамазы NDM-типа. Большинство изолятов были также нечувствительны к фторхинолонам — ципрофлоксацину и левофлоксацину (92,1%), аминогликозидам — гентамицину (85,3%), амикацину (86,9%) и тобрамицину (64,7%), а также к триметоприму/сульфаметоксазолу (79,4%). Наиболее высокую активность *in vitro* проявлял колистин (1,6% резистентных изолятов). Значения МПК тигециклина и сульбактама превышали уровни эпидемиологических точек отсечения для штаммов «дикого типа» (ECOFF 1 и 4 мг/л) у 55,6 и 63,1% изолятов соответственно. Фенотипом экстремальной резистентности (XDR) обладали 86,9% изолятов, а фенотипом панрезистентности (PDR) — 1,2% изолятов *Acinetobacter* spp.

**Ключевые слова:** *Acinetobacter* spp., антибиотикорезистентность, нозокомиальные инфекции.

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

\*Астанина М.А., Жданова О.А., Большеева Г.С. (Воронеж), Новикова Р.И. (Ижевск), Валиуллина И.Р. (Казань), Кокарева Т.С., Частоедова А.Н. (Киров), Попов Д.А., Рог А.А., Поликарпова С.В. (Москва), Гординская Н.А., Некаева Е.С., Абрамова Н.В. (Нижний Новгород), Доманская О.В., Землянская О.А., Горюнова Л.А. (Новокузнецк), Скальский С.В., Елохина Е.В., Попова Л.Д. (Омск), Божкова С.А., Гомон Ю.М. (Санкт-Петербург), Кречикова О.И., Мищенко В.М., Рачина С.А. (Смоленск), Стреш Ю.А., Гудкова Л.В., Колосова И.П., Вунукайнен Т.М. (Томск), Ортенберг Э.А., Хохлявина Р.М. (Тюмень), Портнягина У.С., Шамаева С.Х., Матвеев А.С. (Якутск), Палютин Ш.Х., Власова А.В., Ершова М.Г. (Ярославль), Лебедева М.С., Феоктистова Л.В. (Новосибирск), Гордеева С.А., Долинина В.В., Чернявская Ю.Л. (Мурманск), Багин В.А., Розанова С.М., Перевалова Е.Ю. (Екатеринбург).

## Antimicrobial Resistance of Nosocomial *Acinetobacter* spp. Isolates in Russia: Results of National Multicenter Surveillance Study «MARATHON» 2011–2012

M.V. Sukhorukova, M.V. Edelstein, E.Yu. Skleenova, N.V. Ivanchik, A.V. Timokhova, E.A. Sheck, A.V. Dekhnich, R.S. Kozlov, and the «MARATHON» Study Group\*

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

*Acinetobacter baumannii* and related species of the *Acinetobacter calcoaceticus-baumannii* complex are the common and one of the most difficult-to-treat nosocomial pathogens. In this paper, we report the data on antimicrobial susceptibility of 252 isolates of *Acinetobacter* spp. collected in 25 hospitals of 18 cities of Russia in 2011–2012 as part of the national multicenter surveillance study on antimicrobial resistance of nosocomial pathogens, «MARATHON». *Acinetobacter* spp. and, specifically, *A. baumannii* isolates comprised, respectively, 14.8% and 13.9% of all bacterial nosocomial isolates. The non-susceptibility rates to carbapenems were: 67.5% to meropenem and 96.0% to imipenem that is, accordingly, 28.9% and 90.9% higher than they were in 2006–2007. The genes for acquired molecular class D carbapenemas were detected in 46.8% of *A. baumannii* isolates. Those

included the genes for OXA-40-like (38,0%), OXA-23-like (4,6%) и OXA-58-like (4,2%) enzymes. One *A. pittii* isolate carried the gene for NDM-type metallo- $\beta$ -lactamase. Most of the isolates were insusceptible to fluoroquinolones: ciprofloxacin and levofloxacin (92.1%), to aminoglycosides: gentamicin (85.3%), amikacin (86.9%) and tobramycin (64.7%), and to trimethoprim-sulfamethoxazole (79.4%). Colistin had the highest *in vitro* activity with resistance rate being as low as 1.6%. A total of 55.6% and 63.1% had the MICs of tigecycline and sulbactam exceeding the epidemiological cut-off values of 1 mg/l and 4 mg/l, respectively. Notably, 86.9% of the isolates were categorised as extensively drug-resistant (XDR) and 1.2% — as pan-drug-resistant (PDR).

**Key words:** *Acinetobacter* spp., antimicrobial resistance, nosocomial infections.

### Введение

Бактерии рода *Acinetobacter*, прежде всего *A. baumannii*, и в меньшей степени родственные виды, входящие в *A. calcoaceticus-baumannii* complex, являются распространенными возбудителями нозокомиальных инфекций [1, 2]. Доля изолятов рода *Acinetobacter* ( $n=252$ ) среди всех бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций ( $n=1700$ ), выделенных в рамках исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг., составила 14,8%, что превышает соответствующие показатели, полученные в более ранних исследованиях, проведенных в РФ: 10,2% в 2002–2004 гг. и 11,1% в 2006–2008 гг. [3–6].

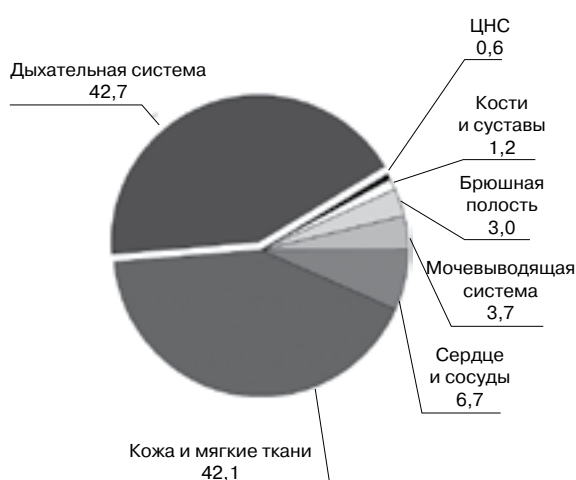
*A. baumannii* и родственные виды обладают значительно более низкой природной чувствительностью к большинству  $\beta$ -лактамных антибиотиков, включая пенициллины и цефалоспорины, по сравнению с представителями семейства *Enterobacteriaceae*. В связи с этим для лечения инфекций, вызванных данными возбудителями, обычно используются карбапенемы (кроме эртапенема) [2]. В то же время, отмечаемый в последние

годы во многих странах рост приобретенной устойчивости к карбапенемам и антибиотикам других групп определяет необходимость осуществления регулярного мониторинга чувствительности нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. и, при необходимости, коррекции стратегии терапии вызываемых ими инфекций [2, 7, 8].

### Материал и методы

**Источники бактериальных изолятов.** В исследование включены бактериальные изоляты рода *Acinetobacter* ( $n=573$ ), собранные в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций (МАРАФОН) в 25 стационарах 18 городов России (Воронежа, Екатеринбурга, Ижевска, Казани, Кирова, Москвы, Мурманска, Нижнего Новгорода, Новокузнецка, Новосибирска, Омска, Санкт-Петербурга, Смоленска, Томска, Тюмени, Челябинска, Якутска и Ярославля) с января 2011 г. по декабрь 2012 г. Выделение и первичная идентификация бактериальных изолятов

\* Astanina M. A., Zhdanova O. A., Bolyisheva G. S. (Voronezh), Novikova R. I. (Izhevsk), Valiulina I. R. (Kazan), Kokareva T. S., Chastoedova A. N. (Kirov), Popov D. A., Rog A. A., Polikarpova S. V. (Moscow), Gordinskaya N. A., Nekaeva E. S., Abramova N. V. (Nizhniy Novgorod), Domanskaya O. V., Zemlyanskaya O. A., Goryunova L. A. (Novokuznetsk), Skalsky S. V., Elokina E. V., Popova L. D. (Omsk), Bozhkova S. A., Gomon Yu. M. (Saint-Petersburg), Kretchikova O. I., Mishenko V. M., Ratchina S. A. (Smolensk), Strezh Yu. A., Gudkova K. V., Kolosova I. P., Vunukainen T. M. (Tomsk), Ortenberg E. A., Khokhlyavina R. M. (Tyumen), Portnyagina U. S., Shamaeva S. H., Matveev A. S. (Yakutsk), Palyutin S. H., Vlasova A. V., Ershova M. G. (Yaroslavl), Lebedeva M. S., Feoktistova L. V. (Novosibirsk), Gordeeva S. A., Dolinina V. V., Chernyavskaya Yu. L. (Murmansk), Bagin V. A., Rozanova S. M., Perevalova E. Yu. (Ekaterinburg)



**Рис. 1.** Распределение нозокомиальных изолятов *Acinetobacter* spp. в зависимости от локализации инфекции (в %).

**Таблица 1. Видовой состав выделенных изолятов рода *Acinetobacter***

Вид	Количество (%)
<i>Acinetobacter baumannii</i>	237 (94,0)
<i>Acinetobacter calcoaceticus</i>	3 (1,2)
<i>Acinetobacter genomospecies 13</i>	2 (0,8)
<i>Acinetobacter pittii</i>	9 (3,6)
<i>Acinetobacter haemolyticus</i>	1 (0,4)

проводились в локальных клинических микробиологических лабораториях центров — участников исследования. Все включенные в исследование изоляты были расценены как нозокомиальные с учетом: 1) их вероятной этиологической значимости в развитии определенной инфекционной патологии и 2) соответствия формальным критериям нозокомиальной инфекции, т.е. инфекции, развившейся у пациента не ранее чем через 48 часов после госпитализации, не находившейся в инкубационном периоде и не явившейся следствием предшествующей госпитализации. Распределение исследованных изолятов в соответствии с источниками их выделения и локализацией инфекций представлено на рис. 1. Окончательная видовая идентификация изолятов и определение их чувствительности к антимикробным препаратам проводились в центральной лаборатории НИИ антимикробной химиотерапии (НИИАХ, Смоленск).

**Видовая идентификация и хранение изолятов.**

Все исследованные изоляты были идентифицированы до вида (табл. 1) методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции/ионизации — время-пролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) с использованием системы Microflex LT и програм-

многo обеспечения MALDI Biotyper v.3.0 (Bruker Daltonics, Германия). В качестве критерия надежной видовой идентификации для *A. baumannii* были использованы рекомендуемые значения «Score»  $\geq 2,2$ , а для других видов *Acinetobacter* — значения «Score»  $\geq 2,1$ . Видовую идентификацию изолятов *A. baumannii* дополнительно подтверждали с помощью детекции генов видоспецифических  $\beta$ -лактамаз группы OXA-51 методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов «АмплиСенс® MDR *Acinetobacter*-OXA-FL» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) и системы RotorGene 6000 (Corbett Research, Австралия). До проведения анализа изоляты хранили в заморозке при температуре  $-70\text{ }^\circ\text{C}$  в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 30% глицерина.

**Определение чувствительности к антибактериальным препаратам.** Определение чувствительности ко всем антибактериальным препаратам, кроме тигециклина, проводили методом последовательных разведений в агаре Мюллера–Хинтон (Oxoid, Великобритания) [9, 10], а к тигециклину — методом последовательных разведений в бульоне Мюллера–Хинтон (Oxoid, Великобритания), в соответствии с требованиями *Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам* (EUCAST, www.eucast.org) и стандартов ISO 20776–1:2006 / ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 [11, 12]. Категории чувствительности изолятов к антимикробным препаратам определяли на основании пограничных значений *минимальных подавляющих концентраций* (МПК), установленных EUCAST [13] (для большинства препаратов) или *Институтом клинических лабораторных стандартов* (CLSI) [14] для ампициллина/сульбактама (1:2), цефотаксима, цефтазидима и цефепима. Для контроля качества определения чувствительности использовали штаммы *Escherichia coli* ATCC®25922, *E. coli* ATCC®35218 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853.

**Выявление карбапенемаз.** Наличие генов наиболее распространенных у *Acinetobacter* spp. приобретенных карбапенемаз класса D (групп OXA-23, OXA-24/40, OXA-58 и OXA-143), а также карбапенемаз класса В (*металло- $\beta$ -лактамаз* — MBL) групп VIM, IMP и NDM определяли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов «АмплиСенс® MDR *Acinetobacter*-OXA-FL» и «АмплиСенс® MDR MBL-FL» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) и системы RotorGene 6000 (Corbett Research, Австралия). Штаммы *A. baumannii* и *P. aeruginosa* из коллекции НИИАХ,



Таблица 2. Чувствительность нозокомиальных изолятов *Acinetobacter* spp. (n=252) к антибактериальным препаратам

Антибиотики	% изолятов со значением МПК, мг/л													% изолятов по категориям <sup>1</sup>				МПК, мг/л	
	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	УР	Р	МПК <sub>50</sub>	МПК <sub>90</sub>
Амикацин					0,8	4,8	5,6	2,0	3,6	5,2	16,7	13,9	13,5	34,1	13,1	3,6	83,3	128	≥512
Ампициллин/сульбактам (2:1) <sup>2</sup>				1,2	3,6	3,2	6,3	23,4	12,3	18,3	20,2	9,1	2,4		37,7	12,3	50,0	16	128
Гентамицин			2,0	3,2	4,8	4,8	2,4	3,2	6,0	13,5	17,1	43,3			14,7		85,3	128	≥256
Имипенем				1,6	2,4	2,4	4,8	16,3	10,7	17,5	4,4	42,5			4,0	21,0	75,0	32	≥128
Колistin			20,2	47,6	30,6	1,2		0,4							98,4		1,6	1	2
Левофлоксацин	0,4	3,6	3,2	0,8		3,6	3,6	22,2	36,1	23,8	2,0	0,8			7,9	3,6	88,5	16	32
Меропенем	1,6	2,0	2,0	6,0	16,3	6,7	15,5	6,7	6,3	3,2	4,0	31,7			32,5	22,2	45,2	8	≥128
Пиперациллин/газобактам (мг/л)					7,1	1,2	0,4	1,2	1,2	3,6	17,5	67,9	7,1		9,9	4,8	85,4	≥256	≥256
Сульбактам <sup>3</sup>		0,8	0,8	5,6	2,0	6,7	21,8	11,9	18,3	20,2	8,7	3,2	0,4	0,4				16	64
Тигециклин		1,6	1,6	7,1	35,7	29,0	14,7	11,9										2	8
Тобрамицин		0,4	3,6	8,7	8,7	19,0	3,6	1,2	5,6	15,9	8,3	11,5	22,2		35,3		64,7	32	≥256
Триметоприм/сульфаметоксазол (1:19) <sup>4</sup>		1,6	5,2	2,4	3,6	7,9	10,7	14,7	25,4	5,2	2,4	19,0	2,0		20,6	10,7	68,7	16	128
Цефепим				0,8	1,6	1,6	4,0	0,8	13,9	13,1	19,4	8,3	38,1		7,2	13,9	78,9	64	≥256
Цефоперазон/сульбактам (1:1) <sup>3</sup>			1,2	3,6	3,6	5,6	14,3	15,1	13,5	32,1	8,3	5,6	0,8				16	64	
Цефотаксим						1,6	2,4	3,6	0,8			2,0	89,7		4,0	4,4	91,7	≥256	≥256
Цефтазидим						3,6	3,6	1,2	2,4	6,7	34,9	22,2	25,4		8,4	2,4	89,2	64	≥256
Ципрофлоксацин	2,4	4,8	4,8	0,4	0,4	0,4	0,4	4,0	3,6	7,1	22,6	54,4			7,9		92,1	128	≥128

Примечание. Здесь и в табл. 3:

<sup>1</sup> Ч – чувствительность, УР – умеренная резистентность, Р – резистентность.

<sup>2</sup> Указанные значения МПК соответствуют концентрации ампициллина. Активность проявляется за счет сульбактама, эффективные концентрации которого для данной комбинации в 2 раза ниже указанных.

<sup>3</sup> Пограничные значения МПК не установлены EUCAST и CLSI.

<sup>4</sup> Указанные значения МПК соответствуют концентрации триметоприма.

Таблица 3. Чувствительность к антибактериальным препаратам нозокомиальных изолятов *A. baumannii*, продуцирующих приобретенные ОХА карбапенемазы (n=111)<sup>5</sup>

Антибиотики	% изолятов со значением МПК, мг/л											% изолятов по категориям <sup>1</sup>			МПК, мг/л				
	0,06	0,12	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	УР	Р	МПК <sub>50</sub>	МПК <sub>90</sub>
Амикацин						2,7	4,5		5,4	9,0	25,2	11,7	9,9	31,5	7,2	5,4	87,4	128	≥512
Ампициллин/сульбактам (2:1) <sup>2</sup>							1,8	17,1	19,8	16,2	25,2	16,2	3,6		18,9	19,8	61,2	32	128
Гентамицин		1,8	2,7		2,7	7,2	2,7	4,5	2,7	6,3	17,1	55,0			11,7		88,3	≥256	≥256
Имипенем						0,9		0,9	0,9		3,6	94,6				0,9	99,1	≥128	≥128
Колистин					7,2	49,5	42,3	0,9							99,1		0,9	1	2
Левофлоксацин						5,4	1,8	19,8	23,4	44,1	4,5	0,9				5,4	94,6	16	32
Меропенем					0,9	0,9		0,9	10,8	6,3	9,0	71,2			1,8	0,9	97,3	≥128	≥128
Пиперациллин/тазобактам (4 мг/л)									0,9	1,8	13,5	83,8				2,7%	97,3	≥256	≥256
Сульбактам <sup>3</sup>						0,9	14,4	16,2	20,7	26,1	15,3	5,4	0,9					16	64
Тигециклин		1,8	34,2	22,5	18,9	22,5												2	8
Тобрамицин					9,9	9,9		0,9	3,6	7,2	10,8	17,1	40,5		19,8		80,2	128	≥256
Триметоприм/сульфаметоксазол (1:19) <sup>4</sup>			0,9	0,9	1,8	7,2	14,4	19,8	8,1	2,7	3,6	38,7	1,8		10,8	14,4	74,8	16	128
Цефепим							0,9	13,5	16,2	13,5	12,6	43,2		0,9	13,5	85,5		128	≥256
Цефоперазон/сульбактам (1:1) <sup>3</sup>						1,8	2,7	17,1	17,1	37,8	13,5	9,0	0,9					32	64
Цефотаксим											1,8	98,2					100	≥256	≥256
Цефтазидим								0,9	9,0	40,5	34,2	15,3			0,9	99,1		64	≥256
Ципрофлоксацин						0,9	6,3	0,9	3,6	17,1	71,2					100,0		≥128	≥128

<sup>5</sup> Примечание. <sup>1</sup> Группа ОХА-23 (n=11), группа ОХА-40 (n=90), группа ОХА-58 (n=10).

продуцирующие известные карбапенемазы перечисленных групп, были использованы в качестве положительных контролей.

### Результаты исследований

Результаты оценки чувствительности нозокомиальных изолятов *Acinetobacter* spp. представлены в табл. 2.

При использовании критериев CLSI нечувствительность (резистентность или умеренная резистентность) к оксиминоцефалоспоридам выявлена у подавляющего большинства исследованных изолятов, в том числе к цефотаксиму у 96,0%, цефтазидиму у 91,6% и цефепиму у 92,8%. Умеренную резистентность и резистентность к ампициллину/сульбактаму проявляли соответственно 12,3 и 50,0% изолятов. При этом значения МПК<sub>50%</sub> и МПК<sub>90%</sub> для сульбактама составили 16 и 64 мг/л.

Нечувствительность к карбапенемам: меропенему и имипенему, проявляли соответственно 67,5 и 96,0% изолятов. Гены приобретенных карбапенемаз, в том числе относящихся к группам ОХА-23 ( $n=11$ ), ОХА-40 ( $n=90$ ) и ОХА-58 ( $n=10$ ), выявлены у 111 (46,8%) изолятов *A. baumannii*. У одного изолята *A. pittii* установлено наличие гена, кодирующего MBL NDM-типа. Сравнение полученных данных с результатами предшествующих исследований [3, 6, 15] свидетельствует о стремительном росте частоты устойчивости к карбапенемам и продукции карбапенемаз у нозокомиальных штаммов *A. baumannii* в РФ (рис. 2).

Крайне высокие показатели устойчивости отмечены также для фторхинолонов (92,1%), ко-тримоксазола (79,4%) и аминогликозидов: гентамицина (85,3%), амикацина (86,9%) и, в меньшей степени, тобрамицина (64,7%). Среди не- $\beta$ -лактамных антибиотиков наиболее высокую активность *in vitro* проявлял колистин (1,6% резистентных изолятов). Значения МПК тигециклина превышали уровень эпидемиологической точки отсечения для штаммов «дикого типа» (ЕСOFF 1 мг/л) у 55,6% изолятов *Acinetobacter* spp.

В соответствии с международными критериями [16], фенотипом множественной резистентности (MDR) — устойчивости к антимикробным препаратам, принадлежащим как минимум к трем различным категориям, обладали 236 (93,7%) изолятов, фенотипом экстремальной резистентности (XDR) — устойчивости ко всем препаратам, за исключением одной или двух категорий антимикробных препаратов — 219 (86,9%) изолятов, включая подавляющее большинство (108 из 112) продуцентов карбапенемаз, а фенотипом панрезистентности (PDR) — устойчивости ко всем препаратам

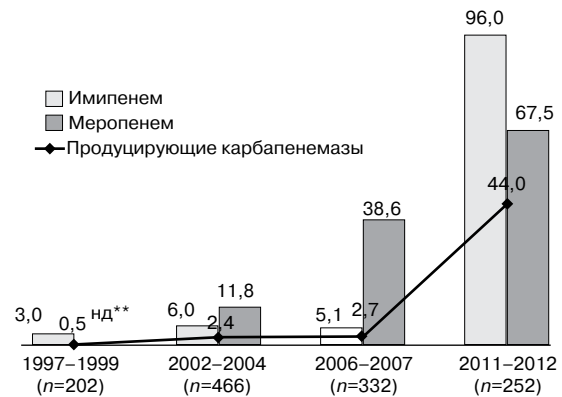


Рис. 2. Динамика устойчивости\* к карбапенемам и продукции карбапенемаз у нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в РФ по данным многоцентровых исследований НИИИХ/МАКМАХ.

\* % нечувствительных (умеренно резистентных и резистентных) изолятов

\*\* НД — нет данных

всех категорий — 3 (1,2%) изолята. XDR изоляты, как правило, сохраняли чувствительность только к полимиксинам ( $n=114$ ). Результаты оценки чувствительности изолятов *A. baumannii*, несущих гены приобретенных ОХА карбапенемаз, представлены в табл. 2. Все, кроме одного, карбапенемазопродуцирующие изоляты проявляли чувствительность к колистину; 21 (18,9%) из них сохраняли также чувствительность к ампициллину/сульбактаму.

### Заключение

Результаты данного исследования свидетельствуют об увеличении роли *Acinetobacter* spp. в этиологии нозокомиальных инфекций в РФ и одновременно — о резком нарастании устойчивости изолятов *A. baumannii* к большинству антибактериальных препаратов.

Особое внимание обращает на себя факт крайне высокой распространенности устойчивости к карбапенемам, которые традиционно рассматриваются как препараты выбора для лечения тяжелых инфекций у госпитализированных пациентов: к имипенему (75% резистентных и 21% умеренно резистентных изолятов) и меропенему (45% резистентных и 22% умеренно резистентных изолятов). Рост устойчивости к препаратам данной группы обусловлен, прежде всего, быстрым распространением в различных регионах РФ карбапенемазопродуцирующих штаммов *A. baumannii*, доля которых возросла более чем в 15 раз: с <3% в 2006–2007 гг. до 44% в 2011–2012 гг.

Почти 87% исследованных нозокомиальных изолятов *Acinetobacter* spp. в соответствии с международными критериями были отнесены к катего-

рии XDR, а 45% штаммов проявляли устойчивость ко всем доступным антибактериальным препаратам, кроме полимиксинов (колистина). При этом частота устойчивости к колистину не превышала 2% среди всех изолятов *Acinetobacter* spp. и 1% среди изолятов, продуцирующих карбапенемазы.

Среди других исследованных антибактериальных препаратов наиболее высокую активность

*in vitro*, в соответствии с показателями МПК<sub>50</sub> и МПК<sub>90</sub>, в отношении штаммов *Acinetobacter* spp. проявляли тигециклин и сульбактам. Однако возможность использования этих данных для прогнозирования эффективности терапии ограничена в связи с отсутствием критериев EUCAST для определения клинических категорий чувствительности к данным препаратам.

## Литература

1. Dijkshoorn L, Nemes A, Seifert H. An increasing threat in hospitals: multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Nat Rev Microbiol*. 2007; 15(12):939-51.
2. Kempf M, Rolain JM. Emergence of resistance to carbapenems in *Acinetobacter baumannii* in Europe: clinical impact and therapeutic options. *Int J Antimicrob Agents*. 2012; 40(2):105-14.
3. Мартинович А.А. Динамика антибиотикорезистентности и эпидемиология инфекций, вызванных *Acinetobacter* spp., в России. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2012; 14(2):96-105.
4. Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Фаращук А.Н., Страчунский Л.С., Туркутюков В.Б., Нехаева Г.И., Розанова С.М., Боронина Л.Г., Агапова Е.Д., Марусина Н.Е., Мултых И.Г., Тарабан В.К., Здзитовецкий Д.Э., Сарматова Н.И., Тихонов Ю.Г., Поликарпова С.В., Большаков Л.В., Богомолова Н.С., Дмитриева Н.В., Петухова И.Н. и др. Неферментирующие грамотрицательные возбудители нозокомиальных инфекций в ОРИТ России: проблемы антибиотикорезистентности. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2006; 8(3):243-59.
5. Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И., Сухорукова М.В., Шевченко О.В., Эйдельштейн М.В., Козлов Р.С., Туркутюков В.Б., Нехаева Г.И., Бочкарев Д.Н., Розанова С.М., Боронина Л.Г., Агапова Е.Д., Марусина Н.Е., Мултых И.Г., Тарабан В.К., Здзитовецкий Д.Э., Сарматова Н.И., Тихонов Ю.Г., Поликарпова С.В. и др. Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров России. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2008; 10(2):96-112.
6. Skleenova E., Sukhorukova M., Timokhova A., Martynovich A, Savochkina J., Edelstein M., Kozlov R. Sharp increase in carbapenem-non-susceptibility and carbapenemase production rates in nosocomial Gram-negative bacteria in Russia over the last decade. *Abstr. C2-1092. 53<sup>rd</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)*, 2012, Denver, CO, USA.
7. Zarrilli R, Pournaras S, Giannouli M, Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents* 2013; 41 (1):11-9.
8. Karaiskos I, Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother*. 2014 Jul; 15(10):1351-70.
9. Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc*. 2008; 3(2):163-75.
10. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother*. 2001; 48(S1):5-16.
11. 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.
12. 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.
13. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 4.02014 ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)).
14. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Wayne, PA: 2014.
15. Martinovich A., Ivanchik N., Kretchikova O., Reshedko G., Riabkova E., Edelstein M., Kozlov R. Ten-years resistance trends of nosocomial *Acinetobacter* spp. in Russia. *Abstr. P 1717. 19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. 2009. Helsinki, Finland.
16. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. 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):268-81.

## Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг.

М.В. Сухорукова, М.В. Эйдельштейн, Е.Ю. Склеенова, Н.В. Иванчик, А.В. Тимохова, Е.А. Шек, А.В. Дехнич, Р.С. Козлов и исследовательская группа «МАРАФОН»\*

НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО СГМА Минздрава России, Смоленск, Россия

*Pseudomonas aeruginosa* является самым частым среди всех видов бактерий возбудителем нозокомиальных инфекций в РФ. В данной статье представлены результаты оценки чувствительности к антибактериальным препаратам 343 изолятов *P. aeruginosa*, выделенных в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций (МАРАФОН) в 25 стационарах 18 городов России в 2011–2012 гг. Доля изолятов *P. aeruginosa* среди всех бактериальных возбудителей составила 20,2%. Нечувствительность к антисинегнойным цефалоспорином — цефепиму и цефтазидиму, проявляли 58,9 и 60,9% изолятов, к пиперациллину/тазобактаму — 67,1%, к карбапенемам — имипенему и меропенему — 88,0 и 66,8% изолятов соответственно. У 28,3% изолятов выявлена продукция металло- $\beta$ -лактамаз (MBL)

VIM-типа. Большинство изолятов были также нечувствительны к фторхинолонам — ципрофлоксацину (67,6%) и левофлоксацину (70,8%), аминогликозидам — гентамицину (62,7%), амикацину (57,7%) и тобрамицину (50,1%). Наиболее высокую активность *in vitro* проявляли полимиксины — колистин и полимиксин В (3,2 и 4,7% нечувствительных изолятов соответственно). Значения МПК фосфомицина превышали уровень эпидемиологической точки отсечения для штаммов «дикого типа» (ECOFF 128 мг/л) у 11,1% изолятов. Фенотипом экстремальной резистентности (XDR) обладали 57,4% изолятов, а фенотипом панрезистентности (PDR) — 0,3% изолятов.

**Ключевые слова:** *Pseudomonas aeruginosa*, антибиотикорезистентность, нозокомиальные инфекции.

Контактный адрес:

Марина Витальевна Сухорукова

Эл. почта: Marina.Sukhorukova@antibiotic.ru

\* Астанина М.А., Жданова О.А., Большева Г.С. (Воронеж), Новикова Р.И. (Ижевск), Валиуллина И.Р. (Казань), Кокарева Т.С., Частоедова А.Н. (Киров), Попов Д.А., Рог А.А., Поликарпова С.В. (Москва), Гординская Н.А., Некаева Е.С., Абрамова Н.В. (Нижний Новгород), Доманская О.В., Землянская О.А., Горюнова Л.А. (Новокузнецк), Скальский С.В., Елохина Е.В., Попова Л.Д. (Омск), Божкова С.А., Гомон Ю.М. (Санкт-Петербург), Кречикова О.И., Мищенко В.М., Рачина С.А. (Смоленск), Стрель Ю.А., Гудкова Л.В., Колосова И.П., Вунукайнен Т.М. (Томск), Ортенберг Э.А., Хохлявина Р.М. (Тюмень), Портнягина У.С., Шамаева С.Х., Матвеев А.С. (Якутск), Палютин Ш.Х., Власова А.В., Ершова М.Г. (Ярославль), Лебедева М.С., Феоктистова Л.В. (Новосибирск), Гордеева С.А., Долиннина В.В., Чернявская Ю.Л. (Мурманск), Багин В.А., Розанова С.М., Первалова Е.Ю. (Екатеринбург).

## Antimicrobial Resistance of Nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* Isolates in Russia: Results of National Multicenter Surveillance Study «MARATHON» 2011–2012

M.V. Sukhorukova, M.V. Edelstein, E.Yu. Skleenova, N.V. Ivanchik, A.V. Timokhova, E.A. Sheck, A.V. Dekhnich, R.S. Kozlov, and the «MARATHON» Study Group\*

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

*Pseudomonas aeruginosa* is the most abundant bacterial species causing nosocomial infections in Russia. In this paper, we report the data on antimicrobial susceptibility of 343 isolates of *P. aeruginosa* collected in 25 hospitals of 18 cities of Russia in 2011–2012 as part of the national multicenter surveillance study on antimicrobial resistance of nosocomial pathogens, «MARATHON». *P. aeruginosa* isolates comprised 20.2% of all bacterial nosocomial isolates. Among them, the non-susceptibility rates to main antipseudomonal  $\beta$ -lactams were: 58.9% to cefepime, 60.9% to ceftazidime, 67.1% to piperacillin-tazobactam, 88.0% to imipenem, and 66.8% to meropenem. Production of VIM-type metallo- $\beta$ -lactamases was

detected in 28.3% of the isolates. Most of the isolates were insusceptible to fluoroquinolones: ciprofloxacin (67.6%) and levofloxacin (70.8%), and to aminoglycosides: gentamicin (62.7%), amikacin (57.7%), and tobramycin (50.1%). Polymyxins had the highest in vitro activity with non-susceptibility rates being as low as 3.2% to colistin and 4.7% to polymyxin B. Eleven percent of the isolates had the MIC of fosfomycin exceeding the epidemiological cut-off value of 128 mg/l. Notably, 57.4% of the isolates were categorised as extensively drug-resistant (XDR) and 0.3% – as pan-drug-resistant (PDR).

**Key words:** *Pseudomonas aeruginosa*, antimicrobial resistance, nosocomial infections.

### Введение

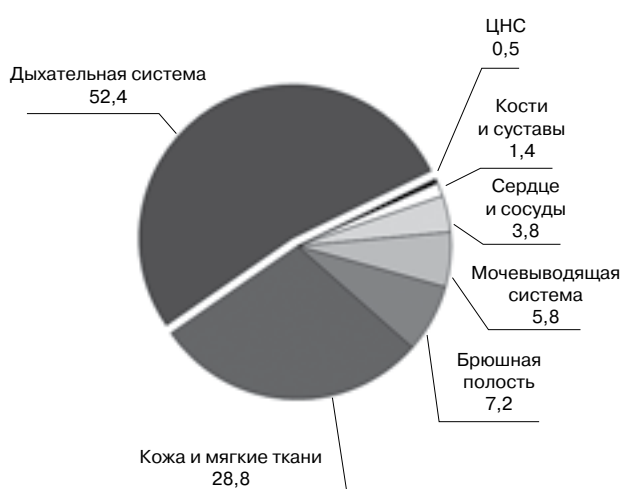
*Pseudomonas aeruginosa* является одним из наиболее распространенных, а в Российской Федерации – самым частым возбудителем нозокомиальных инфекций. Доля изолятов *P. aeruginosa* ( $n=343$ ) среди всех бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций ( $n=1700$ ), выделенных в рамках исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг., составила 20,2%. Сходные показатели распространенности нозокомиальных инфекций, вызванных *P. aeruginosa*, были отмечены в аналогичных исследованиях, проведенных в РФ ранее: 23,0% в 2002–2004 гг. и 26,3% в 2006–2007 гг. [1–4].

Возможности терапии инфекций, вызываемых *P. aeruginosa*, существенно ограничены вследствие широкого спектра ее природной резистентности, который включает аминопенициллины и их комбинации с ингибиторами  $\beta$ -лактамаз, ранние цефалоспорины, цефотаксим, цефтриаксон, эртапенем, хлорамфеникол, триметоприм/сульфаметоксазол, канамицин, неомицин, тетрациклины и тигеци-

лин, а также вследствие исключительной способности к формированию приобретенной устойчивости к антибиотикам всех известных классов у штаммов данного вида [5].

В настоящее время одной из наиболее значимых проблем химиотерапии инфекций, вызываемых *P. aeruginosa*, является глобальный рост устойчивости к карбапенемам, в том числе связанный с распространением штаммов, продуцирующих *металло- $\beta$ -лактамазы* (MBL) – ферменты, расщепляющие все  $\beta$ -лактамные антибиотики, кроме азтреонама [6, 7]. Помимо  $\beta$ -лактамов, MBL-продуцирующие штаммы *P. aeruginosa* часто проявляют ассоциированную устойчивость к большинству не- $\beta$ -лактамных антибиотиков, включая аминогликозиды и фторхинолоны, за счет сцепления генетических детерминант устойчивости, что крайне осложняет выбор препаратов для лечения вызываемых ими инфекций. По данным ранее проведенных исследований, во многих стационарах на всей территории РФ было выявлено эпидемическое распростране-

\* Astanina M. A., Zhdanova O. A., Bolyisheva G. S. (Voronezh), Novikova R. I. (Izhevsk), Valiulina I. R. (Kazan), Kokareva T. S., Chastoedova A. N. (Kirov), Popov D. A., Rog A. A., Polikarpova S. V. (Moscow), Gordinskaya N. A., Nekaeva E. S., Abramova N. V. (Nizhniy Novgorod), Domanskaya O. V., Zemlyanskaya O. A., Goryunova L. A. (Novokuznetsk), Skalsky S. V., Elokina E. V., Popova L. D. (Omsk), Bozhkova S. A., Gomon Yu. M. (Saint-Petersburg), Kretchikova O. I., Mishenko V. M., Ratchina S. A. (Smolensk), Strezh Yu. A., Gudkova K. V., Kolosova I. P., Vunukainen T. M. (Tomsk), Ortenberg E. A., Khokhlyavina R. M. (Tyumen), Portnyagina U. S., Shamaeva S. H., Matveev A. S. (Yakutsk), Palyutin S. H., Vlasova A. V., Ershova M. G. (Yaroslavl), Lebedeva M. S., Feoktistova L. V. (Novosibirsk), Gordeeva S. A., Dolinina V. V., Chernyavskaya Yu. L. (Murmansk), Bagin V. A., Rozanova S. M., Perevalova E. Yu. (Ekaterinburg)



**Рис. 1.** Распределение нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa* в зависимости от локализации инфекции (в %).

ние штаммов *P. aeruginosa*, продуцирующих MBL и обладающих устойчивостью ко всем классам антибиотиков, кроме полимиксинов [4, 8].

### Материал и методы

**Источники бактериальных изолятов.** В исследование включены изоляты *P. aeruginosa* ( $n=343$ ), собранные в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций (МАРАФОН) в 25 стационарах 18 городов России (Воронежа, Екатеринбурга, Ижевска, Казани, Кирова, Москвы, Мурманска, Нижнего Новгорода, Новокузнецка, Новосибирска, Омска, Санкт-Петербурга, Смоленска, Томска, Тюмени, Челябинска, Якутска и Ярославля) с января 2011 г. по декабрь 2012 г. Выделение и первичная идентификация бактериальных изолятов проводились в локальных клинических микробиологических лабораториях центров – участников исследования. Все включенные в исследование изоляты были расценены как нозокомиальные с учетом: 1) их вероятной этиологической значимости в развитии определенной инфекционной патологии и 2) соответствия формальным критериям нозокомиальной инфекции, т.е. инфекции, развившейся у пациента не менее чем через 48 часов после госпитализации, не находившейся в инкубационном периоде и не явившейся следствием предшествующей госпитализации. Распределение исследованных изолятов в соответствии с источниками их выделения и локализацией инфекций представлено на рис. 1. Окончательная видовая идентификация изолятов и определение их чувствительности к антими-

кробным препаратам проводились в центральной лаборатории НИИ антимикробной химиотерапии (НИИАХ, Смоленск).

**Видовая идентификация и хранение изолятов.** Все исследованные изоляты были идентифицированы до вида методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции/ионизации – времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) с использованием системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper v.3.0 (Bruker Daltonics, Германия). Рекомендуемые значения «Score»  $\geq 2,2$  были использованы в качестве критерия надежной видовой идентификации. До проведения анализа изоляты хранили в заморозке при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 30% глицерина.

**Определение чувствительности к антибактериальным препаратам.** Определение чувствительности к антибактериальным препаратам проводили методом последовательных разведений в агаре Мюллера–Хинтона (Oxoid, Великобритания) [9, 10]. Категории чувствительности изолятов ко всем препаратам, кроме полимиксина В, определяли на основании пограничных значений *минимальных подавляющих концентраций* (МПК), установленных *Европейским комитетом по определению чувствительности к антимикробным препаратам* (EUCAST) [11], а к полимиксину В – *Институтом клинических лабораторных стандартов* (CLSI) [12]. Для контроля качества определения чувствительности использовали штаммы: *Escherichia coli* ATCC®25922, *E. coli* ATCC®35218 и *P. aeruginosa* ATCC®27853.

**Выявление карбапенемаз.** Продукцию карбапенемаз определяли с помощью «ручного» Carba-NP теста с использованием В-PER II в качестве лизирующего буфера, имипенема – в качестве субстрата и фенолового красного – в качестве рН индикатора [13], а также коммерческих наборов «Rapid CARB Screen Kit» (Rosco Diagnostica, Дания). Наличие генов наиболее распространенных металло- $\beta$ -лактамаз (MBL: VIM-, IMP- и NDM-типов) определяли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов «АмплиСенс® MDR MBL-FL» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) и системы Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия). Штаммы *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* из коллекции НИИАХ, продуцирующие известные карбапенемазы перечисленных типов, были использованы в качестве положительных контролей.

Таблица 1. Чувствительность нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa* (n=343) к антибактериальным препаратам

Антибиотик	% изолятов со 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	512	Ч	УР	Р	МПК <sub>30</sub>	МПК <sub>90</sub>
Азтреонам	0,3	0,3			0,3	1,2	16,3	17,5	23,3	27,7	10,8	1,2	1,2		0,9	58,3	40,8	16	64
Амикацин					0,6	5,5	20,1	16,0	5,8	4,1	7,6	14,9	21,0	4,4	42,3	5,8	51,9	32	256
Гентамицин					0,3	18,4	18,7	5,2	2,9	4,7	1,7	1,7	46,4		37,3		62,7	32	≥256
Имипенем					1,5	2,0	8,5	8,7	5,0	7,3	9,3	57,7			12,0	8,7	79,3	≥128	≥128
Колistin			0,6	10,8	13,7	38,5	33,2	2,0	0,3	0,3		0,6			96,8	3,2	2	4	
Левифлоксацин			1,2	14,9	13,1	4,7	5,5	4,7	10,8	17,2	15,7	12,2			29,2	4,7	66,2	16	≥128
Меропенем	0,6	2,0	8,5	10,2	5,2	6,7	7,3	11,1	11,1	9,9	14,9	12,5			33,2	18,4	48,4	8	≥128
Пиперациллин					0,3	0,3	3,2	9,0	20,1	14,0	9,0	12,2	31,8		32,9		67,1	64	≥256
Пиперациллин/тазо-бактам (4 мг/л)					0,6	0,6	1,7	11,4	18,4	12,2	16,3	9,6	29,2		32,7		67,3	64	≥256
Полимиксин В					1,5	21,9	72,0	3,8	0,3					0,6	95,3	3,8	0,9	2	2
Тикарциллин/клавуланат (2 мг/л)					0,6	0,3			4,4	19,2	9,6	14,9	51,0		5,2		94,8	≥256	≥256
Тобрамицин					4,1	32,1	6,4	7,3	2,9	0,9	1,2	1,7	5,0	38,5	49,9		50,1	8	≥256
Фосфомицин <sup>2</sup>								0,6	1,2	2,0	9,6	62,1	13,4	1,2				64	256
Цефепим	0,3		0,3		2,0	18,7	6,7	13,1	18,4	31,8	6,7	0,9	1,2		41,1		58,9	16	32
Цефоперазон/сульбактам (1:1) <sup>2</sup>					0,3	0,3	0,6	8,2	17,5	9,0	14,0	15,2	16,3	18,7				64	≥256
Цефтазидим					0,6	3,8	16,3	10,8	7,6	12,2	21,0	17,5	7,0	3,2	39,1		60,9	16	128
Ципрофлоксацин			4,7	19,0	8,7	6,4	2,0	3,2	5,5	14,9	15,7	12,8	7,0		32,4	6,4	61,2	16	64

Примечание. Здесь и в табл. 2:

<sup>1</sup> Ч — чувствительность, УР — умеренная резистентность, Р — резистентность.

<sup>2</sup> Пограничные значения МПК не установлены EUCAST и CLSI.



Таблица 2. Чувствительность MBL-продуцирующих нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa* (n=97) к антибактериальным препаратам

Антибиотик	% изолятов со 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	512	Ч	УР	Р	МПК <sub>50</sub>	МПК <sub>90</sub>
Азтреонам							3,1	19,6	35,1	29,9	10,3	2,1				57,7	42,3	16	64
Амикацин						1,0	3,1	3,1	2,1	3,1	30,9	55,7	4,1		4,1		95,9	256	256
Гентамицин						1,0		2,1	1,0			95,9			1,0		99,0	≥256	≥256
Имипенем										1,0	99,0						100,0	≥128	≥128
Колistin		1,0	4,1	4,1	7,2	34,0	50,5	3,1							96,9		3,1	4	4
Левофлоксацин			2,1				4,1	18,6	40,2	21,6	13,4				2,1		97,9	32	≥128
Меропенем							2,1	3,1	20,6	38,1	36,1					2,1	97,9	64	≥128
Пиперациллин								22,7	19,6	16,5	41,2						100,0	128	≥256
Пиперациллин/тазо-бактам (4 мг/л)								2,1	13,4	29,9	15,5	39,2			2,1		97,9	128	≥256
Полимиксин В				4,1	17,5	71,1	7,2								92,3	7,2		2	2
Тикарциллин/клаву-ланат (2 мг/л)												100,0					100,0	≥256	≥256
Тобрамицин							1,0	2,1	2,1		9,3	85,6					100,0	≥256	≥256
Фосфомицин <sup>2</sup>								1,0	9,3	73,2	9,3	7,2						64	128
Цефепим								9,3	73,2	16,5	1,0						100,0	32	64
Цефоперазон/суль-бактам (1:1) <sup>2</sup>										1,0	42,3	56,7						≥256	≥256
Цефтазидим								9,3	55,7	29,9	5,2						100,0	32	64
Ципрофлоксацин		2,1				1,0	7,2	41,2	30,9	13,4	4,1				2,1		97,9	16	64

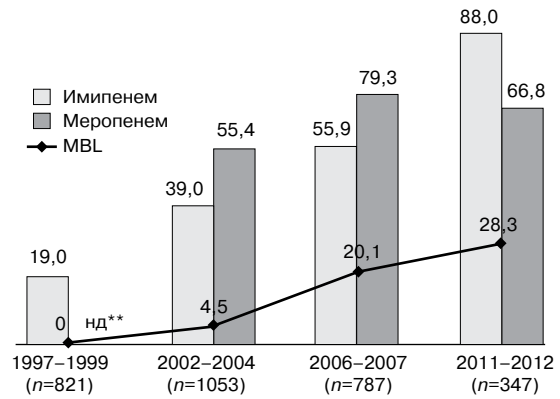
**Результаты исследований**

Результаты оценки чувствительности нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa* представлены в табл. 1.

Нечувствительность (резистентность или умеренная резистентность) к пиперациллину и пиперациллину/тазобактаму выявлена у 67,3 и 67,1% изолятов. Доля изолятов, нечувствительных к антисинегнойным цефалоспорином — цефепиму и цефтазидиму, составила 58,9 и 60,9%. Важно отметить, что в ходе данного исследования выявлена более высокая распространенность устойчивости к карбапенемам по сравнению с цефалоспорином. При этом впервые за все время наблюдений в РФ (рис. 2) доля изолятов, нечувствительных к имипенему, оказалась существенно выше (88,0%), чем доля изолятов, нечувствительных к меропенему (66,8%). Частота продукции карбапенемаз у нозокомиальных штаммов *P. aeruginosa*, выделенных в 2011–2012 гг., достигла 28,3%. У всех 97 изолятов с фенотипически подтвержденной продукцией карбапенемаз выявлены гены наиболее распространенных в РФ металло-β-лактамаз (MBL) VIM-типа [4, 8]. Данные динамики устойчивости к карбапенемам и частоты продукции MBL у нозокомиальных штаммов *P. aeruginosa* в РФ, полученные в ходе исследования «МАРАФОН», а также более ранних исследований, проведенных НИИАХ/МАКМАХ [3, 4, 8], представлены на рис. 2.

Среди не-β-лактаманых антибиотиков наиболее высокую активность *in vitro* проявляли полимиксины: колистин (3,2% нечувствительных изолятов) и полимиксин В (4,7% нечувствительных изолятов). Значения МПК фосфомицина превышали уровень эпидемиологической точки отсечения для штаммов «дикого типа» (ЕСOFF 128 мг/л) у 11,1% изолятов.

В соответствии с международными критериями [14], фенотипом множественной резистентности (MDR), т.е. устойчивости к антимикробным препаратам, принадлежащим как минимум к трем различным категориям, обладали 306 (89,2%) изолятов; фенотипом экстремальной резистентности (XDR), т.е. устойчивости ко всем препаратам, за исключением одной или двух категорий антимикробных препаратов — 197 (57,4%) изолятов, включая подавляющее большинство (95 из 97) продуцентов MBL, а фенотипом панрезистентности (PDR), т.е. устойчивости ко всем препаратам всех категорий, — 1 (0,3%) изолят. XDR изоляты, как правило, сохраняли чувствительность только к полимиксинам (n=178). Результаты оценки чувствительности MBL-продуцирующих изолятов



**Рис. 2.** Динамика устойчивости\* к карбапенемам и продукции MBL у нозокомиальных штаммов *P. aeruginosa* в РФ по данным многоцентровых исследований НИИАХ/МАКМАХ.

\* % нечувствительных (умеренно резистентных и резистентных) изолятов

\*\* НД — нет данных

*P. aeruginosa* представлены в табл. 2. Все продуценты MBL, за исключением единичных изолятов, проявляли устойчивость ко всем фторхинолонам и аминогликозидам, а также умеренную резистентность (57,7%) или резистентность (42,3%) к азтреонаму — единственному β-лактаму, нерасщепляемому MBL, очевидно вследствие наличия множественных дополнительных факторов устойчивости.

**Заключение**

Результаты данного исследования свидетельствуют о том, что *P. aeruginosa* (наряду с *Acinetobacter baumannii*) является наиболее «проблемным» возбудителем нозокомиальных инфекций в РФ с точки зрения выбора антибактериальной терапии.

Особое внимание обращает на себя факт крайне высокой распространенности устойчивости к карбапенемам, которые традиционно рассматриваются как препараты выбора для лечения синегнойной инфекции: имипенему (79% резистентных и 9% умеренно резистентных изолятов) и меропенему (48% резистентных и 18% умеренно резистентных изолятов). При этом следует отметить, что частота устойчивости к карбапенемам равна или превышает соответствующие показатели для антисинегнойных цефалоспоринов (59–61%) и пиперациллина/тазобактама (67%).

Высокая частота устойчивости к карбапенемам и другим β-лактамам в значительной степени связана с продолжающимся распространением MBL, доля которых среди нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa* достигла 28%. В подавляющем большинстве случаев продуценты MBL проявляют

устойчивость к антибиотикам всех классов, кроме полимиксинов.

Полимиксины (колистин и полимиксин В) в настоящее время являются единственной группой препаратов, распространенность устойчивости к которым среди нозокомиальных штаммов *P. aeruginosa* не превышает 5%. Учитывая высо-

кую (>50%) частоту устойчивости ко всем другим препаратам, использование полимиксинов в ряде случаев является фактически безальтернативным. Однако увеличение потребления полимиксинов сопряжено с высоким риском формирования резистентности и появления панрезистентных штаммов, в том числе продуцирующих MBL [8, 15].

## Литература

1. Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Фаращук А.Н., Страчунский Л.С., Туркутюков В.Б., Нехаева Г.И., Розанова С.М., Боронина Л.Г., Агапова Е.Д., Марусина Н.Е., Мултых И.Г., Тарабан В.К., Здзитовецкий Д.Э., Сарматова Н.И., Тихонов Ю.Г., Поликарпова С.В., Большаков Л.В., Богомоллова Н.С., Дмитриева Н.В., Петухова И.Н. и др. Неферментирующие грамотрицательные возбудители нозокомиальных инфекций в ОРИТ России: проблемы антибиотикорезистентности. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2006; 8(3):243-59.
2. Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И., Сухорукова М.В., Шевченко О.В., Эйдельштейн М.В., Козлов Р.С., Туркутюков В.Б., Нехаева Г.И., Бочкарев Д.Н., Розанова С.М., Боронина Л.Г., Агапова Е.Д., Марусина Н.Е., Мултых И.Г., Тарабан В.К., Здзитовецкий Д.Э., Сарматова Н.И., Тихонов Ю.Г., Поликарпова С.В. и др. Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров России. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2008; 10(2):96-112.
3. Skleenova E., Sukhorukova M., Timokhova A., Martinovich A, Savochkina J., Edelstein M., Kozlov R. Sharp increase in carbapenem-non-susceptibility and carbapenemase production rates in nosocomial Gram-negative bacteria in Russia over the last decade. *Abstr. C2-1092. 53<sup>rd</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC), 2012, Denver, CO, USA.*
4. Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Шевченко О.В., Тапальский Д.В., Азизов И.С., Дsouза Д.В., Тимохова А.В., Сухорукова М.В., Козырева В.К., Сафронова Е.В., Астахова М.В., Карпов И.А., Шамаева С.Х., Абрамова Н.В., Гординская Н.А., Козлов Р.С. Распространенность и молекулярная эпидемиология грамотрицательных бактерий, продуцирующих металло-бета-лактамазы, в России, Беларуси и Казахстане. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2012; 14(2):132-52.
5. Breidenstein EB, de la Fuente-Núñez C, Hancock RE. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance. *Trends Microbiol* 2011; 19(8):419-26.
6. Karaiskos I, Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother* 2014;15(10):1351-70.
7. Walsh TR, Toleman MA, Poirel L, Nordmann P. Metallo-beta-lactamases: the quiet before the storm? *Clin Microbiol Rev* 2005; 18(2):306-25.
8. Edelstein MV, Skleenova EN, Shevchenko OV, D'souza JW, Tapalski DV, Azizov IS, Sukhorukova MV, Pavlukov RA, Kozlov RS, Toleman MA, Walsh TR. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study. *Lancet Infect Dis* 2013; 13(10):867-76.
9. Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. *Nat Protoc* 2008; 3 (2):163-75.
10. Andrews JM. Determination of minimum inhibitory concentrations. *J Antimicrob Chemother* 2001; 48 (S1):5-16.
11. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 4.0 2014 ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)).
12. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-First Informational Supplement. CLSI document M100-S24. Wayne, PA: 2014.
13. Dortet L, Poirel L, Nordmann P. Rapid identification of carbapenemase types in *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas* spp. by using a biochemical test. *Antimicrob Agents Chemother* 2012; 56 (12):6437-40.
14. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. 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):268-81.
15. Salavei M., Skleenova E., Edelstein M., Krechikova O., Karpov I. First report of pandrug-resistant metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Belarus. *Abstr. P1207. 24th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). 2010. Barcelona, Spain.*

## Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг.

М. В. Сухорукова, Е. Ю. Склеенова, Н. В. Иванчик,  
А. В. Тимохова, М. В. Эйдельштейн, А. В. Дехнич, Р. С. Козлов  
и исследовательская группа «МАРАФОН»\*

НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО СГМА Минздрава России, Смоленск, Россия

В исследование было включено 284 клинических нозокомиальных штамма *S. aureus*, выделенных в 2011–2012 гг. от пациентов, госпитализированных в 25 стационарах 18 городов различных регионов России. Чувствительность к 19 антимикробным препаратам была определена методом двукратных серийных разведений в соответствии с рекомендациями EUCAST (Ver. 4.0 2014). Из 284 включенных в исследование штаммов 190 (66,9%) являлись метициллинорезистентными (MRSA). Наибольшей активностью обладали гликопептиды (ванкомицин) и оксазолидиноны (линезолид), к которым были чувствительны все исследованные штаммы. Также высокую активность продемонстрировали даптомицин, фузидин, мупироцин, ко-тримоксазол и тигециклин: чувствительными

к первым трём препаратам были 99,6%, к ко-тримоксазолу — 97,2%, к тигециклину — 95% штаммов. Остальные антибиотики проявляли низкую или умеренную активность — от 30,6% для цiproфлоксацина до 85,2% для рифампицина. Штаммы MRSA отличались существенно более низкой чувствительностью, по сравнению с MSSA, к гентамицину (24,7% vs 94,7%), клиндамицину (53,7 vs 96,8%), рифампицину (78,9% vs 97,9%), тетрациклину (46,8% vs 91,5%), хлорамфениколу (16,8% vs 85,1%), цефтаролину (57,9% vs 100%), цiproфлоксацину (1,6% vs 89,4%) и эритромицину (42,6% vs 89,4%).

**Ключевые слова:** *Staphylococcus aureus*, антибиотикорезистентность, нозокомиальные инфекции, MRSA.

---

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

---

\* Астанина М.А., Жданова О.А., Большшева Г.С. (Воронеж), Новикова Р.И. (Ижевск), Валиуллина И.Р. (Казань), Кокарева Т.С., Частоедова А.Н. (Киров), Попов Д.А., Рог А.А., Поликарпова С.В. (Москва), Гординская Н.А., Некаева Е.С., Абрамова Н.В. (Нижегород), Доманская О.В., Землянская О.А., Горюнова Л.А. (Новокузнецк), Скальский С.В., Елохина Е.В., Попова Л.Д. (Омск), Божкова С.А., Гомон Ю.М. (Санкт-Петербург), Кречикова О.И., Мищенко В.М., Рачина С.А. (Смоленск), Стреш Ю.А., Гудкова Л.В., Колосова И.П., Вунукайнен Т.М. (Томск), Ортенберг Э.А., Хохлявина Р.М. (Тюмень), Портнягина У.С., Шамаева С.Х., Матвеев А.С. (Якутск), Палютин Ш.Х., Власова А.В., Ершова М.Г. (Ярославль), Лебедева М.С., Феоктистова Л.В. (Новосибирск), Гордеева С.А., Долиннина В.В., Чернявская Ю.Л. (Мурманск), Багин В.А., Розанова С.М., Первалова Е.Ю. (Екатеринбург).

## Antimicrobial Resistance of Nosocomial *Staphylococcus aureus* Isolates in Russia: Results of National Multicenter Surveillance Study «MARATHON» 2011–2012

M. V. Sukhorukova, M. V. Edelstein, E. Yu. Skleenova, N. V. Ivanchik, A. V. Timokhova, E. A. Sheck, A. V. Dekhnich, R. S. Kozlov, and the «MARATHON» Study Group\*

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

In total 284 clinical nosocomial *S. aureus* strains isolated in 2011–2012 from patients hospitalized in 25 hospitals in 18 Russian cities were included in the study. Susceptibility to 19 antimicrobials was assessed by serial dilution method in accordance with EUCAST recommendations (ver. 4.0 2014). Methicillin-resistance rate was 66.9%. Antimicrobials with the highest activity with no resistance detected were vancomycin and linezolid. Other highly *in-vitro* active antimicrobials were daptomycin (99.6%), fusidic acid (99.6%), mupirocin (99.6%),

co-tromoxazole (97.2%), and tigecycline (95%). MRSA were substantially less susceptible compare with MSSA to gentamicin (24.7% vs 94.7%), clindamycin (53.7 vs 96.8%), rifampicin (78.9% vs 97.9%), tetracycline (46.8% vs 91.5%), chloramphenicol (16.8% vs 85.1%), ceftazidime (57.9% vs 100%), ciprofloxacin (1.6% vs 89.4%), and erythromycin (42.6% vs 89.4%).

**Key words:** *Staphylococcus aureus*, antimicrobial resistance, nosocomial infections, MRSA.

### Введение

По результатам проведенного в 2011–2012 гг. исследования МАРАФОН, доля *Staphylococcus aureus* в структуре бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций 16,7% ( $n=284$ ). Сходные показатели (19,5%) распространенности нозокомиальных инфекций, вызванных *S. aureus*, были получены в сопоставимом по дизайну исследовании, проведенном в РФ в 2006–2008 гг. [1].

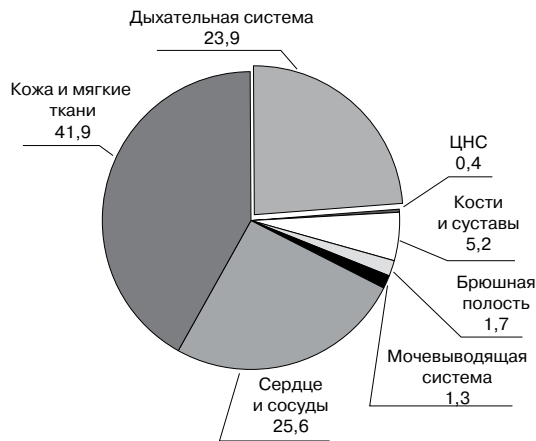
Основной проблемой антибиотикорезистентности *S. aureus* является устойчивость к  $\beta$ -лактамам антибиотикам. Так, в проведенных ранее многоцентровых российских исследованиях частота метициллинорезистентных штаммов *S. aureus* (MRSA) составила от 33,4% в 2001–2002 гг. до 54,4% — в 2006–2008 гг. [2–5]. Несмотря на наличие целого ряда препаратов, обычно активных в отношении MRSA, к ним также возможно развитие устойчивости [6–8].

**Целью** данного исследования явилось изучение *in vitro* активности антимикробных препаратов в отношении клинических нозокомиальных штаммов *S. aureus*, выделенных от госпитализированных пациентов в различных регионах России в 2011–2012 гг.

### Материал и методы

**Источники бактериальных изолятов.** В исследование включены бактериальные изоляты, представители вида *Staphylococcus aureus* ( $n=284$ ), полученные в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций МАРАФОН в 25 стационарах 18 городов России (Воронежа, Екатеринбург, Ижевск, Казани, Кирова, Москвы, Мурманска, Нижнего Новгорода, Новокузнецка, Новосибирска, Омска, Санкт-Петербурга, Смоленска, Томска, Тюмени, Челябинска, Якутска и Ярославля) с января 2011 г. по декабрь 2012 г. Выделение и первичная идентификация бактериальных изолятов проводились в локальных микробиологических лабораториях клинических центров — участников исследования. Все включенные в исследование изоляты были расценены как нозокомиальные. Распределение исследованных изолятов в соответствии с источниками их выделения и локализацией инфекций представлено на рис. 1. В центральной лаборатории (НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленск) проводилась реидентификация 100% штаммов, оценка соответствия штаммов критериям включения/исключения и определение чувствительности к антимикробным препаратам.

\* Astanina M. A., Zhdanova O. A., Bolyisheva G. S. (Voronezh), Novikova R. I. (Izhevsk), Valiulina I. R. (Kazan), Kokareva T. S., Chastoedova A. N. (Kirov), Popov D. A., Rog A. A., Polikarpova S. V. (Moscow), Gordinskaya N. A., Nekaeva E. S., Abramova N. V. (Nizhniy Novgorod), Domanskaya O. V., Zemlyanskaya O. A., Goryunova L. A. (Novokuznetsk), Skalsky S. V., Elokina E. V., Popova L. D. (Omsk), Bozhkova S. A., Gomon Yu. M. (Saint-Petersburg), Kretchikova O. I., Mishenko V. M., Ratchina S. A. (Smolensk), Strezh Yu. A., Gudkova K. V., Kolosova I. P., Vunukainen T. M. (Tomsk), Ortenberg E. A., Khokhlyavina R. M. (Tyumen), Portnyagina U. S., Shamaeva S. H., Matveev A. S. (Yakutsk), Palyutin S. H., Vlasova A. V., Ershova M. G. (Yaroslavl), Lebedeva M. S., Feoktistova L. V. (Novosibirsk), Gordeeva S. A., Dolinina V. V., Chernyavskaya Yu. L. (Murmansk), Bagin V. A., Rozanova S. M., Perevalova E. Yu. (Ekaterinburg)



**Рис. 1.** Распределение нозокомиальных изолятов *Staphylococcus aureus* в зависимости от локализации инфекции, %

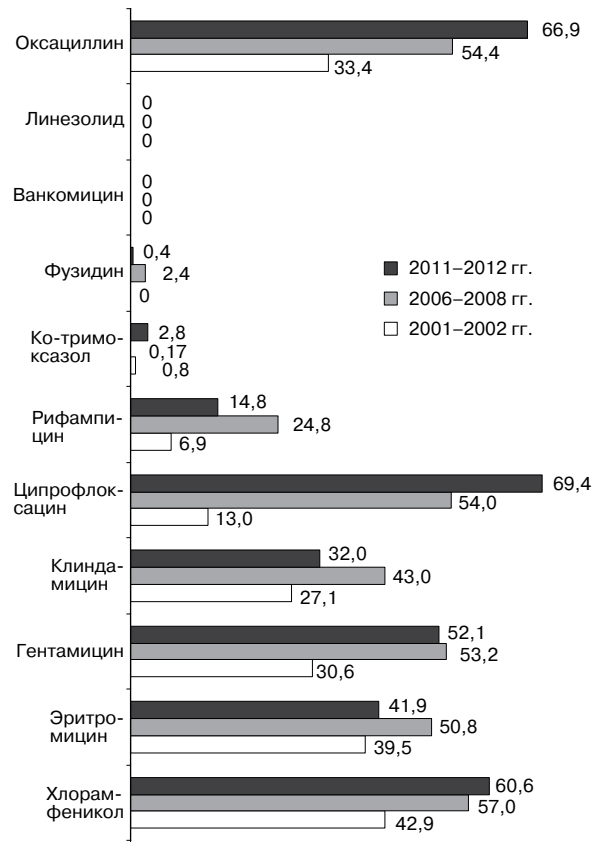
**Видовая идентификация и хранение изолятов.**

Все исследованные изоляты были идентифицированы методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции/ионизации – времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) с использованием системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper v.3.0 (Bruker Daltonics, Германия). Изоляты хранили в низкотемпературном холодильнике при температуре –70 °С в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 30% глицерина.

**Определение чувствительности к антибактериальным препаратам.** Определение чувствительности ко всем антибактериальным препаратам, кроме тигециклина, проводили методом двукратных серийных разведений в агаре Мюллера–Хинтон (Oxoid, Великобритания) [9,10], а к тигециклину – методом двукратных разведений в бульоне Мюллера–Хинтон (Oxoid, Великобритания), в соответствии с требованиями Европейского комитета по определению чувствительности к антибактериальным препаратам (EUCAST, www.eucast.org) и стандартов ISO 20776–1:2006 / ГОСТ Р ИСО 20776–1–2010 [11, 12]. Категории чувствительности изолятов к антибактериальным препаратам определяли на основании пограничных значений минимальных подавляющих концентраций (МПК), установленных EUCAST [13]. Для контроля качества определения чувствительности использовали штамм *Staphylococcus aureus* ATCC®29213.

**Результаты исследований**

Результаты определения чувствительности (распределение МПК, МПК<sub>50</sub>, МПК<sub>90</sub>, % штаммов по категориям чувствительности) всех протестированных штаммов *S. aureus*, метициллинорези-



**Рис. 2.** Нечувствительность (P+УР) нозокомиальных изолятов *S. aureus* к антибактериальным препаратам\* в России по данным многоцентровых исследований НИИИХ/МАКМАХ, %.

\* данные по чувствительности к даптомицину, тигециклину и цефтаролину не приведены ввиду того, что активность этих препаратов в исследованиях 2001–2002 гг. и 2006–2008 гг. не определялась.

стентных штаммов и метициллиночувствительных штаммов представлены в табл. 1–3.

В отношении общей популяции включённых в исследование штаммов (табл. 1) из протестированных антибиотиков наибольшей активностью обладали гликопептиды (ванкомицин) и оксазолидиноны (линезолид), к которым были чувствительны все исследованные штаммы. Также высокую активность продемонстрировали даптомицин, фузидин, мупироцин, ко-тримоксазол и тигециклин: чувствительными к первым трём препаратам были 99,6%, к ко-тримоксазолу – 97,2%, к тигециклину – 95% штаммов. Остальные протестированные антибиотики проявляли низкую или умеренную активность в отношении 30,6% штаммов (ципрофлоксацин) и 85,2% (рифампицин) (см. табл. 1).

Из 284 включённых в исследование штаммов 190 (66,9%) являлись метициллинорезистентными (MRSA), 94 (33,1%) – метициллиночувствительными (MSSA).

Таблица 1. Результаты определения чувствительности к антибактериальным препаратам нозокомиальных изолятов *Staphylococcus aureus* (n=284)

Антибиотики	% штаммов микроорганизмов с указанием значения МПК, мг/л													% штаммов по категориям <sup>1</sup>			МПК, мг/л				
	0,015	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	УР	Р	МПК <sub>50</sub>	МПК <sub>90</sub>
Ванкомицин				10,2	22,9	62,3	4,6										100			1	1
Гентамицин			0,4	5,3	40,5	1,8				0,4	3,2	22,5	13,0	13,0			47,9	52,1		32	≥256
Даптомицин				34,6	65,0	0,4											99,6	0,4		1	1
Клиндамицин		7,7	57,0	3,2		0,4								0,7	31,0		68,0	32,0		0,125	≥512
Линезолид				3,9	2,1	29,9	48,9	15,1									100			2	4
Линкомицин <sup>2</sup>				0,7	1,4	53,9	4,2	2,1	0,4	0,7	2,1	1,4	0,7	0,4	32,0		99,6	0,4		0,25	0,5
Мулироцин			31,0	29,2	38,0	1,4	0,4										33,1	66,9		64	≥256
Оксациллин			2,1	6,0	19,4	4,9	0,7		0,7	2,1	11,6	13,7	7,4	31,3			85,2	14,8		0,015	2
Рифампицин	81,7	3,5				1,1	4,6	0,7									61,6	2,1		8	64
Сульфаметоксазол <sup>2</sup>				18,0	32,7	10,9	2,1								2,8		95,0	5,0		0,5	1
Тетрациклин			20,6	57,4	17,0	4,6	0,4			0,7	7,4	23,9	2,8	1,4			97,2	1,1		0,5	64
Тигециклин								25,4	34,5	19,7	9,2	3,2	5,3				95,0	5,0		0,5	1
Триметоприм <sup>2</sup>			1,1	4,6	19,4	60,2	10,9	1,1		0,4	0,4	0,7	1,4				97,2	1,1		0,50	1
Триметоприм/сульфаметоксазол			82,0	8,5	4,9	1,1		0,7	1,1	0,7		0,4	0,7				99,6	0,4		0,06	0,125
Фузидин	6,3	50,4	25,4	16,9	0,4	0,4	0,4										39,4	60,6		64	128
Хлорамфеникол			0,4	1,4	26,4	9,9	33,8	26,8	1,4								71,8	28,2		1	2
Цефтаролин				2,1	16,9	11,6	2,1	1,1	1,1	4,9	31,0	20,4	7,7	1,1			30,6	69,4		32	64,
Ципрофлоксацин				31,7	21,8	0,4	4,2	1,1	2,5	1,1	7,0	0,4	1,1	2,8	24,6		58,1	40,8		0,25	≥512
Эритромицин																					

Примечание. Здесь и в табл. 2, 3:

<sup>1</sup> Ч – чувствительность, УР – умеренная резистентность, Р – резистентность.

<sup>2</sup> Пограничные значения МПК не установлены EUCAST и CLSI.

Таблица 2. Результаты определения чувствительности к антибактериальным препаратам нозокомиальных изолятов MRSA (n=190)

Антибиотики	% штаммов микроорганизмов с указанием значения МПК, мг/л																% штаммов по категориям <sup>1</sup>			МПК, мг/л	
	0,015	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	УР	Р	МПК <sub>30</sub>	МПК <sub>90</sub>
Ванкомицин				7,4	21,6	64,2	6,8										100			1	1
Гентамицин			0,5	1,6	22,1	0,5			0,5	3,7	3z2,1	19,5	19,5				24,7		75,3	64	256
Даптомицин				24,1	75,4	0,5											99,5		0,5	1	1
Клиндамицин		7,9	41,6	4,2			0,5					1,1	44,7				53,7		46,3	0,25	512
Линезолид				3,2	3,2	31,1	46,3	16,3									100			2	4
Линкомицин <sup>2</sup>				0,5	1,1	36,8	5,8	3,2	0,5	1,1	2,6	3(1,6	1,1	45,8			99,5	0,5		32	512
Мушироцин			27,4	28,9	41,1	2,1	0,5													0,25	0,5
Оксациллин	75,8	3,2				1,6	6,8	1,1	1,1	3,2	17,4	20,5	11,1	46,8			78,9		100	128	256
Рифампицин											0,5	0,5	0,5	10,0						0,015	128
Сульфаметоксазол <sup>2</sup>								21,6	37,4	17,9	8,9	4,2	6,3	3,7						8	64
Тетрациклин				16,8	25,3	4,7	3,2										46,8	3,2	50,0	2	64
Тигециклин			19,0	50,8	23,3	6,3	0,5					33,2	4,2	2,1			93,2		6,8	0,5	1
Триметоприм <sup>2</sup>		1,1	4,7	23,2	58,4	7,4	1,1			0,5	0,5	1,1	2,1				95,8		4,2	0,5	1
Триметоприм/сульфаметоксазол		77,9	7,9	7,4	1,6		1,1	1,6	1,1	1,1		0,5	1,1				95,8	1,6	2,6	0,06	0,25
Фузидин	5,8	62,6	18,4	12,1		0,5	0,5										99,5		0,5	0	0,25
Хлорамфеникол				1,6	5,8	50,5	40,0	2,1									16,8		83,2	64	128
Цефтаролин								7,9	7,9	3,7	2,6	57,9	17,4	1,6			57,9		42,1	1	2
Ципрофлоксацин						1,6	0,5		1,1	7,4	46,3	30,5	11,6	1,1			1,6		98,4	32	128
Эритромицин			21,1	15,8		5,8	1,6	3,7	1,6	1,6	8,9	1,6	4,2	34,2			42,6	1,6	55,8	16	512



Таблица 3. Результаты определения чувствительности к антибактериальным препаратам нозокомиальных изолятов MSSA (n=94)

Антибиотики	% штаммов микроорганизмов с указанием значения МПК, мг/л												% штаммов по категориям <sup>1</sup>			МПК, мг/л					
	0,015	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	Ч	УР	Р	МПК <sub>50</sub>	МПК <sub>90</sub>
Ванкомицин				16,0	25,5	58,5											100			1	1
Гентамицин				12,8	77,7	4,3					2,1	3,2					94,7	5,3		0,5	0,5
Даптомицин				55,9	44,1												100			0,5	1
Клиндамицин		7,4	88,3	1,1											3,2		96,8	3,2		0,125	0,125
Линезолид				5,3		27,7	54,3	12,8									100			2	4
Линкомицин <sup>2</sup>				1,1	2,1	88,3	1,1				1,1	1,1			4,3		100			1	1
Мунироцин				38,3	29,8	31,9											100			0,25	0,5
Оксациллин				6,4	18,1	58,5	14,9	2,1									100			0,5	1
Рифампицин	93,6	4,3												2,1			97,9	2,1		0,015	0,015
Сульфаметоксазол <sup>2</sup>								33,0	28,7	23,4	9,6	1,1	3,2		1,1				8	32	
Тетрациклин				20,2	47,9	23,4				11,1	2,1	5,3					91,5	8,5		0,5	1
Тигециклин				23,7	71,0	4,3	1,1										98,9	1,1		0,5	0,5
Триметоприм <sup>2</sup>			1,1	4,3	11,7	63,8	18,1	1,1									100			0,5	1
Триметоприм/сульфаметоксазол			90,4	9,6													100			0,06	0,06
Фузидин	7,4	25,5	39,4	26,6	1,1												100			0,125	0,25
Хлорамфеникол								51,1	34,0	4,3	3,2	6,4	1,1				85,1	14,9		4	32
Цефтаролин		1,1	4,3	76,6	18,1												100			0,25	0,5
Ципрофлоксацин				6,4	51,1	31,9	5,3	3,2	1,1					1,1			89,4	10,6		0,5	2
Эритромицин				53,2	34,0	1,1	1,1			1,1	3,2	1,1			5,3		89,4	10,6		0,125	16

MRSA (см. табл. 2) отличались существенно более низкой чувствительностью по сравнению с MSSA к следующим антимикробным препаратам: гентамицину (24,7% vs 94,7%), клиндамицину (53,7 vs 96,8%), рифампицину (78,9% vs 97,9%), тетрациклину (46,8% vs 91,5%), хлорамфениколу (16,8% vs 85,1%), цефтаролину (57,9% vs 100%), ципрофлоксацину (1,6% vs 89,4%), эритромицину (42,6% vs 89,4%).

**Заключение**

Несмотря на то что по результатам проведённого исследования, роль *S. aureus* в этиологии нозокомиальных инфекций в РФ несколько снизилась по сравнению с 2006–2008 гг. (с 19,5 до 16,7%), проблема устойчивости данного возбудителя к антимикробным препаратам с течением времени наоборот возросла (рис. 2). Так, доля MRSA, составлявшая 33,4% в 2001–2002 гг. и 55,4% в 2006–2008 гг, в 2011–2012 гг. достигла 66,9%. Еще одной группой препаратов, к которой наиболее существенно возросла устойчивость, являются фторхинолоны. Так, если в 2001–2002 гг. и 2006–2008 гг. частота нечувствительных к ципрофлоксацину штаммов составляла 13 и 54% соответственно, то в 2011–2012 гг. эта цифра достигла 69,4%, причём почти все штаммы MRSA (98,4%) были устойчивы к данному препарату.

Несколько антимикробных препаратов, таких как ванкомицин, даптомицин, линезолид, ко-тримоксазол, фузидин, тигециклин, сохраняют высокую активность, в том числе в отношении MRSA. Тем не менее, отмечено появление устойчивых штаммов к перечисленным антибиотикам, кроме линезо-

лида и ванкомицина. Возможность приобретения устойчивости к линезолиду описана в литературе, а в проведенном исследовании для 6,8% штаммов MRSA МПК ванкомицина составила 2 мг/л.

Несмотря на то, что формально к новому анти-MRSA-цефалоспориному цефтаролину было чувствительно только 57,9% штаммов MRSA, распределение МПК данного препарата носило мономодальный характер, а максимальное значение его МПК составляло 4 мг/л. При этом число штаммов с такой величиной МПК составило всего 2,1%.

### Литература

1. Kozlov R., Edelstain M., Kretchikova O., Ivanchik N., Sukhorukova M., Dekhnich A. Etiology of nosocomial bacterial infections in Russia. Proceedings of the 48<sup>th</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 2008 Oct 25–28; Washington, DC, USA. Abstract K-4108.
2. Дехнич А.В., Эйдельштейн И.А., Нарезкина А.Д. и соавт. Эпидемиология антибиотикорезистентности нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в России: результаты многоцентрового исследования. Клин микроб и антимикроб химиотер 2002; 4:325-36.
3. Dekhnich A.V., Ryabkova E.L., Kretchikova O.I., Sukhorukova M.V., Stratchounski L.S. Antimicrobial Resistance of Nosocomial Strains of *Staphylococcus aureus* in Russian ICUs: Results of Multicenter Study. Proceedings of the 46<sup>th</sup> Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy; 2006 Sep 27-30; San Francisco, CA, USA. Abstract K-794.
4. Дехнич А.В., Никулин А.А., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И., Сухорукова М.В., Козлов Р.С., исследовательская группа РОСНЕТ. Эпидемиология резистентности штаммов *S. aureus*, выделенных от пациентов в ОРИТ российских стационаров: результаты многоцентрового исследования. Клин микробиол антимикроб химиотер 2008; 10(4):333-44.
5. Dekhnich A., Nikulin A., Ivanchik N., Kretchikova O., Kozlov R. Susceptibility of *Staphylococcus aureus* nosocomial isolates in Russia: five-year trends. Proceedings of the 19th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases; 2009 May 16-19; Helsinki, Finland. Abstract P1076.
6. Dabul A.N., Camargo I.L. Molecular characterization of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* resistant to tigecycline and daptomycin isolated in a hospital in Brazil. Epidemiol Infect 2014; 142(3):479-83.
7. Tian Y., Li T., Zhu Y., Wang B., Zou X., Li M. Mechanisms of linezolid resistance in staphylococci and enterococci isolated from two teaching hospitals in Shanghai, China. BMC Microbiol 2014; 14(1):292.
8. Mishra N.N., Bayer A.S., Weidenmaier C., et al. Phenotypic and genotypic characterization of daptomycin-resistant methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* strains: relative roles of *mprF* and *dlt* operons. PLoS One 2014; 9(9):e107426.
9. Wiegand I, Hilpert K, Hancock RE. Agar and broth dilution methods to determine the minimal inhibitory concentration (MIC) of antimicrobial substances. Nat Protoc 2008; 3(2):163-75.
10. Andrews J.M. Determination of minimum inhibitory concentrations. J Antimicrob Chemother 2001 48(S1):5-16.
11. 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.
12. 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.
13. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 4.0 2014 ([http://www.eucast.org/clinical\\_breakpoints/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/)).

## Оценка распространенности «классических» механизмов устойчивости к фторхинолонам у *Chlamydia trachomatis*, связанных с мутациями в генах топоизомераз

И.А. Эйдельштейн<sup>1</sup>, М.В. Эйдельштейн<sup>1</sup>, Е.В. Шипицына<sup>2</sup>,  
Т.А. Хуснутдинова<sup>2</sup>, А.М. Савичева<sup>2</sup>, Р.С. Козлов<sup>1</sup>

<sup>1</sup> НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО СГМА Минздрава России, Смоленск, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ «НИИ акушерства и гинекологии имени Д. О. Отта» СЗО РАМН, Санкт-Петербург, Россия

До настоящего времени мутационная устойчивость *C. trachomatis* к фторхинолонам (ФХ), которые используются, наряду с макролидами и тетрациклинами, для лечения хламидийных инфекций, не была описана в клинической практике. Возможность селекции мутаций резистентности к ФХ (преимущественно в участке QRDR *gyrA*) была продемонстрирована исключительно в экспериментах *in vitro*. В России ФХ широко используются и доступны в аптечной сети без рецепта, что потенциально оказывает селективное давление на развитие устойчивости к ним у различных видов возбудителей, включая возбудителей инфекций, передающихся половым путем. С помощью ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ) 1572 клинических образца, полученных от пациентов с инфекциями урогенитального тракта, содержащих ДНК *C. trachomatis*, а также 200 отрицательных клинических образцов (контроль специфичности)

были исследованы на наличие любых мутаций в QRDR участках генов-мишеней: *gyrA* и *parC* *C. trachomatis*, способных вызывать снижение чувствительности к ФХ. В единственном образце анализ с использованием ПЦР-РВ и последующего секвенирования выявил наличие однонуклеотидной транзиции А/Г в области связывания ПЦР-зонда, которая соответствует аминокислотной замене Ser-83/Gly в QRDR *GyrA*. Таким образом, впервые выявлено наличие типичной мутации устойчивости к ФХ в QRDR *gyrA* в клиническом штамме *C. trachomatis*. Проведенное исследование показывает, что «классические» механизмы резистентности к ФХ встречаются крайне редко в популяции клинических штаммов *C. trachomatis*.

**Ключевые слова:** *Chlamydia trachomatis*, фторхинолоны, топоизомеразы, QRDR, *GyrA*, мутации.

### Evaluation of Prevalence of Classical Fluoroquinolone Resistance Mechanisms in *Chlamydia trachomatis* Due to Mutations in the Topoisomerase Genes

I.A. Edelstein<sup>1</sup>, M.V. Edelstein<sup>1</sup>, E.V. Shipitsyna<sup>2</sup>, T.A. Khusnutdinova<sup>2</sup>, A.M. Savicheva<sup>2</sup>, R.S. Kozlov<sup>1</sup>

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

<sup>2</sup> D. O. Ott Research Institute of Obstetrics and Gynecology, St. Petersburg, Russia

Until now, mutational resistance to fluoroquinolones (FQs) that represent a second-line treatment option for chlamydial infections after macrolides and tetracyclines

has not been described in clinical isolates of *C. trachomatis*. However, a possibility of selection of FQ resistance via mutations in the primary target gene, *gyrA*, has been demonstrated *in vitro* with *C. trachomatis* strains. In Russia, FQs are used widely and available over-the-counter thus potentially exerting significant selective pressure

Контактный адрес:

Инна Александровна Эйдельштейн

Эл. почта: ie@antibiotic.ru

for resistance development in STI pathogens. This study aimed to assess the presence of any FQ resistance mutations in *quinolone resistance determining regions* (QRDRs) of the *C. trachomatis gyrA* and *parC* genes directly in clinical samples using a newly developed real-time PCR assay. A total of 1572 *C. trachomatis*-positive clinical samples, obtained from patients with various urogenital tract infections, and 200 negative samples (used for control of assay specificity) were screened. A single sample revealed the presence of an A/G nucleotide transition in the PCR probe binding site corresponding to the

Ser-83/Gly amino acid substitution of in the GyrA QRDR which was confirmed by re-amplification and direct DNA sequencing. We, therefore, report for the first time the identification of a typical FQ resistance mutation in the *C. trachomatis gyrA* gene from a clinical sample. Results of our study, however, demonstrate that the «classical» resistance mechanisms to FQ are rare in the studied population of *C. trachomatis*.

**Key words:** fluoroquinolones, QRDR, *Chlamydia trachomatis*, mutation, topoisomerase, GyrA.

## Введение

Облигатный внутриклеточный микроорганизм *Chlamydia trachomatis* в настоящее время рассматривается как самый распространенный бактериальный возбудитель заболеваний, передающихся половым путем.

Внутриклеточный цикл развития хламидий предполагает использование для терапии антибиотиков, способных накапливаться в клетках и препятствовать размножению возбудителя. Данными свойствами обладают тетрациклины, макролиды, азалиды и фторхинолоны (ФХ).

Азалиды (азитромицин) и тетрациклины (доксциклин) являются антибиотиками выбора при лечении заболеваний, вызванных *C. trachomatis*. Известно, что фторхинолоны также демонстрируют высокую антихламидийную активность *in vitro* и рассматриваются как альтернативные препараты для терапии хламидийной инфекции, преимущественно в сочетании с гонококковой. ФХ являются одними из наиболее широко используемых в России антимикробных препаратов (40% от общего количества антибиотиков), особенно в урологической практике. Широкое применение ФХ, тем самым, создает условия селективного давления на патогенные микроорганизмы и может способствовать отбору штаммов с приобретенной устойчивостью.

До настоящего времени проблема развития антибиотикорезистентности у хламидий изучена недостаточно хорошо, исключая случаи описательного характера и публикации, указывающие на возможное отсутствие эффекта терапии у пациентов с хламидийной инфекцией [1]. В отдельных работах эффект множественной резистентности выделенных штаммов связывают с фенотипической (гетеротипической) резистентностью, но не с генетической (мутационной), поскольку молекулярные мишени для разных групп антимикробных препаратов различны. До настоящего времени, однако, случаи выделения клинических изолятов *C. trachomatis*, проявляющих стабильный фенотип резистентности

вследствие наличия известных генетических механизмов, описаны не были.

Вместе с тем, была продемонстрирована возможность *in vitro* селекции мутаций устойчивости к моксифлоксацину и ципрофлоксацину у штаммов *C. trachomatis* LGV2 при их последовательном культивировании на среде с возрастающей концентрацией антибиотика [2].

В России изучению проблемы антибиотикорезистентности *C. trachomatis* посвящен ряд работ, включая исследования *in vitro* чувствительности к ФХ клинических изолятов (выделенных у пациентов при неэффективной антибактериальной терапии), с использованием культурального метода [3–6]. В этих работах также предпринята попытка анализа молекулярно-генетических механизмов устойчивости изолятов со сниженной чувствительностью к ФХ путем прямого секвенирования генов мишени ФХ (*gyrA* и *parC*). Однако в ходе данного анализа были выявлены лишь мутации, приводящие к аминокислотным заменам вне участков связывания ФХ (quinolone resistance determining regions, QRDRs), что позволяет сделать вывод о возможном наличии у хламидий альтернативных механизмов устойчивости к данным антибиотикам [3, 4, 7].

Выделение *C. trachomatis* в культуре клеток является трудоемким и длительным процессом, а изучение антибиотикочувствительности осложняется отсутствием стандартизированной методики и критериев интерпретации данных, а также понимания взаимосвязи между результатами, полученными *in vitro*, и клиническим исходом терапии [8, 9, 10]. Многочисленные исследования показывают, что данные оценки уровня устойчивости к антихламидийным препаратам, полученные при использовании различных вариантов методов культивирования, могут существенно отличаться [11].

В последние годы интенсивно разрабатываются молекулярные методы для выявления генетических детерминант резистентности у микроорганизмов. Мутации в генах, приводящие к модификации

мишени связывания с антибиотиком, описаны для различных групп препаратов. Основой формирования резистентности к ФХ у грамотрицательных бактерий являются аминокислотные замены в QRDR участках каталитических субъединиц ДНК-гиразы (*GyrA*, участок между аминокислотными остатками 67 и 106, обычно в позициях 83 и 87) и топоизомеразы IV (*ParC*, позиции 80 и 84), приводящие к снижению их аффинности к хинолонам.

Для определения мутаций устойчивости к фторхинолонам в QRDR генов-мишеней (*gyrA* и *parC*) у *C. trachomatis* нами была разработана методика на основе ПЦР в режиме реального времени (ПЦР-РВ), которая может быть использована как скрининговый подход для мониторинга возможных механизмов резистентности к фторхинолонам.

Целью данного исследования явилось выявление мутаций устойчивости к фторхинолонам в QRDR генов-мишеней (*gyrA* и *parC*) *C. trachomatis*.

**Материал и методы**

**Клинические образцы.** В исследование было включено 1572 клинических образца (соскобы из цервикального канала женщин и уретры мужчин), полученных в 2009–2011 гг., от пациентов с инфекциями урогенитального тракта различной локализации. Материал был получен из лаборатории микробиологии ФГБУ «НИИ акушерства и гинекологии им. Д. О. Отта» СЗО РАМН (Санкт-Петербург) и лаборатории НИИ антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России (Смоленск), где осуществлялся предварительный скрининг образцов на наличие ДНК *C. trachomatis* с использованием коммерческой тест-системы «АмплиСенс® *Chlamydia trachomatis*-FL» (ООО

«ИнтерЛабСервис», Россия) на основе технологии ПЦР-РВ. Выделение ДНК проводили сорбционным методом с применением набора «ДНК-сорб-АМ» (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия). Очищенную ДНК хранили при –70 °С до момента анализа.

**ПЦР-РВ для анализа мутаций в QRDR *gyrA* и *parC*.** Наличие мутаций в QRDR генов *gyrA* и *parC* определяли с помощью метода ПЦР-РВ с эффектом гашения флуоресценции зонда праймером [12]. Дизайн флуоресцентномеченных зондов (таблица) обеспечивал возможность выявления последовательностей ДНК *C. trachomatis* «дикого типа» и любых мутаций в участках, соответствующих кодомам 81–87 *gyrA* и 80–85 *parC* (нумерация *Escherichia coli*), путем анализа кривых плавления зондов непосредственно после проведения амплификации.

Состав ПЦР смеси общим объемом 25 мкл включал: олигонуклеотидные праймеры и зонды (ЗАО «Синтол», Россия) в концентрации, указанной в таблице; 0,2 мМ дНТФ; 2 мМ MgCl<sub>2</sub>; 2,5 ед. TaqF ДНК-полимеразы; 1х ПЦР буфер (ООО «ИнтерЛабСервис», Россия) и 3 мкл образца ДНК.

Амплификацию и анализ кривых плавления зондов проводили с помощью системы Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) согласно следующему протоколу: начальная инкубация 15 мин. при 95 °С; денатурация 1 мин. при 95 °С; затем 55 циклов денатурации 15 с при 95 °С и 15 с отжига-элонгации при 58 °С с детекцией флуоресценции на каналах FAM и JOE (R6G); анализ кривых плавления с начальной инкубацией в течение 3 мин. при 45 °С и последующим повышением температуры на 1 °С каждые 10 с до 85 °С с детекцией флуоресценции на каналах FAM и JOE (R6G).

**Олигонуклеотидные праймеры и зонды для выявления и характеристики мутаций в QRDR генов *gyrA* и *parC***

Праймер / зонд	Последовательность, 3'-5'*	Концентрация, мкМ
ПЦР-РВ		
CTR_ <i>gyrA</i> _ Rpm	ATCCTGTGCCAGCCTTACTAAAAGT	0,2
CTR_ <i>gyrA</i> _ Fpm	ATACTTCCGGAGATTA (T-BHQ1) CACCC	0,8
CTR_ <i>gyrA</i> _ Pb	AAAGTAGGATAAATGACACTTCTCC-R6G	0,2
CTR_ <i>parC</i> _ Rpm	TTTATTTGCCAAAACGACAAGA	0,2
CTR_ <i>parC</i> _ Fpm	GCTGCACCTGCATGG (T-BHQ1) GAT	0,8
CTR_ <i>parC</i> _ Pb	AGCTTCCACGATAGGCGC-FAM	0,2
ПЦР и секвенирование		
CTR_ <i>gyrA</i> _ SeqF	ATTAAAACCTTCTCAGCGACG	0,2
CTR_ <i>gyrA</i> _ SeqR	GTTTCATCGTAGTTAGGGACCA	0,2

**Примечание.** \* FAM — карбоксифлуоресцеин, R6G — 6-карбоксиродамин, BHQ1 — темновой гаситель флуоресценции 1 (black hole quencher 1)

Идентификацию последовательностей «дикого типа» и мутаций в QRDR *gyrA* и *parC* проводили в соответствии с температурой плавления зондов. В качестве контрольной ДНК использовали препарат, выделенный из *C. trachomatis* (серовар L2) с последовательностями QRDR *gyrA* и *parC* «дикого типа».

**Секвенирование QRDR *gyrA* *C. trachomatis*.** При выявлении с помощью ПЦП-РВ отличной от контрольного образца температуры плавления зонда, свидетельствующей о наличии мутаций в области кодонов 81–87 *gyrA*, внутренний фрагмент *gyrA* длиной 336 п. н., включающий всю область QRDR, исследовали путем дополнительной амплификации и секвенирования с внешними праймерами (см. таблицу). Секвенирование проводили с помощью наборов BigDye® Terminator v3.1 Cycle Sequencing Kit и генетического анализатора ABI Prism® 310 (Applied Biosystems, США).

### Результаты исследования и обсуждение

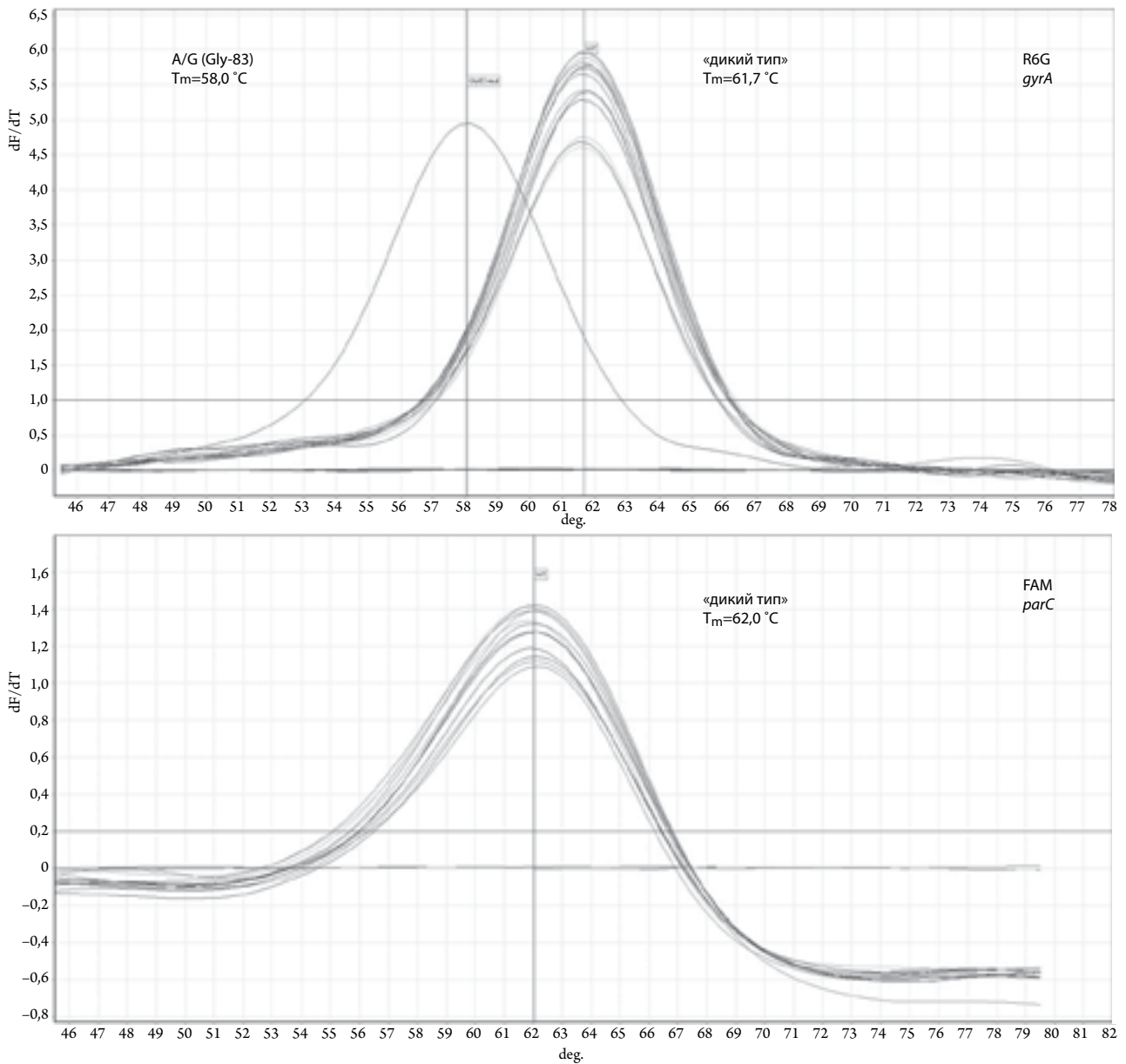
**Дизайн ПЦП-РВ для детекции мутаций в QRDR *gyrA* и *parC* *C. trachomatis*.** Используемая в данном исследовании технология ПЦП-РВ обеспечивает возможность выявления различных (как известных, так и неизвестных) мутаций в области связывания олигонуклеотидных зондов и основана на эффекте переноса энергии флуоресценции между зондом и одним из праймеров [12]. При этом для амплификации каждого из целевых участков нуклеотидных последовательностей QRDR *gyrA* и *parC* *C. trachomatis* были разработаны соответствующие пары праймеров, в которых один из олигонуклеотидов служит для образования цепи ДНК, комплементарной зонду, и содержит внутренний нефлуоресцирующий (темновой) гаситель флуоресценции (BHQ), а для детекции целевых нуклеотидных последовательностей, находящихся между участками связывания праймеров, использованы 3'-флуоресцентномеченные зонды, участки связывания которых совпадают с областями QRDR и находятся на расстоянии нескольких нуклеотидов от 3'-концов соответствующих праймеров, несущих гасители флуоресценции. Таким образом, связывание зондов с цепями ДНК, образованными в результате элонгации праймеров, приводит к сближению флуорофора и гасителя на расстояние, достаточное для эффективного гашения флуоресценции за счет резонансного переноса энергии флуоресценции (FRET) или образования стабильных комплексов между флуорофором и гасителем (статическое или контактное гашение). В соответствии с описанным выше дизайном, мутации в участках QRDR *gyrA* и *parC* могут быть выявлены

с помощью постаплификационного анализа кривых плавления зондов: образцы, несущие мутации в области связывания зонда, характеризуются сниженной аффинностью и соответственно меньшей температурой плавления ( $T_m$ ) зонда.

**Скрининг клинических образцов на наличие мутаций в QRDR *gyrA* и *parC*.** В исследование было включено 1572 клинических образца, положительных на наличие ДНК *C. trachomatis* по результатам первичного скрининга с использованием коммерческой тест-системы «АмплиСенс® *Chlamydia trachomatis*-FL» и 200 отрицательных образцов (контроль специфичности). Все образцы были проанализированы на наличие мутаций в QRDR *gyrA* и *parC* с использованием описанной выше технологии. Пример анализа мутаций в QRDR *gyrA* и *parC* у *C. trachomatis* с помощью ПЦП-РВ и анализа кривых плавления зондов представлен на рис. 1. Специфические последовательности *gyrA* и *parC* у *C. trachomatis* были выявлены соответственно в 1566 и 1564 положительных образцах (относительная чувствительность 99,6 и 99,5%), но ни в одном из отрицательных образцов (специфичность 100%). При этом следует отметить высокую чувствительность выявления хромосомных локусов *gyrA* и *parC*, несмотря на их менее высокую копияность по сравнению с криптической плазмидой *C. trachomatis*, которая является мишенью коммерческих диагностических систем [13]. Скрининг не выявил значимых мутаций в QRDR *parC* ни в одном образце. Все образцы имели профиль плавления зонда CTR\_parC\_Pb, идентичный «дикому типу». Факт отсутствия мутаций в *parC* клинических штаммов *C. trachomatis* является в достаточной степени ожидаемым, поскольку топоизомераза IV является вторичной мишенью ФХ у всех грамотрицательных бактерий, и мутации в области QRDR *parC* встречаются реже по сравнению с QRDR *gyrA* у различных видов данной группы [14].

Во всех образцах, за исключением одного, были также обнаружены последовательности QRDR *gyrA* «дикого типа» в соответствии с профилем плавления зонда CTR\_gyrA\_Pb. Единственный образец продемонстрировал характерное снижение температуры плавления зонда ( $\Delta T_m = 3,7^\circ\text{C}$ ), свидетельствующее о наличии мутации в QRDR *gyrA* (см. рис. 1).

Последующий анализ с использованием секвенирования подтвердил наличие однонуклеотидной транзиции A/G в области связывания зонда, которая соответствует аминокислотной замене Ser-83/Gly в QRDR GyrA (рис. 2). Известно, что данная мутация приводит к нарушению связывания ФХ с ДНК-гиразой и, тем самым, к формированию



**Рис. 1.** Пример анализа QRDR *gyrA* и *parC* у *C. trachomatis* с помощью анализа кривых плавления зондов после проведения ПЦР-РВ.

устойчивости к препаратам данной группы у различных видов грамотрицательных бактерий. В частности, замены аминокислотного остатка в позиции 83 *GyrA*, включая Gly-83, широко распространены у ФХ-резистентных штаммов энтеробактерий (*Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Enterobacter* spp. и др.). Во многих исследованиях показана четкая корреляция между наличием замен в позициях 83 и 87 *GyrA* и повышенным уровнем устойчивости к ФХ [15, 16]. Более того, в исследовании S. Dessus-Babus, et al. [14] культивирование штаммов *C. trachomatis in vitro* в присутствии субингиби-

рующих концентраций офлоксацина и цiproфлоксацина приводило к селекции мутантов с аминокислотными заменами именно в позиции 83 *GyrA*, которые обуславливали повышение минимальных подавляющих концентраций ФХ в 256 и более раз. Таким образом, роль замены Ser-83/Gly в QRDR *GyrA* в формировании устойчивости *C. trachomatis* к ФХ является однозначно установленной.

**Заключение**

В ходе проведенного молекулярно-генетического скрининга большой коллекции урогенитальных

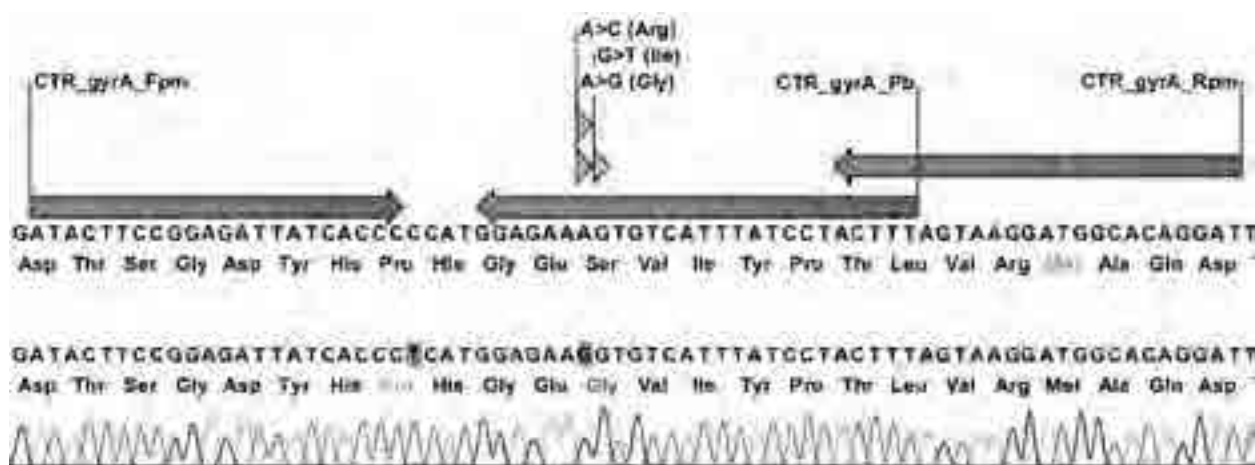


Рис. 2. Фрагмент нуклеотидной последовательности QRDR *gyrA* у *C. trachomatis* «дикого типа» (сверху) и соответствующей мутантной последовательности (внизу) с указанием позиций нуклеотидных замен, а также участков связывания праймеров и зонда (серые стрелки).

образцов, содержащих ДНК *C. trachomatis*, нами впервые выявлен случай наличия типичной мутации в QRDR *gyrA*, связанной со снижением чувствительности к ФХ. Таким образом, полученные данные свидетельствуют о возможности формирования «классических» механизмов устойчивости к ФХ у *C. trachomatis*, встречающихся у других видов грамотрицательных бактерий. Вместе с тем, следует отметить крайне низкую (<0,07%)

частоту встречаемости подобного механизма устойчивости в исследованной популяции штаммов *C. trachomatis* — возбудителей инфекций мочеполовой системы. Разработанный нами подход может быть использован для быстрого выявления мутаций и прогнозирования возможной устойчивости *C. trachomatis* к антибиотикам фторхинолонового ряда.

## Литература

- Somani J., Bhullar V.B., Workowski K.A., Farshy C.E., Black C.M. Multiple drug-resistant *Chlamydia trachomatis* associated with clinical treatment failure. *J Infect Dis* 2000; 181:1421-7.
- Morrissey I., Salman H., Bakker S., Farrell D., Bebear C.M., Ridgway G. Serial passage of *Chlamydia* spp. in sub-inhibitory fluoroquinolone concentrations. *J Antimicrob Chemother* 2002; 49:757-61.
- Лазарев В.Н., Говорун В.М., Савичева А.М. Анализ точечных мутаций в генах *ygeD*, *gyrA* и *parC* клинических изолятов *Chlamydia trachomatis*, устойчивых к фторхинолонам. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология 2004; (3):3-7.
- Мисюрин О.Ю. Молекулярно-генетические особенности клинических изолятов *Chlamydia trachomatis*, *in vitro* устойчивых к фторхинолонам или макролидам. Дисс. канд. биол. наук. Москва; 2002. 73.
- Шипицина Е.В., Савичева А.М., Хуснутдинова Т.А. Устойчивость *Chlamydia trachomatis* к антибиотикам *in vitro*: методологические аспекты и клиническое значение. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2004; 6(1):54-64.
- Shkarupeta M.M., Lazarev V.N., Akopian T.A., et al. Analysis of antibiotic resistance markers in *Chlamydia trachomatis* clinical isolates obtained after ineffective antibiotic therapy. *Bull Exp Biol Med* 2007; 143:713-7.
- Николаева О.Ю. Резистентность к терапии урогенитального хламидиоза: механизмы устойчивости к антибактериальным препаратам. Дисс. канд. биол. наук. Москва; 2004. 83 с.
- Holmes K., Sparling P., Stamm W., et al. Sexually Transmitted Diseases. 4-th ed. McGraw-Hill Medical; 2008.
- Lorian V., Ed. Antibiotics in laboratory medicine. 5-th ed. Williams & Willrins; Baltimore; 2005.
- Ridgway G.L., Bebear C., Bebear C.M., Felmingham D., et al. Sub-committee on susceptibility testing of intracellular and cell-associated pathogens of the European Committee for Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ESCMID). Antimicrobial susceptibility testing of intracellular and cell-associated pathogens. EUCAST discussion document E.Dis 6.1 March 2001. *Clin Microbiol Infect* 2001; 7 (12):1-10.
- Suchland R.J., Geisler W.M., Stamm W.E. Methodologies and cell lines used for antimicrobial susceptibility testing of *Chlamydia* spp. *Antimicrob Agents Chemother* 2003; 47 (2):636-42.



12. Эйдельштейн М.В., Алексеев Я.И., Романов А.В. и др. Способ детекции специфических нуклеотидных последовательностей и нуклеотидных замен с помощью ПЦР в режиме реального времени с эффектом гашения флуоресценции зонда праймером. Патент на изобретение № RU 2451086.
13. Lee S.H., Vigliotti V.S., Pappu S. DNA sequencing validation of *Chlamydia trachomatis* and *Neisseria gonorrhoeae* nucleic acid tests. *Am J Clin Pathol* 2008; 129:852-9.
14. Dessus-Babus S., Bebear C.M., Charron A., Bebear C., de Barbeyrac B. Sequencing of gyrase and topoisomerase IV quinolone-resistance-determining regions of *Chlamydia trachomatis* and characterization of quinolone-resistant mutants obtained *in vitro*. *Antimicrob Agents Chemother* 1998; 42:2474-81.
15. Nakata K., Maeda H., Fujii A., Arakawa S., Umezu K., Kamidono S. *In vitro* and *in vivo* activities of sparfloxacin, other quinolones, and tetracyclines against *Chlamydia trachomatis*. *Antimicrob Agents Chemother* 1992; 36:188-90.
16. Yoshida H., Bogaki M, Nakamura M, Yamanaka L.M., Nakamura S. Quinolone resistance-determining region in the DNA gyrase *gyrB* gene of *Escherichia coli*. *Antimicrob Agents Chemother* 1991; 35:1647-50.

## Потребление и затраты на системные антимикробные препараты в отделениях реанимации и интенсивной терапии многопрофильных стационаров Российской Федерации и Республики Беларусь: результаты многоцентрового фармакоэпидемиологического исследования

Ю. А. Белькова<sup>1</sup>, С. А. Рачина<sup>1</sup>, Р. С. Козлов<sup>1</sup>, В. М. Мищенко<sup>2</sup>, Р. А. Павлюков<sup>1</sup>, С. Н. Козлов<sup>1</sup>, А. И. Абубакирова<sup>3</sup>, Б. В. Бережанский<sup>4</sup>, Н. А. Зубарева<sup>5</sup>, И. А. Карпов<sup>6</sup>, Ш. Х. Палютин<sup>7</sup>, У. С. Портнягина<sup>8</sup>, Е. К. Самуйло<sup>9</sup>

<sup>1</sup> ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России, Смоленск, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ «Федеральный центр травматологии, ортопедии и эндопротезирования» Минздрава России, Смоленск, Россия

<sup>3</sup> ГБУЗ «Республиканская клиническая больница им. Г. Г. Куватова», Уфа, Россия

<sup>4</sup> ГБУЗ «Городская клиническая больница № 36 Департамента здравоохранения г. Москвы», Москва, Россия

<sup>5</sup> ГБОУ ВПО «Пермская государственная медицинская академия им. академика Е. А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия

<sup>6</sup> УО «Белорусский государственный медицинский университет», Минск, Республика Беларусь

<sup>7</sup> ГБОУ ВПО «Ярославская государственная медицинская академия» Минздрава России, Ярославль, Россия

<sup>8</sup> Медицинский институт ФГАОУ ВПО «Северо-Восточный Федеральный университет им. М. К. Аммосова», ГБУ РС (Я) «Республиканская больница № 2 — Центр экстренной медицинской помощи», Якутск, Россия

<sup>9</sup> ФГБУЗ «Центральная клиническая больница РАН», Москва, Россия

С целью проанализировать структуру потребления и затраты на *антимикробные препараты* (АМП) для системного применения в *отделениях реанимации и интенсивной терапии* (ОРИТ) многопрофильных стационаров различных регионов Российской Федерации и Республики Беларусь, в 2009–2010 гг. принят ретроспективный сбор информации на основании записей расходных накладных документов *лечебно-профилактических учреждений* (ЛПУ). Для оценки потребления использовалась АТС/DDD методология, результаты представлены в виде количества *DDD/100 койко-дней* (DBD).

Уровни потребления АМП в ОРИТ в 2009 и 2010 гг. составили в среднем 122,5 DBD и 133,8 DBD, средние затраты на закупку АМП для указанного отделения — 2,1 млн руб. и 2,4 млн руб., средняя стоимость 1 DDD — 444,1 и 459,8 руб.

соответственно. В структуре потребления преобладали антибактериальные препараты — J01 (97,6% в 2009 г. и 98,1% в 2010 г.), в первую очередь бета-лактамы антибиотики непенициллинового ряда — J01D, (62,8 и 56,4%), другие антибактериальные препараты — J01X, (12,4 и 13,6% соответственно), а также хинолоны — J01M, (12,4% в 2009 г.) и аминогликозиды — J01G, (10% в 2010 г.); в структуре затрат — антибактериальные препараты — J01 (97,9% в 2009 г. и 98,4% в 2010 г.), в первую очередь бета-лактамы антибиотики непенициллинового ряда — J01D (72,4 и 67,7%), другие антибактериальные препараты — J01X (13,9 и 8,5% соответственно), а также хинолоны — J01M (6,7% в 2009 г.) и аминогликозиды — J01G (7,7% в 2010 г.). Уровень потребления АМП, расцененных как нерациональные, был неоправданно высоким (12,2% в 2009 г. и 11,1% в 2010 г.), тогда как затраты на закупку средств данной категории оказались не столь значимыми (2 и 1,4% соответственно).

Контактный адрес:

Юлия Андреевна Белькова

Эл. почта: Yuliya.Belkova@antibiotic.ru

Полученные данные могут быть использованы с целью оптимизации закупок АМП для ОРИТ, а также создания грамотной стратегии использования АМП в указанных отделениях и оценки ее эффективности.

**Ключевые слова:** отделение реанимации и интенсивной терапии, ОРИТ, системные антимикробные препараты, потребление, затраты.

## Systemic Antimicrobials Consumption and Expenditures in Intensive Care Units of Hospitals in Russian Federation and Republic of Belarus: Results of Multicenter Pharmacoepidemiological Study

Y. A. Belkova<sup>1</sup>, S. A. Rachina<sup>1</sup>, R. S. Kozlov<sup>1</sup>, V. M. Mischenko<sup>2</sup>, R. A. Pavlukov<sup>1</sup>, S. N. Kozlov<sup>1</sup>, A. I. Abubakirova<sup>3</sup>, B. V. Berezanskiy<sup>4</sup>, N. A. Zubareva<sup>5</sup>, I. A. Karpov<sup>6</sup>, S. Kh. Palyutin<sup>7</sup>, U. S. Portnyagina<sup>8</sup>, E. K. Samuylo<sup>9</sup>

<sup>1</sup> Smolensk State Medical Academy, Smolensk, Russia

<sup>2</sup> Federal Centre of Traumatology, Orthopedics and Endoprosthesis Replacement, Smolensk, Russia

<sup>3</sup> Republic State Hospital named G. G. Kuvatov, Ufa, Russia

<sup>4</sup> City Clinical Hospital # 36, Moscow, Russia

<sup>5</sup> Perm State Medical Academy, Perm, Russia

<sup>6</sup> Belarusian State Medical University, Minsk, the Republic of Belarus

<sup>7</sup> Yaroslavl State Medical Academy, Yaroslavl, Russia

<sup>8</sup> Medical Institute of North-Eastern Federal University named after M. K. Ammosov,

Republican Hospital #2 — Centre for Emergency Medicine, Yakutsk, Russia

<sup>9</sup> RAS Central Clinical Hospital, Moscow, Russia

To assess systemic antimicrobials (AM) consumption and expenditures in intensive care units (ICU) of multi-profile hospitals in different regions of Russian Federation and Republic of Belarus in 2009–2010 retrospective collection of data from hospital expenditure notes was performed. AM consumption was calculated using ATC/DDD methodology and expressed in numbers of DDD/100 bed-days (DBD). Average AM consumption and expenditure rates in ICU in 2009 and 2010 were as follows: 122.5 DBD / 2.1 million rubles and 133.8 DBD / 2.4 million rubles; average cost of 1 DDD — 444.1 and 459.8 rubles, respectively. The highest consumption rates were for antibacterials for systemic use, J01 (97.6% in 2009 and 98.1% in 2010), such as non-penicillin beta-lactams, J01D (62.8% and 56.4%), other antibacterials, J01X, (12.4% and 13.6%, respectively), as well as quinolones,

J01M, (12.4% in 2009) and aminoglycoside antibacterials, J01G, (10% in 2010); the highest expenditure rates — for antibacterials for systemic use, J01 (97.9% in 2009 and 98.4% in 2010), such as non-penicillin beta-lactams, J01D, (72.4% and 67.7%), other antibacterials, J01X, (13.9% and 8.5%, respectively), as well as quinolones, J01M, (6.7% in 2009) and aminoglycoside antibacterials, J01G, (7.7% in 2010). Improper AM consumption rates were unreasonably high (12.2% in 2009 and 11.1% in 2010) whereas improper expenditure rates were relatively low (2% and 1.4%, respectively). Study outputs can be used for budget allocation and AM distribution improvement in ICU as well as for development and efficacy control of local antimicrobial stewardship programs.

**Key words:** intensive care unit, ICU, systemic antimicrobials, consumption, expenditures.

### Введение

Отделение реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) является особой зоной лечебно-профилактического учреждения (ЛПУ), где больные в тяжелом состоянии аккумулируются и пребывают на ограниченной площади в контакте друг с другом и медицинским персоналом [1]. Нередко больные поступают в данное отделение с уже развившейся инфекцией, как правило, носящей системный характер. Абсолютное большинство пациентов ОРИТ подвергаются инвазивным манипуляциям непо-

средственно перед поступлением (больные в раннем послеоперационном периоде) или во время пребывания в отделении (искусственная вентиляция легких, продолжительная катетеризация сосудов, мочевого пузыря и др.), что, наряду с наличием тяжелой сопутствующей патологии и сниженного иммунного статуса, способствует колонизации и инфицированию патогенными микроорганизмами изначально не инфицированных лиц [2].

По данным зарубежных источников, средняя частота развития нозокомиальных инфекций в ОРИТ варьирует от 25 до 49% [3, 4], что

примерно в 5 раз превышает таковую для других отделений стационара [5, 6]. В ходе многоцентрового исследования РИОРИТа, выполненного в 2008–2009 гг. и включавшего 62 центра в 29 городах Российской Федерации (РФ), доля пациентов с инфекциями в ОРИТ составила в среднем 34,1%, в отдельных случаях достигая 83,3%. При этом почти у половины пациентов (46,6%) инфекция развилась в госпитальных условиях, преимущественно — в ОРИТ (76,1%), и сопровождалась значимым повышением риска наступления летального исхода (в 2,4 раза) [7].

Все вышеуказанное обуславливает более высокую потребность пациентов ОРИТ в *антимикробной терапии* (АМТ), включая комбинированную и/или с использованием препаратов широкого спектра действия для эрадикации потенциальных возбудителей из числа полирезистентной нозокомиальной микрофлоры. По результатам проекта ESAC (European Surveillance of Antimicrobial Consumption), по оценке потребления *антимикробных препаратов* (АМП) в странах Европейского Союза (ЕС) доля пациентов ОРИТ, получавших системную АМТ, в том числе комбинированную и парентеральную, значительно превышала таковую в других отделениях (53% vs. 29%, 49% vs. 31% и 91% vs. 61% соответственно) [8]. Согласно отечественным данным, пациенты ОРИТ с диагнозом инфекционного заболевания получают в среднем по 2,14 АМП на курс лечения [7].

Широкое применение АМП и высокая частота колонизации нозокомиальными микроорганизмами в силу консолидации на относительно небольшой площади пациентов в тяжелом состоянии превращают ОРИТ в зону повышенного риска селекции и распространения антибиотикорезистентности. Ситуация усугубляется не всегда рациональным использованием системной АМТ [7].

Поскольку медицинские, социальные и экономические последствия нерационального применения АМП в ОРИТ являются тяжелыми и для пациента, и для общества, оценке и оптимизации практики использования указанных препаратов в отделении уделяется особое внимание. Во многих странах мира мониторинг потребления АМП в ОРИТ проводится на локальном, национальном и наднациональном уровнях [9–12], однако в России многоцентровых проектов, позволяющих получить информацию о состоянии проблемы на уровне страны, до сих пор не проводилось. В то же время, доступные результаты фармакоэпидемиологических исследований свидетельствуют о широком и не всегда рациональном использовании АМП в российских ЛПУ [7, 13, 14].

Целью нашего исследования являлся анализ структуры потребления и затрат на АМП для системного применения в ОРИТ многопрофильных стационаров различных регионов Российской Федерации и Республики Беларусь.

## Материал и методы

В рамках работы над проектом ОПТИМА-1 [14] на базе НИИАХ ГБОУ ВПО СГМА Минздрава России была разработана и внедрена on-line система непрерывного мониторинга потребления АМП и затрат на указанную группу лекарственных средств.

В текущей публикации представлены данные по оценке потребления системных АМП в ОРИТ, действующих на базе 6 ЛПУ в 5 городах РФ: Москве (центр 3 и 7, представленный двумя отделениями — 7/1 и 7/2), Ярославле (центр 4), Перми (центр 6), Уфе (центр 8) и Якутске (центр 11), а также 1 ЛПУ в Минске, Республика Беларусь (РБ) (центр 10). Период исследования охватывал два годичных интервала: с I по IV квартал 2009 г. и с I по IV квартал 2010 г., за исключением центра 4 (Ярославль), в котором сбор данных осуществлялся за период с IV квартала 2008 г. по III квартал 2009 г.).

Необходимо отметить, что, поскольку в 2010 г. в проект вошли данные лишь 3 центров, из которых только 2 предоставили информацию за 2009 г., а один являлся центром ЛПУ г. Минска, провести адекватный анализ тенденций потребления в динамике, равно как и судить о ситуации с потреблением системных АМП в масштабах РФ, в 2010 г. не представляется возможным. В связи с этим данные за 2010 г. приводятся в публикации преимущественно с ознакомительной целью.

Ниже представлена краткая характеристика ОРИТ исследовательских центров:

- центр 3 (Москва) — в проект включены данные за период с I по IV квартал 2009 г.; суммарное количество койко-дней в отделении за указанный период составило 2488; основной контингент — больные средней степени тяжести, перенесшие плановые хирургические вмешательства на органах брюшной полости и суставах (эндопротезирование);
- центр 4 (Ярославль) — в проект включены данные за период с IV квартала 2008 г. по III квартал 2009 г. и с I по IV квартал 2010 г.; суммарное количество койко-дней в отделении в 2008–2009 гг. — 3874, в 2010 г. — 3572; основной контингент — больные в тяжелом состоянии с травматическими повреждениями, в том числе черепно-мозговой травмой, политравмой и др.;
- центр 6 (Пермь) — в проект включены данные за период с I по IV квартал 2009 г. и с I по

IV квартал 2010 г.; суммарное количество койко-дней в отделении в 2009 г. — 3483, в 2010 г. — 3809; контингент — смешанный;

- центр 7 (Москва) — в проект включены данные за период с I по IV квартал 2009 г. для двух ОРИТ ЛПУ:

- отделение 1 — суммарное количество койко-дней в отделении за указанный период — 1620, основной контингент — больные терапевтического и неврологического профиля в тяжелом состоянии (острый коронарный синдром, сердечно-сосудистая недостаточность, инсульт, тромбоэмболия легочной артерии и др.);

- отделение 2 — суммарное количество койко-дней — 1096; контингент — больные хирургического профиля в раннем послеоперационном периоде, а также больные хирургического профиля в тяжелом состоянии, в том числе с инфекционными осложнениями;

- центр 8 (Уфа) — в проект включены данные за период с I по IV квартал 2009 г.; суммарное количество койко-дней — 3799; основной контингент — больные хирургического профиля (сосудистая, торакальная, абдоминальная, гнойная хирургия, урология и трансплантология);

- центр 10 (Минск) — в проект включены данные за период с I по IV квартал 2010 г.; суммарное количество койко-дней — 4563; контингент больных — смешанный (тяжелая пневмония, сепсис, осложнения цирроза печени, тяжелая сердечно-сосудистая патология и др.);

- центр 11 (Якутск) — в проект включены данные за период с I по IV квартал 2009 г.; суммарное количество койко-дней — 10935; контингент — больные терапевтического (тяжелая пневмония, отравление, инсульт, почечная недостаточность, цирроз печени, лейкоз и др.) и хирургического профиля (нейрохирургия, абдоминальная хирургия, травматические повреждения, в том числе черепно-мозговая травма, политравма и др.).

Сбор данных проводился ретроспективно 1 раз в квартал на основании записей расходных накладных ЛПУ. Методология анализа подробно описана в основной публикации, посвященной результатам данного проекта [14]. Для оценки потребления АМП использовалась последняя на тот момент Анатомо-терапевтическая химическая классификация (Anatomical Therapeutic Chemical classification, АТС) и DDD методология (2009–2010 гг.) [15]. В рамках нашей работы учету подвергались данные об обращении в ОРИТ системных АМП следующих АТС групп: J01 — антибактериальные препараты для системного применения (включая все подгруппы), J02 — антимикотики для системного

применения (включая все подгруппы), а также ряд препаратов других АТС групп: P01AB — производные нитроимидазола для перорального применения, J04AB02 — рифампицин для перорального и парентерального применения и G01AX06 — фуразолидон для перорального применения.

Информация о потреблении АМП была представлена в стандартных единицах — количество DDD\*/100 койко-дней (DBD). Необходимо отметить, что DDD является технической единицей измерения потребления лекарственных препаратов и может отличаться от рекомендуемой и применяющейся суточной дозы. Используемый в рамках работы показатель оценки потребления (DBD) отражает долю (в %) пациентов ОРИТ, ежедневно получавших терапию указанным препаратом, при условии, что назначенная суточная доза была равна DDD [16].

Оценка рациональности потребления АМП осуществлялась путем подразделения персоналом центра всех применявшихся препаратов на основании представленных в ОРИТ нозологий, спектра потенциальных возбудителей, уровня вторичной антибиотикорезистентности и локальной политики применения лекарственных средств указанной группы (предписания формуляра ЛПУ, действующие рестриктивные меры и др.) на три категории: категория 1 — АМП выбора, категория 2 — альтернативные/резервные АМП и категория 3 — АМП, назначение которых нецелесообразно.

Стоимость препаратов представлена в российских рублях, исходя из цен на момент их закупки. Для центра 10 (Минск) цены на АМП были конвертированы в российские рубли, исходя из средних за каждый квартал значений курса валют по данным Центробанка России.

Статистическая обработка данных выполнялась в программах MS Office Excel 2007 и MS Office Access 2007 для Windows 7. Описательная статистика рассчитывалась для всех анализируемых показателей в зависимости от типа переменной для всей совокупности данных и для каждого центра в отдельности.

## Результаты исследований

### Потребление и затраты на АМП для системного применения

Потребление АМП в ОРИТ и затраты на терапию в вышеуказанные временные периоды пред-

\* DDD (Defined Daily Dose, установленная суточная доза) представляет собой условную среднюю поддерживающую суточную дозу лекарственного средства при его применении по основному показанию у взрослого человека массой 70 кг.

Таблица 1. Потребление и затраты на АМП в ОРИТ ЛПУ различных регионов РФ и РБ в 2009–2010 гг.

Центр	I–IV квартал 2009 г.				I–IV квартал 2010 г.			
	Потребление, DBD (превышение среднего по ЛПУ, раз)	Затраты, руб.	Доля в структуре затрат ЛПУ на АМП, %	Средняя стоимость 1 DDD, руб.	Потребление, DBD (превышение среднего по ЛПУ, раз)	Затраты, руб.	Доля в структуре затрат ЛПУ на АМП, %	Средняя стоимость 1 DDD, руб.
3 (Москва)	64,3 (2,5)	948 940	28,3	592,7	–	–	–	–
4 (Ярославль)*	159,6 (4,7)	2 679 167,1	30,1	433,2	168,3 (4,7)	2 199 261,1	33	365,8
6 (Пермь)	143 (6)	2 380 863,9	33,4	478,2	134 (4,8)	2 157 488,8	24,8	422,6
7/1 (Москва)	55,8 (1,4)	829 263,4	12,4	917,2	–	–	–	–
7/2 (Москва)	148,1 (3,7)	344 063,1	5,1	212	–	–	–	–
8 (Уфа)	102 (3,2)	2 115 703,4	11,1	546,1	–	–	–	–
10 (Минск)	–	–	–	–	–	2 994 106,4	63,9	615
11 (Якутск)	130,5 (1,5)	5 551 150	31,7	389,1	–	–	–	–
Среднее	122,5 (3)	2 121 307,3	20,3	444,1	133,8 (3,9)	2 450 285,4	31,5	459,8

Примечание. \* IV квартал 2008 г. – III квартал 2009 г.

ставлены в табл. 1. Средний уровень потребления АМП в ОРИТ многопрофильных стационаров РФ и РБ составил 122,5 DBD в 2009 г. и 133,8 DBD в 2010 г., что фактически соответствует ситуации, когда каждый больной отделения ежедневно получает 1,2–1,3 АМП в средней суточной дозировке.

При этом уровень потребления препаратов данной группы в ОРИТ различных стационаров, а также в различных ОРИТ одного стационара варьировал в широких пределах: от 55,8 DBD в центре 7/1 (Москва) в 2009 г. до 159,6 DBD в 2009 г. и 168,3 DBD в 2010 г. в центре 4 (Ярославль). Столь выраженные различия, вероятно, обусловлены как разным контингентом пациентов, госпитализированных в ОРИТ различных ЛПУ, так и региональными особенностями.

Средний уровень ежегодных затрат на антимикробную терапию в ОРИТ составил 2,1 и 2,5 млн рублей, средняя стоимость 1 DDD (дает представление о средней стоимости односуточной терапии одним препаратом в средней терапевтической дозе) – 444,1 и 459,8 руб. соответственно. При этом на долю ОРИТ в 2009 г. приходилось 20,3% (вариации 5,1–33,4%), в 2010 г. – 31,5% (вариации 24,8–63,9%) от общих затрат ЛПУ на указанные препараты.

Отсутствие однозначной корреляции между затратами и потреблением АМП в центрах обусловлено, в первую очередь, различиями в структуре использовавшихся средств. Как и на уровне всего стационара, большинство АМП для системного применения в ОРИТ относились к антибактериаль-

ным (АТС группа J01), на долю которых в 2009 г. приходилось в среднем 97,6%: от 91,9% в центре 3 (Москва) до 99,4% в центре 6 (Пермь), в 2010 г. – 98,1%: от 97,5% в центре 6 (Пермь) до 98,6% в центре 4 (Ярославль). Уровень затрат на закупку препаратов данной группы достигал в среднем 97,9%: от 93,3% в центре 3 (Москва) до 99,3% в центре 4 (Ярославль) в 2009 г. и 98,4%: от 95,8% в центре 6 (Пермь) до 99,8% в центре 10 (Минск) в 2010 г.

Данные об абсолютных числах, характеризующих потребление в ОРИТ препаратов АТС групп J01 и J02 и затраты на их закупку, представлены в табл. 2 и 3; структура потребления и затраты в относительных единицах – на рис. 1 и 2. Нельзя не отметить значительные вариации в структуре АМП, использовавшихся в ОРИТ различных регионов РФ и в РБ, а также в затратах на их закупку. Общее потребление лекарственных средств АТС группы J01 варьировало в 2009 г. от 53 DBD в центре 7/1 (Москва) до 158,2 DBD в центре 4 (Ярославль), тогда как затраты на закупку данной группы препаратов составляли от 0,9 млн рублей в центре 3 (Москва) до 5,4 млн рублей в центре 11 (Якутск). В 2010 г. общее потребление препаратов АТС J01 группы варьировало от 104,4 DBD в центре 10 (Минск) до 166 DBD в центре 4 (Ярославль), затраты на закупку данной группы препаратов – от 2,1 млн рублей в центре 6 (Пермь) до 3 млн рублей в центре 10 (Минск).

Средний уровень потребления системных антибактериальных препаратов, не относящихся к АТС группе J01 в совокупности (P01AB – производные

Таблица 2. Потребление АМП для системного применения (АТС группы J01 и J02) в ОРИТ ЛПУ различных регионов РФ и РБ в 2009–2010 гг., DBD

Центр	J01A	J01B	J01C	J01D	J01E	J01F	J01G	J01M	J01X	всего J01	J02
I–IV квартал 2009 г.											
3 (Москва)	–	–	9	30,6	0,2	0,1	2	9,4	7,9	59,1	5,3
4 (Ярославль)*	–	–	11,7	95	–	3,2	11,2	32,1	5	158,2	1,4
6 (Пермь)	–	<0,1	10,5	74,6	–	9,2	3	28,4	16,5	142,2	0,7
7/1 (Москва)	–	–	0,5	30	–	1,4	0,7	14,3	6,1	53	2,2
7/2 (Москва)	–	–	6,2	89,9	–	–	1,2	14	32,2	143,6	3,1
8 (Уфа)	–	–	7,3	50,8	–	–	3,3	12,3	26,6	100,2	1,7
11 (Якутск)	–	0,1	6,8	92,1	0,4	0,7	4,9	6,8	14,8	126,8	2,6
Среднее	–	0,1	7,8	75,2	0,2	2	4,7	14,9	14,8	119,6	2,3
I–IV квартал 2010 г.											
4 (Ярославль)	–	–	6,9	103,6	–	2,3	36,6	6,9	9,7	166	1,4
6 (Пермь)	–	–	7,7	66	–	9	5,9	23,4	18,7	130,6	2,9
10 (Минск)	3,5	–	2,3	57,5	–	8	0,9	8,8	23,4	104,4	1,8
Среднее	1,3	–	5,4	74	–	6,6	13,2	12,9	17,8	131,2	2

**Примечание.** Здесь и в табл. 3.

\* IV квартал 2008 г. – III квартал 2009 г.

J01 – антибактериальные препараты для системного применения, J01A – тетрациклины, J01B – амфениколы, J01C – бета-лактамы антибиотики, пенициллины, J01D – другие бета-лактамы антибиотики (цефалоспорины, карбапенемы, монобактамы), J01E – сульфаниламиды и триметоприм, J01F – макролиды, линкозамиды и стрептограммины, J01G – аминогликозиды, J01M – хинолоны, J01X – другие антибактериальные препараты (гликопептиды, полимиксины, нитроимидазолы, нитрофураны и др.), J02 – антимикотики для системного применения.

нитроимидазола для перорального применения, J04AB02 – рифампицин для перорального и парентерального применения и G01AX06 – фуразолидон для перорального применения), как в 2009 г., так и в 2010 г. не превышал 1 DBD (0,5 DBD и 0,6 DBD соответственно); суммарные затраты на закупку данных препаратов для ОРИТ всех исследовательских центров составили 2215 руб. и 5118 руб. соответственно.

Доля антимикотиков для системного применения (J02) в структуре потребления АМП в ОРИТ была относительно невысокой, однако значимо превышала таковую для стационаров в целом: 1,9% vs. 0,4% в 2009 г. и 1,5% vs. 0,4% в 2010 г. соответственно [14]. Необходимо отметить, что в ОРИТ ЛПУ г. Москвы (центры 3, 7/1 и 7/2) доля данной группы препаратов в структуре потребления АМП несколько превышала таковую в ОРИТ других центров: 8,2% (5,3 DBD), 3,9% (2,2 DBD) и 2,1% (3,1 DBD) соответственно. Уровень затрат на закупку препаратов группы J02 для ОРИТ в среднем составлял 2,1%: от 0,7% в центре 4 (Ярославль) до 6,7% в центре 3 (Москва) в 2009 г. и 1,5%: от 0,2% в центре 10 (Минск) до 4,2% в центре 6 (Пермь) в 2010 г.

### Структура потребления антибактериальных препаратов

В пределах АТС группы J01 наиболее высоким уровнем потребления в 2009 г. характеризовались другие бета-лактамы антибиотики (цефалоспорины, карбапенемы и монобактамы), J01D, на долю которых в совокупности приходилось 62,8% (75,2 DBD), другие антибактериальные препараты (нитроимидазолы, гликопептиды, нитрофураны и др.), J01X – 12,4% (14,8 DBD) и хинолоны, J01M – 12,4% (14,9 DBD) (табл. 4); в 2010 г. – другие бета-лактамы антибиотики, J01D – 56,4% (74 DBD), другие антибактериальные препараты, J01X – 13,6% (17,8 DBD) и аминогликозиды, J01G – 10% (13,2 DBD). Необходимо отметить, что расхождения в структуре потребления в 2009 г. и 2010 г. связаны, преимущественно, с резким возрастанием потребления аминогликозидов, J01G (с 11,2 до 36,6 DBD) и снижением потребления хинолонов, J01M, (с 32,1 до 6,9 DBD) в центре 4 (Ярославль) в 2010 г. в рамках внедрения в стационаре политики ротации АМП (табл. 5).

Затраты ЛПУ на антибактериальные препараты в ОРИТ за указанные временные периоды коррелировали с уровнями потребления. Так, наибо-

Таблица 3. Затраты на АМП для системного применения (АТС группы J01 и J02) в ОРИТ ЛПУ различных регионов РФ и РБ в 2009–2010 гг., руб.

Центр	J01A	J01B	J01C	J01D	J01E	J01F	J01G	J01M	J01X	всего J01	J02
3 (Москва)	–	–	60 621,5	717 567,4	936,8	23,7	1747	52 520,2	51 681,2	885 097,7	63 842,3
4 (Ярославль) *	–	–	309 898	1 997 942,5	–	30 078,7	28 391	230 032,7	63 837,3	2 660 180,1	18 987
6 (Пермь)	–	459	116 416,2	1 580 944,7	–	61 880,6	234,2	188 594,2	411 343	2 361 979,9	18 884
7/1 (Москва)	–	–	2798	437 450,6	–	13 587,7	515,9	281 426	84 754	820 532,1	84 997,7
7/2 (Москва)	–	–	4 500,5	252 444,3	–	–	550,9	387 87,6	44 638	340 921,3	3 090
8 (Уфа)	–	–	183 905,3	1 678 400,1	–	–	4712,5	85 649,3	107 310,6	2 059 977,9	54 896,7
11 (Якутск)	–	843,2	135 154	3 868 689,3	251,5	19 004,9	27 477,1	103 840,8	1 258 037,4	5 413 298,1	136 749,1
Среднее	–	651,1	116 184,8	1 504 777,0	594,2	24 915,1	9 390,9	140 121,5	288 800,2	2 077 426,7	43 564,1
I–IV квартал 2010 г.											
4 (Ярославль)	–	–	322 731,5	1 129 883,5	–	10 626,7	547 620,4	79 299,3	90 787,8	2 180 949,1	13 257
6 (Пермь)	–	–	117 992,5	1 276 073,9	–	89 234,4	9750	303 088,5	271 584,5	2 067 723,8	89 728,7
10 (Минск)	76,7	–	696,1	2 494 664,7	–	101 470,4	1664,8	132 193,9	255 972,9	2 986 739,6	7 339,9
Среднее	76,7	0,0	147 140,0	1 633 540,7	0,0	67 110,5	186 345,1	171 527,2	206 115,1	2 411 804,2	36 775,2

лее высокими были затраты на закупку других бета-лактамов антибиотиков (J01D) – 72,4% (в среднем 1,5 млн руб. на центр) в 2009 г. и 67,7% (в среднем 1,6 млн руб. на центр) в 2010 г., других антибактериальных препаратов (J01X) – 13,9% (в среднем 288,8 тыс. руб. на центр) и 8,5% (в среднем 206,1 тыс. руб. на центр) соответственно, а также хинолонов (J01M) – 6,7% (в среднем 140,1 тыс. руб. на центр) в 2009 г. и аминогликозидов (J01G) – 7,7% (в среднем 186,4 тыс. руб. на центр) в 2010 г. (табл. 6, 7).

В пределах подгруппы других бета-лактамов антибиотиков (J01D) наиболее высокими уровнями потребления характеризовались цефалоспорины III поколения, J01DD (74,6% / 56 DBD в 2009 г. и 71,2% / 52,7 DBD в 2010 г.), среди которых лидировал цефтриаксон (70,9 и 79,5% от всех цефалоспоринов III поколения, 39,7 и 41,8 DBD соответственно), карбапенемы, J01DH (11,6% / 8,7 DBD и 10,3% / 7,7 DBD), преимущественно имипенем/циластатин (44,5 и 73% от всех карбапенемов, 3,9 и 5,6 DBD соответственно) и меропенем (40,7 и 17,4% от всех карбапенемов, 3,6 и 1,3 DBD соответственно) и цефалоспорины I поколения, J01DB (11,1% / 8,4 DBD и 13,2% / 9,8 DBD соответственно), представленные исключительно цефазолином.

В то же время большинство затрат на антибактериальные препараты данной группы приходилось на карбапенемы, J01DH (74,1%, что составило в среднем 1,1 млн руб. на центр в 2009 г., и 74%, что составило 1,2 млн руб. на центр в 2010 г.), преимущественно имипенем/циластатин (39,5% / 440,4 тыс. рублей и 85,1% / 1 млн руб.) и меропенем (47,7% / 531,9 тыс. руб. и 9,4% / 113,6 тыс. руб. соответственно), и цефалоспорины III поколения, J01DD (21,9%, что составило в среднем 330,1 тыс. рублей, и 22,2%, что составило в среднем 362,8 тыс. руб. соответственно), среди которых лидировали препараты с антисинегнойной активностью: цефоперазон/сульбактам (49,9% / 164,6 тыс. руб. и 39,7% / 144 тыс. рублей) и цефтазидим (24,1% / 79,7 тыс. руб. и 32,6% / 118,3 тыс. руб. соответственно), в связи со значимо более высокой стоимостью за единицу дозирования средств данной группы по сравнению с другими препаратами класса бета-лактамов.

Среди так называемых других антибактериальных препаратов (J01X) наиболее высокий уровень потребления отмечался у производных имидазола (J01XD): 80,8% / 12 DBD в 2009 г. и 74,8% / 13,3 DBD в 2010 г., представленных исключительно метронидазолом, тогда как основные затраты представляла закупка антибиотиков гликопептид-



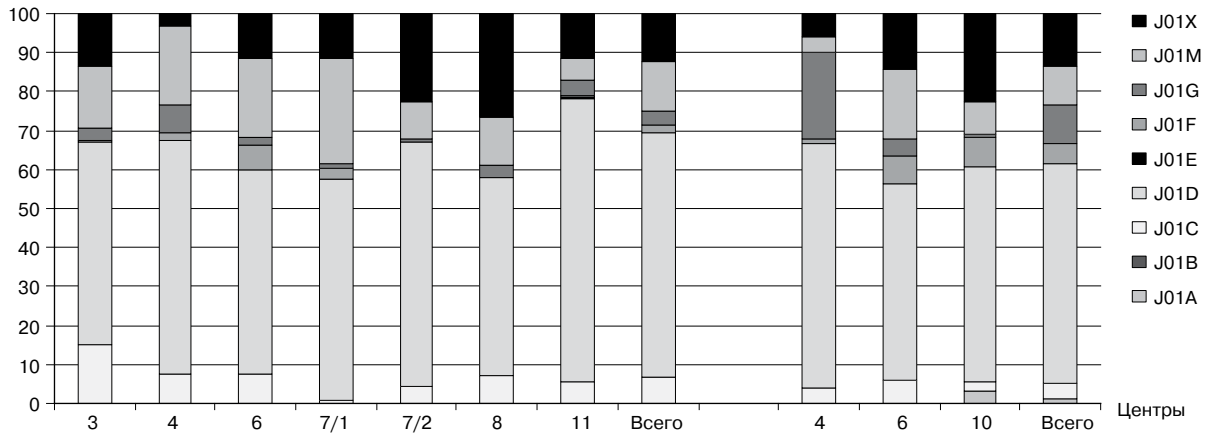


Рис. 1. Потребление антибактериальных препаратов для системного применения (АТС группа J01) в ОРИТ ЛПУ различных регионов РФ и РБ в 2009–2010 гг. (в %).

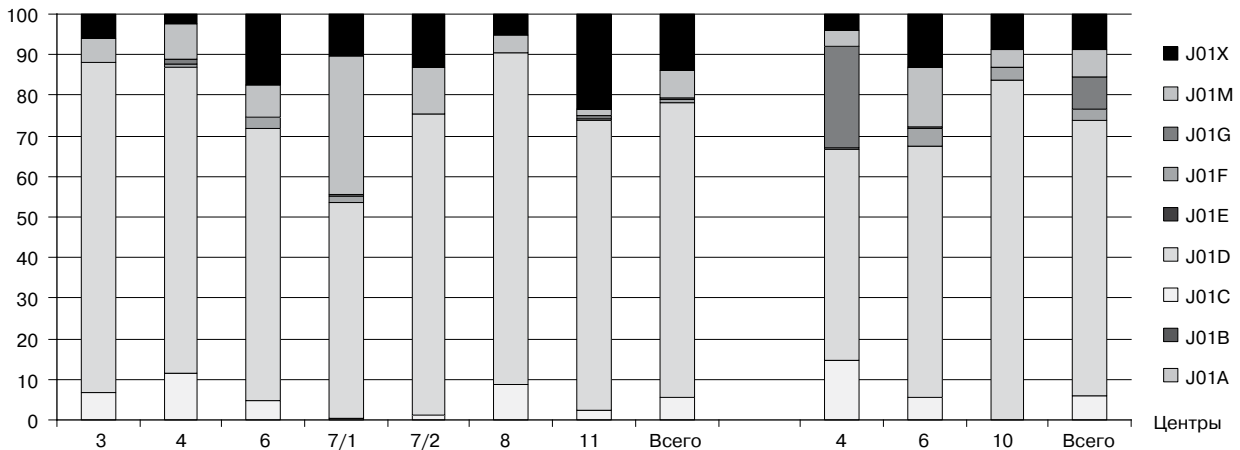


Рис. 2. Затраты на антибактериальные препараты для системного применения (АТС группа J01) в ОРИТ ЛПУ различных регионов РФ и РБ в 2009–2010 гг. (в %).

ной структуры (J01XA), а именно: ванкомицина – 40,7%, что составило в среднем 117,5 тыс. руб. на центр в 2009 г., и 69,5%, что составило в среднем 143,2 тыс. рублей на центр в 2010 г., а также препаратов АТС группы (J01XX): 39,7%, что составило в среднем 114,8 тыс. руб. на центр в 2009 г., и 13,5%, что составило в среднем 27,8 тыс. руб. на центр в 2010 г., преимущественно линезолида (96,9% / 111,2 тыс. руб. и 69,5% / 19,3 тыс. руб.), при среднем потреблении этих препаратов в пределах 2,8 DBD в 2009 г. и 4,5 DBD в 2010 г. При этом доля метронидазола в структуре затрат на АМП группы J01X в указанные временные периоды не превышала 20% (см. табл. 6 и 7).

Из хинолонов, J01M (12,4% / 14,9 DBD в 2009 г.) наиболее высокое потребление отмечалось для ципрофлоксацина (73,1% в пределах класса, 10,9 DBD), тогда как основные затраты приходились

на закупку левофлоксацина (50,5%, что составило в среднем 70,7 тыс. руб. на центр), уровень потребления которого не превышал 8% (см. табл. 4 и 6). В подгруппе аминогликозидов, J01G (10% / 13,2 DBD в 2010 г.), амикацин занимал большую долю в структуре потребления (68% в пределах класса, 9 DBD), тогда как в структуре затрат лидировал нетилмицин (72,8%, что составило в среднем 64,1 тыс. руб. на центр) (см. табл. 5 и 7). Потребление и затраты на другие группы АМП были значимо более низкими.

На уровне отдельных препаратов наиболее высоким потреблением в ОРИТ включенных в исследование ЛПУ характеризовались цефтриаксон и метронидазол (в среднем 39,7 DBD и 12 DBD в 2009 г. и 41,8 DBD и 13,3 DBD в 2010 г. соответственно), тогда как основные затраты в 2009 г. приходились на меропенем и имипенем/циластатин

Таблица 4. Антибактериальные препараты для системного применения (АТС группа J01), характеризовавшиеся наиболее высоким суммарным потреблением в ОРИТ ЛПУ различных регионов РФ и РБ в 2009 г. (доля потребления в % в пределах своей группы)

Другие бета-лактамы антибиотики, J01D (62,8%)	Другие антибактериальные препараты, J01X (12,4%)	Хинолоны, J01M (12,4%)	Другие антибиотики (12,3%)
Цефалоспорины III поколения, J01DD (74,6%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• цефтриаксон (70,9%)</li> <li>• цефотаксим (17,2%)</li> <li>• цефоперазон/сульбактам (7,4%)</li> <li>• цефтазидим (4,6%)</li> </ul> Карбапенемы, J01DH (11,6%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• имипенем/циластатин (44,5%)</li> <li>• меропенем (40,7%)</li> <li>• эртапенем (13,5%)</li> <li>• дорипенем (1,3%)</li> </ul> Цефалоспорины I поколения, J01DB (11,1%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• цефазолин (100%)</li> </ul> Цефалоспорины IV поколения, J01DE (2,5%)	Производные имидазола, J01XD (80,8%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• метронидазол (100%)</li> </ul> Антибиотики гликопептидной структуры, J01XA (14,7%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• ванкомицин (100%)</li> </ul> Другие антибактериальные препараты, J01XX (4,5%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• линезолид (84,7%)</li> <li>• фосфомицин (15,3%)</li> </ul>	Фторхинолоны, J01MA (100%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• ципрофлоксацин (73,1%)</li> <li>• пefлоксацин (13,5%)</li> <li>• левофлоксацин (7,7%)</li> <li>• офлоксацин (3%)</li> <li>• норфлоксацин (1,5%)</li> <li>• моксифлоксацин (1,2%)</li> </ul>	Бета-лактамы антибиотики, пенициллины, J01C (6,6%) Аминогликозиды, J01G (3,9%) Макролиды, линкозамиды и стрептограммины, J01F (1,7%) Сульфаниламиды и триметоприм, J01E (0,2%) Амфениколы, J01B (0,1%)
Цефалоспорины II поколения, J01DC (0,3%)			

Таблица 5. Антибактериальные препараты для системного применения (АТС группа J01), характеризовавшиеся наиболее высоким суммарным потреблением в ОРИТ ЛПУ различных регионов РФ и РБ в 2010 г. (доля потребления в % в пределах своей группы)

Другие бета-лактамы антибиотики, J01D (56,4%)	Другие антибактериальные препараты, J01X (13,6%)	Аминогликозиды, J01G (10%)	Другие антибиотики (20%)
Цефалоспорины III поколения, J01DD (71,2%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• цефтриаксон (79,5%)</li> <li>• цефтазидим (8,4%)</li> <li>• цефотаксим (6,9%)</li> <li>• цефоперазон/сульбактам (5,2%)</li> </ul> Цефалоспорины I поколения, J01DB (13,2%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• цефазолин (100%)</li> </ul> Карбапенемы, J01DH (10,3%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• имипенем/циластатин (73%)</li> <li>• меропенем (17,4%)</li> <li>• эртапенем (9,2%)</li> <li>• дорипенем (0,4%)</li> </ul> Цефалоспорины IV поколения, J01DE (5,3%)	Производные имидазола, J01XD (74,8%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• метронидазол (100%)</li> </ul> Антибиотики гликопептидной структуры, J01XA (23,6%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• ванкомицин (100%)</li> </ul> Другие антибактериальные препараты, J01XX (1,6%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• фосфомицин (45,5%)</li> <li>• линезолид (37,3%)</li> <li>• нитроксолин (17,2%)</li> </ul>	Прочие аминогликозиды, J01GB (100%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• амикацин (68%)</li> <li>• нетилмицин (32%)</li> </ul>	Хинолоны, J01M (9,8%) Макролиды, линкозамиды и стрептограммины, J01F (5%) Бета-лактамы антибиотики, пенициллины, J01C (4,1%) Тетрациклины, J01A (1%)

(в среднем 531,9 тыс. руб. и 440,4 тыс. руб. на центр соответственно), в 2010 г. — имипенем/циластатин (в среднем 1 млн руб. на центр).

Структура потребления и затрат на закупку различных классов препаратов АТС группы J01 в пределах отдельных центров представлена на

рис. 1 и 2. Несмотря на общее преобладание препаратов группы других бета-лактамов антибиотиков (J01D), необходимо отметить наличие выраженных вариаций в структуре потребления и соответственно затрат на АМП для ОРИТ различных ЛПУ, участвовавших в исследовании. Так, доля

Таблица 6. Антибактериальные препараты для системного применения (АТС группа J01), затраты на приобретение которых были наиболее высокими в ОРИТ ЛПУ различных регионов РФ и РБ в 2009 г. (доля затрат в % в пределах своей группы)

Другие бета-лактамы антибиотики, J01D (72,4%)	Другие антибактериальные препараты, J01X (13,9%)	Хинолоны, J01M (6,7%)	Другие антибиотики (6,9%)
Карбапенемы, J01DH (74,1%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• меропенем (47,7%)</li> <li>• имипенем/циластатин (39,5%)</li> <li>• эртапенем (10,1%)</li> <li>• дорипенем (2,6%)</li> </ul> Цефалоспорины III поколения, J01DD (21,9%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• цефоперазон/сульбактам (49,9%)</li> <li>• цефтазидим (24,1%)</li> <li>• цефтриаксон (14,5%)</li> <li>• цефотаксим (11,5%)</li> </ul> Цефалоспорины IV поколения, J01DE (3,1%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• цефепим (100%)</li> </ul> Цефалоспорины I поколения, J01DB (0,7%)	Антибиотики гликопептидной структуры, J01XA (40,7%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• ванкомицин (100%)</li> </ul> Другие антибактериальные препараты, J01XX (39,7%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• линезолид (96,9%)</li> <li>• фосфомицин (3,1%)</li> </ul> Производные имидазола, J01XD (19,6%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• метронидазол (100%)</li> </ul>	Фторхинолоны, J01MA (100%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• левофлоксацин (50,5%)</li> <li>• цiproфлоксацин (29,3%)</li> <li>• моксифлоксацин (10,6%)</li> <li>• пefлоксацин (5,4%)</li> <li>• офлоксацин (4,1%)</li> <li>• норфлоксацин (0,2%)</li> </ul>	Бета-лактамы антибиотики, пенициллины, J01C (5,6%) Макролиды, линкозамиды и стрептограммины, J01F (0,9%) Аминогликозиды, J01G (0,5%)
Цефалоспорины II поколения, J01DC (0,1%)			

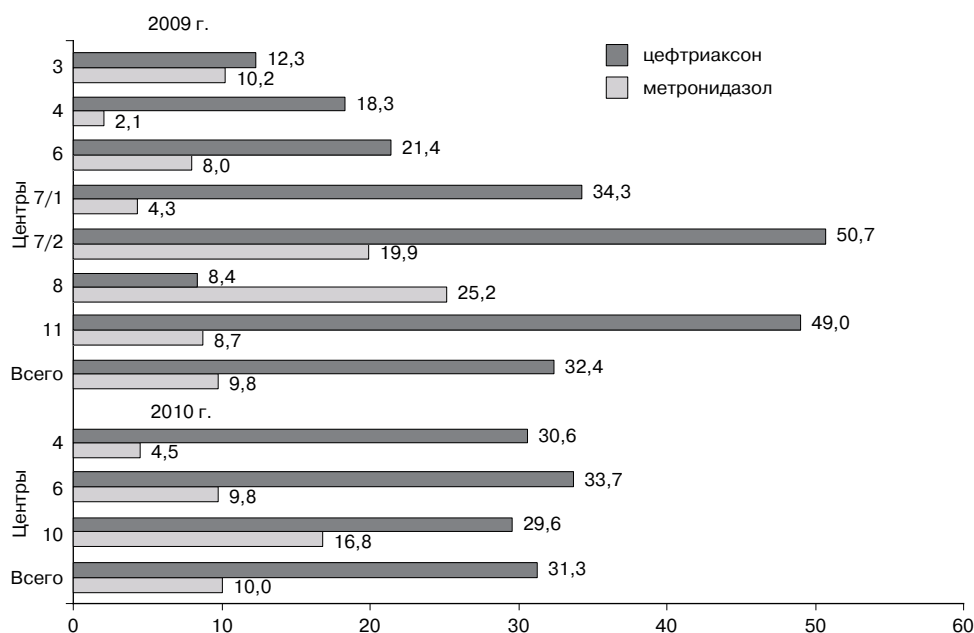
Таблица 7. Антибактериальные препараты для системного применения (АТС группа J01), затраты на приобретение которых были наиболее высокими в ОРИТ ЛПУ различных регионов РФ и РБ в 2010 г. (доля затрат в % в пределах своей группы)

Другие бета-лактамы антибиотики, J01D (67,7%)	Другие антибактериальные препараты, J01X (8,5%)	Аминогликозиды, J01G (7,7%)	Другие антибиотики (16%)
Карбапенемы, J01DH (74%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• имипенем/циластатин (85,1%)</li> <li>• меропенем (9,4%)</li> <li>• эртапенем (5%)</li> <li>• дорипенем (0,5%)</li> </ul> Цефалоспорины III поколения, J01DD (22,2%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• цефоперазон/сульбактам (39,7%)</li> <li>• цефтазидим (32,6%)</li> <li>• цефтриаксон (25,4%)</li> <li>• цефотаксим (2,3%)</li> </ul> Цефалоспорины IV поколения, J01DE (2,9%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• цефепим (100%)</li> </ul> Цефалоспорины I поколения, J01DB (0,9%)	Антибиотики гликопептидной структуры, J01XA (69,5%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• ванкомицин (100%)</li> </ul> Производные имидазола, J01XD (17%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• метронидазол (100%)</li> </ul> Другие антибактериальные препараты, J01XX (13,5%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• линезолид (69,5%)</li> <li>• фосфомицин (30,5%)</li> <li>• нитроксолин (0,1%)</li> </ul>	Прочие аминогликозиды, J01GB (100%): <ul style="list-style-type: none"> <li>• нетилмицин (72,8%)</li> <li>• амикацин (27,2%)</li> </ul>	Хинолоны, J01M (7,1%) Бета-лактамы антибиотики, пенициллины, J01C (6,1%) Макролиды, линкозамиды и стрептограммины, J01F (2,8%)

лидировавшего в общей структуре потребления цефтриаксона варьировала в пределах от 12,3 до 50,7% при среднем показателе — 32,4% в 2009 г.; доля метронидазола — в пределах от 2,1 до 10,2% при среднем показателе — 9,8% в 2009 г. и от 4,5 до 16,8% при среднем показателе — 10% в 2010 г. (рис. 3).

### Категоризация потребления АМП по степени рациональности

Анализ рациональности использования АМП в ОРИТ многопрофильных стационаров продемонстрировал преобладание в структуре потребления препаратов выбора, относящихся к категории 1 (62,9% в 2009 г. и 64,6% в 2010 г., что составило 77,1



**Рис. 3.** Потребление цефтриаксона и метронидазола в ОРИТ ЛПУ различных регионов РФ и РБ в 2009–2010 гг. (в %).

и 86,4 DBD) и альтернативных средств категории 2 (24,9 и 24,4%, что составило 30,5 и 32,6 DBD соответственно). Основные затраты на АМТ также приходились на препараты указанных категорий. Так, затраты на препараты категории 1 в 2009 г. и 2010 г. составили в среднем 964,2 тыс. руб. (45,5% от общих затрат) и 1,3 млн руб. на центр (54,8%) соответственно; затраты на препараты категории 2 — по 1,1 млн руб. (52,6% в 2009 г. и 43,8% в 2010 г.).

В то же время, уровень потребления нерациональных препаратов (категория 3) являлся неоправданно высоким: 12,2% в 2009 г. и 11,1% в 2010 г., что составило 14,9 и 14,8 DBD соответственно, тогда как затраты на их закупку были не столь значительными: 2 и 1,4% от общих затрат на АМП в ОРИТ, что составило в среднем 42 тыс. руб. и 33,3 тыс. руб. на центр соответственно.

Несмотря на общую тенденцию преобладания в структуре потребления и затрат препаратов выбора, вариации указанных показателей между центрами были выраженными, при этом в ряде центров суммарная доля альтернативных и нерациональных препаратов оказалась доминирующей (рис. 4).

Так, доля препаратов выбора в структуре потребления в 2009 г. варьировала от 45,7% в центре 8 (Уфа) до 91,4% в центре 7/1 (Москва), в 2010 г. — от 46,3% в центре 4 (Ярославль) до 77,6% в центре 10 (Минск); доля затрат на закупку средств указанной категории — от 19,1% в центре 8 (Уфа) до 88,8% в центре 4 (Ярославль) в 2009 г. и от 16,1% в цен-

тре 10 (Минск) до 89,8% в центре 4 (Ярославль) в 2010 г.

Доля альтернативных препаратов в структуре потребления варьировала от 6,4% в центре 7/1 (Москва) до 33% в центре 11 (Якутск) в 2009 г. и от 19,8% в центре 10 (Минск) до 31,5% в центре 4 (Ярославль) в 2010 г.; доля затрат на указанную категорию препаратов — от 6,5% в центре 4 (Ярославль) до 79,1% в центре 11 (Якутск) в 2009 г. и от 6,2% в центре 4 (Ярославль) до 83,8% в центре 10 (Минск) в 2010 г.

Потребление нерациональных АМП варьировало от 1,2% в центре 6 (Пермь) до 39,7% в центре 8 (Уфа) в 2009 г. и от 2,6% в центре 10 (Минск) до 22,2% в центре 4 (Ярославль) в 2010 г., доля затрат на данную категорию средств — от 0,1% в центрах 6 (Пермь) и 7/1, 7/2 (Москва) до 6% в центре 8 (Уфа) в 2009 г. и от 0,04% в центре 10 (Минск) до 3,9% в центре 4 (Ярославль) в 2010 г.

### Обсуждение результатов

Вклад АМП в процесс оказания медицинской помощи невозможно переоценить. В то же время, рост частоты применения препаратов данной группы, особенно нерационального, привел к нарастающей устойчивости к ним микроорганизмов, что стало причиной значимого снижения эффективности терапии, привело к повышению летальности, удлинению продолжительности госпитализации, а также возрастанию потребности в использовании

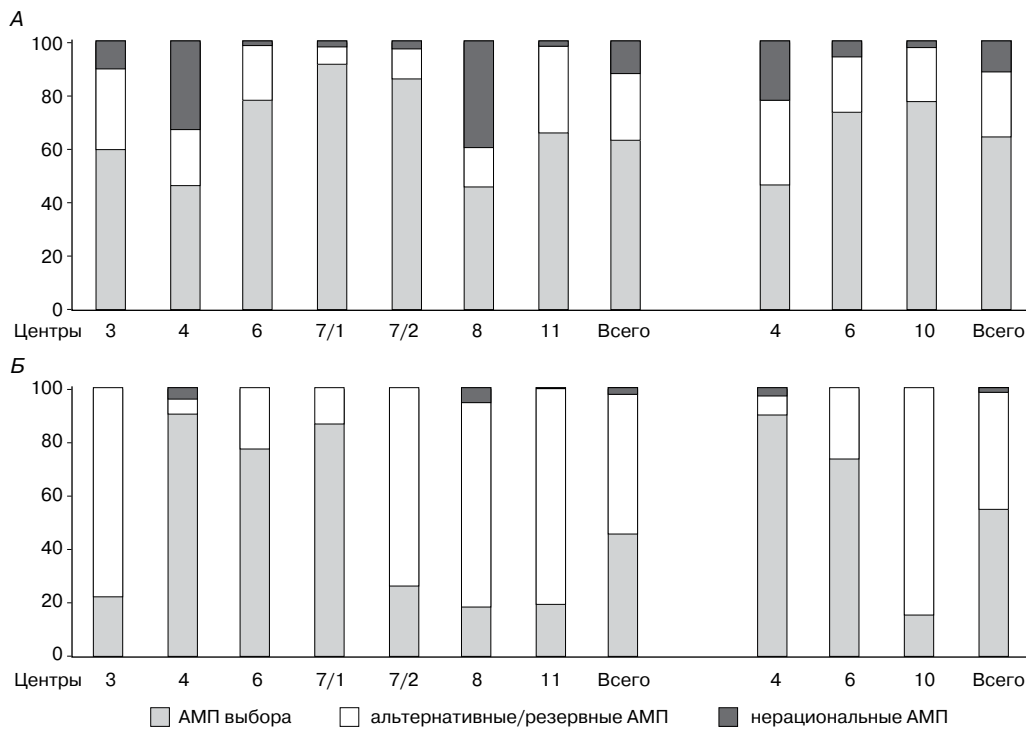


Рис. 4. Потребление (А) и затраты (Б) на АМП для системного применения (АТС группы J01, J02, J04AB, G01AX, R01AB) разных категорий рациональности в ОРИТ ЛПУ различных регионов РФ и РБ в 2009–2010 гг. (в %).

более безопасных и менее затратных альтернатив [17].

Вызванные резистентной микрофлорой нозокомиальные инфекции являются одной из ведущих проблем системы здравоохранения во всем мире, в том числе в РФ. При этом, по данным литературы, от 20 до 45% всех нозокомиальных инфекций развивается в условиях ОРИТ [18, 19]. Инфекционные заболевания, в первую очередь сепсис, являются ведущей причиной летальности в ОРИТ некардиологического профиля (до 60%), а расходы на их лечение в указанных отделениях достигают 40% от общих затрат [20, 21].

Высокая частота инфекционной патологии и особенности контингента пациентов ОРИТ определяют значимую потребность в системной терапии, использовании препаратов широкого спектра действия и, в ряде случаев, их комбинаций для эрадикации потенциальных возбудителей из числа полирезистентной нозокомиальной микрофлоры, причем от адекватности терапии во многих случаях зависит жизнь пациента. Показано, что неверный выбор стартового режима АМТ в ОРИТ повышает риск наступления летального исхода в 2,4 раза [22].

С другой стороны, широкое использование системных АМП усиливает селективное давление на микробную популяцию и способствует росту антибиотикорезистентности.

Потенциальные взаимосвязи между потреблением препаратов отдельных групп и ростом устойчивости бактерий в пределах одного отделения описаны в ряде экологических исследований [23–27]. Достоверно доказано влияние применения цефалоспоринов на вероятность развития инфекций, вызванных продуцирующими бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) штаммами энтеробактерий: отношение шансов (ОШ) = 6 для *Escherichia coli* и ОШ=3,9 для *Klebsiella pneumoniae* [28, 29] и метициллинорезистентных штаммов *Staphylococcus aureus* (MRSA) — относительный риск=2,2 [30], а также на распространение в стационаре ванкомицинорезистентных штаммов энтерококков [27]. Продемонстрировано повышение риска возникновения инфекций, вызванных металло-бета-лактамазопродуцирующими штаммами *Pseudomonas aeruginosa* (в 3,5 раза) [31] и MRSA (в 3,1 раза) [30] при использовании фторхинолонов. Косвенным подтверждением влияния политики назначения АМП на селекцию резистентности является улучшение профиля чувствительности нозокомиальной микрофлоры при внедрении стратегии рационального использования указанных препаратов [32–35].

В связи с доказанным негативным влиянием на эпидемиологию, назначение АМП широкого спектра действия в интересах пациента должно

уравновешиваться мерами по сдерживанию их избыточного и бесконтрольного использования. Одним из этапов на пути реализации грамотной политики применения АМП («antimicrobial stewardship») является мониторинг их потребления. Для оценки показателей потребления данных препаратов в ОРИТ в различных регионах мира на регуляторной основе выполняются масштабные проекты, такие как ICARE (Intensive Care Antimicrobial Resistance) в США [9], SARI (Surveillance of Antimicrobial use and Resistance in ICUs) в Германии [10, 36], ICU-STRAMA (Swedish Strategic Program Against Antibiotic Resistance) в Швеции [11] и CARE-ICU (Controlling Antibiotic Resistance in ICU), включивший данные ЛПУ 8 стран Европы (Венгрия, Республика Мальта, Республика Хорватия, Румыния, Турция, Чешская Республика, Швеция, Эстонская Республика) [12].

В то же время, в нашей стране до сих пор не проводилось системного изучения указанной проблемы. Настоящая публикация представляет результаты первого многоцентрового исследования по сравнительной оценке практики потребления системных АМП в ОРИТ многопрофильных стационаров РФ и РБ. Многоцентровый дизайн проекта позволил получить информацию из ЛПУ различных регионов РФ для формирования более полного представления об изучавшихся показателях на уровне страны. Согласно полученным нами данным, средний уровень потребления АМП в ОРИТ многопрофильных стационаров РФ и РБ за период исследования варьировал в пределах 122,5 DBD – 133,8 DBD, что фактически соответствует ситуации, когда каждый больной отделения ежедневно получает 1,2–1,3 АМП в средней суточной дозировке. С учетом очевидного факта, что далеко не все пациенты ОРИТ нуждаются в проведении системной АМТ, оправданным представляется предположение о преобладании в указанных отделениях комбинированной терапии, что согласуется с ранее представленными результатами проекта РИОРИТа [7].

Необходимо отметить, что уровни потребления системных АМП в ОРИТ многопрофильных стационаров РФ и РБ были сопоставимы с таковыми по данным зарубежных проектов. Так, в рамках программы CARE-ICU, выполненной в 2005 г. и включившей 35 ОРИТ 8 стран Европы, средний уровень потребления АМП составил 1254 DDD на 1000 койко-дней (вариации 348–4992 DDD на 1000 койко-дней) [9], что, по сути, эквивалентно 125,4 DBD. Близкие показатели были получены в Швеции в ходе проекта ICU-STRAMA, выполненного в 1999 г. и включившего 38 ОРИТ (вари-

ации среднего уровня потребления – 1072–1541 DDD на 1000 койко-дней в зависимости от типа ЛПУ, что эквивалентно 107,2–154,1 DBD) [11], и в Германии в рамках проекта SARI, выполненного в 2007–2011 гг. и включившего 98 ОРИТ (средний уровень – 1305 DDD на 1000 пациенто-дней, что эквивалентно 130,5 DBD) [36]. Выраженные вариации уровней потребления в ОРИТ различных ЛПУ, отмеченные в каждом из проектов, наиболее вероятно, связаны с различиями в профилях ОРИТ и в контингенте их пациентов.

Несмотря на схожие объемы, структура потребления АМП в ОРИТ РФ и РБ отличалась от таковой в других странах. Так, по данным за 2009 г., наибольший уровень потребления был отмечен для препаратов класса цефалоспоринов (55,6%), преимущественно III поколения (84,3% от всех цефалоспоринов), хинолонов (12,4%), нитроимидазолов (10,4%) и карбапенемов (7,3%). Представленные тенденции согласуются с результатами российского наблюдательного исследования РИОРИТа, продемонстрировавшего преобладание цефалоспоринов III поколения (26,8%), карбапенемов (17,9%), аминогликозидов (11,3%), метронидазола (10,8%) и фторхинолонов (8,9%) в структуре АМП, назначавшихся пациентам ОРИТ [7].

В то же время, ОРИТ Германии отличались высоким потреблением пенициллинов (24%), цефалоспоринов (19,1%), карбапенемов (13,7%), хинолонов (13,4%) и макролидов (7,6%) [36], тогда как в российских и белорусских ОРИТ роль пенициллинов и макролидов была не столь значимой (6,6% и 1,2% соответственно). Относительно высокие уровни потребления пенициллинов были отмечены и в рамках проекта STRAMA (Швеция), где антистафилококковые пенициллины заняли вторую позицию после цефалоспоринов в общей структуре потребления антибактериальных препаратов [11]. Необходимо, однако, отметить, что сроки проведения проекта STRAMA (1999 г.) также могут обуславливать расхождения в показателях с результатами более современных исследований.

Структура потребления АМП, с одной стороны, определяется эпидемиологией инфекций и спектром антибиотикорезистентности потенциальных патогенов, с другой стороны, несомненно, оказывает влияние на упомянутые явления. По данным исследования РИОРИТа, основными возбудителями бактериальных инфекций в ОРИТ нашей страны являются грамотрицательные микроорганизмы (72,7%), среди которых лидируют представители семейства *Enterobacteriaceae* (52,7%), преимущественно *K. pneumoniae* (34%) и *E. coli* (28,9%), а также неферментирующие грамотрицательные бактерии:

*P. aeruginosa* (29,9%) и *Acinetobacter* spp. (15,7%). В структуре грамположительных возбудителей лидирует *S. aureus* (42,1%, из них 61,7% — метициллинорезистентные штаммы) [7].

При этом, по данным многоцентровых проектов НИИАХ, эпидемиология госпитальных инфекций в РФ характеризуется ростом резистентности нозокомиальных патогенов к АМП. Так, доля продуцентов БЛРС среди нозокомиальных штаммов энтеробактерий выросла с 69,3% в 2006–2007 гг. [37] до 79,9% в 2011–2012 гг. [38], что ограничивает использование цефалоспоринов, в том числе III–IV поколений, для эмпирической терапии вызванных ими инфекций и объясняет возрастание доли карбапенемов в структуре потребления АМП в ОРИТ РФ. Особую озабоченность вызывает появление в последние годы нозокомиальных штаммов энтеробактерий, продуцирующих карбапенемазы (3,3% изолятов в 2011–2012 гг.) [39].

Доля продуцентов металло-бета-лактамаз среди нозокомиальных штаммов *P. aeruginosa*, выделенных в стационарах РФ в 2011–2012 гг., составила 28% по сравнению с 20,1% в 2006–2007 гг. [39, 40]. Среди нозокомиальных штаммов *Acinetobacter baumannii* доля продуцирующих карбапенемазы возросла к 2011–2012 гг. до 44% [39]. Весьма тревожным является тот факт, что в отношении подобных штаммов *P. aeruginosa* и *A. baumannii* клинически значимую активность сохраняют только препараты группы полимиксинов, что значительно ограничивает выбор терапевтических альтернатив.

Доля MRSA также выросла с 54,4% в 2006–2007 гг. до 66,9% в 2011–2012 гг. [38]. На фоне столь высокой частоты выделения устойчивых штаммов по-прежнему недостаточным представляется использование в ОРИТ РФ препаратов с анти-MRSA активностью, таких как гликопептиды (1,8% от общего потребления системных антибиотиков / 2,2 DBD) и линезолид (0,5% / 0,6 DBD), хотя уровень их потребления в указанных отделениях был значительно выше средних показателей по стационару (0,3% / 0,1 DBD и 0,03% / 0,01 DBD соответственно) [14].

Необходимо отметить, что, по данным проекта МАРАФОН (Мониторинг распространенности и антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций и практики использования и потребления АМП в многопрофильных стационарах различных регионов России), охватывающего 26 стационаров 19 городов РФ, в 2011–2012 гг. каждая 8-я нозокомиальная инфекция была вызвана экстремально резистентными грамотрицательными бактериями [39]. Столь выраженный рост устойчивости микроорганизмов к антибиотикам на

фоне отсутствия перспектив появления в ближайшем будущем принципиально новых препаратов подчеркивает настоятельную необходимость переоценки практики использования АМП, а также ее влияния на эпидемическую ситуацию в ЛПУ.

Методология текущего исследования не предусматривала проведение анализа влияния потребления АМП на селекцию резистентной микрофлоры в ОРИТ. Более того, взаимосвязь между указанными фактами является сложной и неоднозначной в связи с необходимостью учитывать другие факторы, в первую очередь, меры инфекционного контроля. Существует также мнение, что на динамику устойчивости микроорганизмов в ОРИТ в большей степени влияет потребление АМП в ЛПУ в целом, поскольку многие пациенты переводятся в указанное отделение, уже колонизированные нозокомиальными патогенами [41].

Хотя полученные нами сведения позволяют лишь косвенно судить о потенциальном экологическом эффекте потребления АМП, исходя из его структуры и объемов, практическая значимость подобного проекта представляется существенной. Не требуя привлечения ресурсов, необходимых для клинического и микробиологического исследования, изучение практики потребления АМП, особенно непрерывное и в режиме реального времени, позволяет своевременно выявлять наиболее значимые проблемы и контролировать эффективность мер по оптимизации стратегии использования препаратов данной группы. Проведение дополнительных исследований, в том числе упомянутого выше проекта МАРАФОН, инициированного НИИАХ в 2011 г. и продолжающегося по настоящее время, позволит объективизировать трактовку особенностей назначения системных АМП в российских стационарах, а также определить клинические и эпидемиологические последствия существующей практики потребления АМП в отдельных ЛПУ.

К числу других ограничений проекта следует отнести использование АТС/DDD методологии. Несмотря на статус международного стандарта, указанная методология не оптимальна для оценки потребления лекарственных средств у особых категорий пациентов, в том числе у лиц с тяжелыми и жизнеугрожающими инфекциями, а также с нарушениями функции печени и почек, в связи с потенциальными отклонениями режимов дозирования многих препаратов от стандартных. В то же время, точность расчетов при использовании АТС/DDD методологии тем выше, чем ближе значение реально назначавшихся суточных доз к показателю DDD для данного препарата. К сожалению, в связи с отсутствием альтернатив, скорректировать воз-

возможные погрешности, связанные с использованием указанной методологии, не представляется возможным.

Еще одной особенностью дизайна проекта ОПТИМА являлся сбор данных о потреблении АМП на уровне стационаров и отделений путем анализа приходных и/или расходных накладных. Подобный подход был выбран, исходя из целей проекта, и позволил оценить объемы и структуру закупленных препаратов, их распределение по отделениям в рамках стационара, а также затраты ЛПУ. В то же время, в отсутствие сведений о дальнейшей «судьбе» полученных отделением лекарственных средств, нами было принято по умолчанию, что весь препарат использовался по назначению, т.е. для оказания медицинской помощи пациентам данного отделения. Возможные погрешности расчетов, связанные с другими вариантами «цикла жизни» АМП в ЛПУ (передача в другое отделение, списание в связи с истечением срока годности и др.), если они имели место быть, были расценены как не значимые и не учитывались в ходе работы.

Необходимо также подчеркнуть, что общий характер полученных в рамках проекта данных, обусловленный методологией сбора информации, не позволяет напрямую связать их с практикой оказания медицинской помощи конкретным пациентам и оценить рациональность каждого назначения, так же как отсутствие данных о резистентности нозокомиальных патогенов ограничивает возможности по анализу влияния показателей потребления на антибиотикорезистентность в исследовательских центрах.

Несомненно, ограничением проекта является невозможность включения в него всех ОРИТ нашей страны и РБ, и обусловленные объективными причинами погрешности в формировании выборки исследовательских центров, к числу которых следует отнести ее малый в сравнении с общим количеством отделений характер, отсутствие фактора случайности (рандомизации) при выборе центров и неоднородность профиля и контингента пациентов ОРИТ различных ЛПУ. Все вышеуказанное привело к отсутствию единообразия данных в проекте, устранить которое путем стратификации (объединение схожих по какому-либо признаку центров в подгруппы с отдельным анализом их данных) в рамках текущего проекта не позволяет относительно небольшое количество исследовательских центров.

Выраженная вариабельность показателей ограничивает экстраполяцию консолидированных данных проекта на ОРИТ как центров, участвовавших в нем, так и других ЛПУ РФ и РБ. Результаты

исследования позволяют составить представление об общей картине потребления АМП в ОРИТ стационаров, тогда как для оценки показателей в конкретных отделениях, безусловно, следует ориентироваться на локальные данные.

Необходимо отметить, что высокая вариабельность показателей является характерной чертой всех проектов с подобным дизайном, включая вышеупомянутые зарубежные исследования [9–12, 36]. Потенциальным средством повышения репрезентативности данных может стать увеличение количества исследовательских центров для приближения к генеральной совокупности с введением стратификации по профилю ОРИТ (хирургический, неврологический, кардиологический, смешанный и др.), однако до повсеместного внедрения электронного учета оборота лекарственных препаратов в российских ЛПУ выполнение такого проекта не представляется осуществимым.

Определенные затруднения вызывает не только консолидация данных проекта, но и проведение сравнительной оценки показателей различных центров, а также сопоставление результатов работы с данными зарубежных исследований. Причиной тому служат как различия в подходах к оценке, так и невозможность интерпретации данных в отрыве от локальной клинической и эпидемиологической ситуации. В частности, высокие уровни потребления АМП отдельных групп, например карбапенемов и гликопептидов, могут быть как следствием нерационального подхода к назначению указанных препаратов, так и отражением реальных потребностей отделения с учетом распространенности в нем резистентной нозокомиальной микрофлоры.

В связи с описанными особенностями мы не ставили целью привести данные выполненного нами проекта к единому знаменателю и не отдавали приоритета усредненным показателям, однозначно оторванным от реальной ситуации в исследовательских центрах. В текущей публикации мы стремились выделить общие тенденции в подходах к потреблению системных АМП, а также представить данные во всем их разнообразии как основу для дальнейшего использования на локальном уровне и для планирования будущих проектов аналогичного рода.

Помимо уже упомянутой выраженной вариабельности показателей, очевидной тенденцией, выявленной в ходе исследования, являются более высокие уровни потребления АМП в ОРИТ по сравнению с другими отделениями стационара (в среднем в 3–4 раза), что подтверждает информацию о лидирующем положении данных отделений в структуре общего потребления. Так, в 2009 г.



среднее потребление указанных препаратов по стационару составляло 40,2 DBD, тогда как для ОРИТ данный показатель достигал 122,5 DBD, в 2010 г. — 34,4 DBD и 133,8 DBD соответственно. Немаловажным является и тот факт, что на долю ОРИТ приходилось 20,3–31,5% (в отдельных случаях до 63,9%) от общих затрат ЛПУ на АМП. При этом средняя стоимость одних суток терапии одним препаратом в среднетерапевтической дозе у пациентов ОРИТ составляла 444,1–459,8 руб., что в 4,4–6,3 раз выше аналогичного показателя по стационару [14].

Кроме того, в ОРИТ, по сравнению со средними показателями стационара, оказалось значимо более высоким потребление цефалоспоринов (66,5 DBD vs. 13,6 DBD соответственно), преимущественно за счет препаратов III поколения (56 DBD vs. 10,4 DBD), карбапенемов (8,72 DBD vs. 0,24 DBD), фторхинолонов (14,9 DBD vs. 4,3 DBD), нитроимидазолов (12,4 DBD vs. 2,3 DBD) и гликопептидов (2,2 DBD vs. 0,1 DBD) при более низких уровнях потребления пенициллинов (7,8 DBD vs. 11 DBD) и тетрациклинов (0 vs. 1,1 DBD). Описанные изменения в структуре потребления являются закономерными с учетом более тяжелого течения инфекций у пациентов ОРИТ, а также более высокого риска инфицирования полирезистентными возбудителями во время пребывания в отделении указанного профиля.

Оценка рациональности потребления и затрат на закупку препаратов в рамках проекта проводилась сотрудниками ЛПУ, осведомленными о клинической и эпидемиологической ситуации в стационаре, а также о действующей политике применения АМП. Использование такого подхода позволило максимально адаптировать анализ полученных данных к локальным условиям и выявить группу лекарственных средств, использование которых

оценивалось представителями ЛПУ у пациентов ОРИТ как нерациональное. Доля таких препаратов составила 12,2% в 2009 г. и 11,1% в 2010 г., затраты на их закупку в среднем не превышали 2%, что свидетельствует не столько о нерациональной политике распределения ресурсов, сколько об ограниченности бюджета некоторых учреждений. Повышение доли закупки для ОРИТ препаратов выбора позволит улучшить качество оказания медицинской помощи.

### Заключение

Последствия нерационального применения АМП в ОРИТ, по сравнению с другими отделениями ЛПУ, являются более тяжелыми как для пациента, так и для общества. В то же время, в абсолютном большинстве случаев российские врачи не обладают данными об уровне и структуре потребления АМП в стационаре и отделениях, в силу чего не имеют возможности направлено корректировать и оптимизировать стратегию использования препаратов указанной группы. Получение подобных данных с последующим предоставлением их специалистам является важным шагом на пути совершенствования подходов к применению АМП в условиях стационара.

В то же время, необходимо учитывать, что представленные в статье данные отражают ситуацию в ОРИТ стационаров, включенных в исследование, и могут быть экстраполированы на другие учреждения с определенной долей условности. Выбор предпочтительного подхода к оптимизации сложившейся практики применения АМП в ОРИТ и эффективность его внедрения во многом зависят от особенностей конкретного отделения и должны опираться, преимущественно, на локальную оценку показателей потребления.

### Литература

1. Carlet J., Ben Ali A., Chalfine A. Epidemiology and control of antibiotic resistance in the intensive care unit. *Curr Opin Infect Dis* 2004; 17:309-16.
2. Kollef M.H., Fraser V.J. Antibiotic resistance in the intensive care unit. *Ann Intern Med* 2001; 134:298-314.
3. Esen S., Leblebicioglu H. Prevalence of nosocomial infections at intensive care units in Turkey: a multicentre 1-day point prevalence study. *Scand J Infect Dis* 2004; 36(2):144-8.
4. Richards M.J., Edwards J.R., Culver D.H., Gaynes R.P. Nosocomial infections in medical intensive care units in the United States. *National Nosocomial Infections Surveillance System. Crit Care Med* 1999; 27(5):887-92.
5. Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology (ICARE) Surveillance Report, data summary from January 1996 through December 1997: a report from the National Nosocomial Infections Surveillance (NNIS) System. *Am J Infect Control* 1999; 27:279-84.
6. Centers for Disease Control and Prevention. Detailed ICU surveillance component: national nosocomial infection surveillance scheme 1-80. Atlanta, GA: Centers for Disease Control and Prevention, 1997.
7. Руднов В.А., Бельский Д.В., Дехнич А.В., исследовательская группа РИОРИТа — Инфекции в ОРИТ России: результаты национального многоцентрового исследования. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2011; 13(4):294-303.

8. Zarb P., Amadeo B., Muller A., et al. Identification of targets for quality improvement in antimicrobial prescribing: the web-based ESAC Point Prevalence Survey 2009. *J Antimicrob Chemother* 2011; 66(2):443-9.
9. Fridkin S.K., Steward C.D., Edwards J.R., et al. Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in United States hospitals: project ICARE phase 2. Project Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology (ICARE) hospitals. *Clin Infect Dis* 1999; 29(2):245-52.
10. Meyer E., Schwab F., Gastmeier P., Rueden H., Daschner F.D. Surveillance of antimicrobial use and antimicrobial resistance in German intensive care units (SARI): a summary of the data from 2001 through 2004. *Infection* 2006; 34(6):303-9.
11. Walther S.M., Erlandsson M., Burman L.G., et al. Antibiotic prescription practices, consumption and bacterial resistance in a cross section of Swedish intensive care units. *Acta Anaesthesiol Scand* 2002; 46(9):1075-81.
12. Hanberger H., Arman D., Gill H., et al. Surveillance of microbial resistance in European Intensive Care Units: a first report from the Care-ICU programme for improved infection control. *Intensive Care Med* 2009; 35(1):91-100.
13. Паравина Е.В., Жестков А.В., Кулагин О.Л. Комплексный анализ и возможности оптимизации системной антимикробной терапии в многопрофильном стационаре. *Известия Самарского научного центра Российской академии наук* 2010; 12(1):1865-70.
14. Белькова Ю.А., Рачина С.А., Козлов Р.С. и соавт. Потребление и затраты на системные антимикробные препараты в многопрофильных стационарах Российской Федерации и Республики Беларусь: результаты многоцентрового фармакоэпидемиологического исследования. *Клин микробиол антимикроб химиотер* 2012; 14(4):322-41.
15. Available from URL: [www.whocc.no/atc\\_ddd\\_methodology/purpose\\_of\\_the\\_atc\\_ddd\\_system/](http://www.whocc.no/atc_ddd_methodology/purpose_of_the_atc_ddd_system/)
16. World Health Organization. Introduction to Drug Utilization Research. 2003. Available from URL: [www.whocc.no/filearchive/publications/drug\\_utilization\\_research.pdf](http://www.whocc.no/filearchive/publications/drug_utilization_research.pdf)
17. Barenfanger J., Short M.A., Groesch A.A. Improved antimicrobial interventions have benefits. *J Clin Microbiol* 2001; 39:2823-8.
18. Vincent J. — L. Nosocomial infections in adult intensive-care units. *Lancet* 2003; 361:2068-77.
19. Stone P.W., Larson E., Kawar L.N. A systematic audit of economic evidence linking nosocomial infections and infection control interventions:1990-2000. *Am J Infect Control* 2002; 30:145-52.
20. Vincent J.L., Rello J., Marshall J., et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units. *JAMA* 2009; 302(21):2323-9.
21. Angus D.C., Linde-Zwirble W.T., Lidicker J., Clermont G., Carcillo J., Pinsky M.R. Epidemiology of severe sepsis in the United States: analysis of incidence, outcome, and associated costs of care. *Crit Care Med* 2001; 29(7):1303-10.
22. Kollef M.N., Sherman G., Ward S., Fraser V.J. Inadequate antimicrobial treatment of infections: a risk factor for hospital mortality among critically ill patients. *Chest* 1999; 115:462-74.
23. Meyer E., Schwab F., Schroeren-Boersch B., Gastmeier P. Dramatic increase of third-generation cephalosporin-resistant *E. coli* in German intensive care units: secular trends in antibiotic drug use and bacterial resistance, 2001 to 2008. *Crit Care* 2010; 14(3): R113.
24. Rogues A.M., Dumartin C., Amadéo B., et al. Relationship between rates of antimicrobial consumption and the incidence of antimicrobial resistance in *Staphylococcus aureus* and *Pseudomonas aeruginosa* isolates from 47 French hospitals. *Infect Control Hosp Epidemiol* 2007; 28(12):1389-95.
25. Jacoby T.S., Kuchenbecker R.S., Dos Santos R.P., Magedanz L., Guzatto P., Moreira L.B. Impact of hospital-wide infection rate, invasive procedures use and antimicrobial consumption on bacterial resistance inside an intensive care unit. *J Hosp Infect* 2010; 75(1):23-7.
26. Thabet L., Memmi M., Turki A., Messadi A.A. The impact of fluoroquinolones use on antibiotic resistance in an intensive care burn department. *Tunis Med* 2010; 88(10):696-9.
27. Fridkin S.K., Edwards J.R., Courval J.M., et al. The effect of vancomycin and third-generation cephalosporins on prevalence of vancomycin-resistant enterococci in 126 US adult intensive care unit. *Ann Intern Med* 2001; 135:175-83.
28. Saurina G., Quale J.M., Manikal V.M., et al. Antimicrobial resistance in *Enterobacteriaceae* in Brooklyn, NY: epidemiology and relation to antibiotic usage patterns. *J Antimicrob Chemother* 2000; 45:895-8.
29. Lautenbach E., Patel J.B., Bilker W.B., et al. Extended spectrum beta-lactamase-producing *E. coli* and *K. pneumoniae*: risk factors for infection and impact of resistance on outcomes. *Clin Infect Dis* 2001; 32:1162-71.
30. Tacconelli E., De Angelis G., Cataldo M.A., et al. Does antibiotic exposure increase the risk of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) isolation? A systematic review and meta-analysis. *J Antimicrob Chemother* 2008; 61:26-38.
31. Zavaski A.P., Barth A.L., Gaspareto P.B., et al. Risk factors for nosocomial infections due to *Pseudomonas aeruginosa* producing metallo-beta-lactamase in two tertiary-care teaching hospitals. *J Antimicrob Chemother* 2006; 58:882-5.
32. Bassetti M., Righi E., Ansaldi F., et al. Impact of limited cephalosporin use on prevalence of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in the intensive care unit. *J Chemother* 2009; 21(6):633-8.
33. Yong M.K., Buising K.L., Cheng A.C., Thursky K.A. Improved susceptibility of Gram-negative bacteria in an intensive care unit following implementation of a computerized antibiotic decision support system. *J Antimicrob Chemother* 2010; 65(5):1062-9.
34. Fridkin S.K., Lawton R., Edwards J.R., et al. Monitoring antimicrobial use and resistance: comparison with a national benchmark on reducing vancomycin use and

- vancomycin-resistant enterococci. *Hospitals Emerg Infect Dis* 2002; 8(7):702-7.
35. Ananda-Rajah M.R., McBryde E.S., Buising K.L., et al. The role of general quality improvement measures in decreasing the burden of endemic MRSA in a medical-surgical intensive care unit. *Intensive Care Med* 2010; 36(11):1890-8.
36. Meyer E., Gastmeier P., Deja M., Schwab F. Antibiotic consumption and resistance: data from Europe and Germany. *Int J Med Microbiol* 2013; 303(6-7):388-95.
37. Sukhorukova M., Kozyreva V., Ivanchik N., Edelstein M., Kozlov R., on behalf of the ROSNET Study Group. Five-year trends in the prevalence and types of ESBLs and antimicrobial susceptibility of ESBL-producing nosocomial strains of *Enterobacteriaceae* in Russia. *Clinical Microbiology and Infection* 2010; 16(Suppl. 2): S179.
38. Неопубликованные результаты проекта МАРАФОН. НИИИХ, Смоленск, 2014.
39. 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 ICAAC*; 2013 Sep 10-13; Denver, USA. C2-1092.
40. Edelstein M.V., Skleenova E.N., Shevchenko O.V., et al. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study. *Lancet Infect Dis* 2013; 13(10):867-76.
41. Fridkin S.K., Hill H.A., Volkova N.V. Intensive Care Antimicrobial Resistance Epidemiology Project Hospitals et al. Temporal changes in prevalence of antimicrobial resistance in 23 US hospitals. *Emerg Infect Dis* 2002; 8(7):697-701.

## Алгоритм микробиологической диагностики хронической инфекции лёгких у больных муковисцидозом

М.Ю. Чернуха<sup>1</sup>, Л.Р. Аветисян<sup>1</sup>, И.А. Шагинян<sup>1</sup>, Г.В. Алексеева<sup>1</sup>, Л.В. Авакян<sup>2</sup>, Н.Ю. Каширская<sup>3</sup>, Н.И. Капранов<sup>3</sup>, С.Ю. Семькин<sup>2</sup>, Е.А. Сиянова<sup>1</sup>, О.С. Медведева<sup>1</sup>, С.А. Красовский<sup>4</sup>, М.В. Усачева<sup>4</sup>, Е.И. Кондратьева<sup>3</sup>, Е.Л. Амелина<sup>4</sup>, А.Г. Чучалин<sup>4</sup>, А.Л. Гинцбург<sup>1</sup>

<sup>1</sup> ФГБУ ФНИЦЭМ им. Н.Ф. Гамалеи Минздрава России, Москва, Россия

<sup>2</sup> ФГБУ «Российская детская клиническая больница» Минздрава России, Москва, Россия

<sup>3</sup> Медико-генетический научный центр РАМН, Москва, Россия

<sup>4</sup> НИИ пульмонологии ФМБА России, Москва, Россия

Цель работы — разработать алгоритм микробиологической диагностики хронической инфекции лёгких у больных муковисцидозом и апробировать его для мониторинга хронической инфекции у больных детей и взрослых. При разработке алгоритма использовали результаты собственных исследований за период 2008–2013 гг. и данные литературы. В динамике на протяжении двух лет были обследованы 251 ребенок и 26 взрослых, больных муковисцидозом. Для идентификации бактерий использовали бактериологические, биохимические и молекулярно-биологические методы исследования. Установлено, что микроорганизмы в клиническом материале в 2/3 случаев встре-

чаются в ассоциациях, при этом доминирующими у больных с тяжелым течением являются *Pseudomonas aeruginosa* (30,5%), *Burkholderia cepacia* complex (28,7%), *Staphylococcus aureus* (53,3%) и *Achromobacter xylosoxidans* (19%) и грибы рода *Candida* (57,5%). При микробиологическом мониторинге инфекции с интервалом от 3 мес. до 4 лет у 24 детей, больных МВ, с использованием разработанного алгоритма была выявлена хроническая инфекция у 18 пациентов, связанная с бактериями *Burkholderia cepacia* complex, у 6 — с *A. xylosoxidans*, у 5 — с *P. aeruginosa*, у 7 — с *S. aureus*.

**Ключевые слова:** муковисцидоз, алгоритм диагностики, смешанная инфекция.

### Microbiological Diagnosis Algorithm for Chronic Lung Infection in Patients with Cystic Fibrosis

M.Yu. Chernukha<sup>1</sup>, L.R. Avetisyan<sup>1</sup>, I.A. Shaginyan<sup>1</sup>, G.V. Alekseeva<sup>1</sup>, L.V. Avakyan<sup>2</sup>, N.Yu. Kashirskaya<sup>3</sup>, N.I. Kapranov<sup>3</sup>, S.Yu. Semykin<sup>2</sup>, E.A. Siyanova<sup>1</sup>, O.S. Medvedeva<sup>1</sup>, S.A. Krasovskiy<sup>4</sup>, M.V. Usacheva<sup>4</sup>, E.I. Kondratyeva<sup>3</sup>, E.L. Amelina<sup>4</sup>, A.G. Chuchalin<sup>4</sup>, A.L. Gintzburg<sup>1</sup>

<sup>1</sup> Federal Research Center of Epidemiology and Microbiology named after N.F. Gamaleya, Moscow, Russia

<sup>2</sup> Russian Children Clinical Hospital, Moscow, Russia

<sup>3</sup> Scientific Center of Medical Genetics, Moscow, Russia

<sup>4</sup> Pulmonology Research Institute, Moscow, Russia

The objective of this study was to develop algorithm of microbiological diagnosis for chronic lung infection in

patients with cystic fibrosis and implement it for monitoring of chronic infection in children and adults. Data from our own studies performed during the 2008–2013 and published data were used in the algorithm development. A total of 251 children and 26 adults with cystic fibrosis were examined over the two years. Pathogen identification

Контактный адрес:

Марина Юрьевна Чернуха

Эл. почта: chernukha@gamaleya.org

was performed by culture, biochemical, and DNA-based methods. Microorganisms associations were found to be responsible for  $\frac{2}{3}$  cases of infection. The most prevalent pathogens in patients with severe course of the disease were the following: *Pseudomonas aeruginosa* (30.5%), *Burkholderia cepacia* complex (28.7%), *Staphylococcus aureus* (53.3%), *Achromobacter xylosoxidans* (19%), and *Candida* spp. (57.5%). Microbiological monitoring

(at intervals of 3 months to 4 years) using this algorithm in 24 children with cystic fibrosis revealed chronic infection due to *Burkholderia cepacia* complex (18 patients), *A. xylosoxidans* (6 patients), *P. aeruginosa* (5 patients), and *S. aureus* (7 patients).

**Key words:** cystic fibrosis, chronic infection, microbiological diagnosis.

## Введение

Муковисцидоз (МВ), или кистозный фиброз (cystic fibrosis), является наследственным ауто-сомно-рецессивным заболеванием, частота распространенности которого среди белого населения составляет в среднем 1:2500–1:3500 новорожденных. Частота в России значительно ниже — около 1:10000 новорожденных [1]. Болезнь поражает различные системы организма и имеет разнообразную симптоматику, однако продолжительность жизни, в основном, зависит от степени поражения органов дыхания условно-патогенными микроорганизмами, в связи с тем, что основной причиной летальных исходов у 90–95% больных муковисцидозом являются инфекционные процессы в легких, ведущие к развитию сердечно-легочной недостаточности. В 1958 г. медиана выживаемости больных муковисцидозом составляла 6 месяцев, в настоящее время с совершенствованием методов диагностики и возможностей современных методов лечения средняя ожидаемая продолжительность жизни в странах Европы и Америки превысила 40-летний рубеж, а в России в 2012 году, по данным Регистра Московского региона, составила более 39,5 лет [2].

Микроорганизмы, инфицирующие нижние дыхательные пути больного муковисцидозом, определяют лечение, качество жизни, перспективы для трансплантации и общую выживаемость. Точная и своевременная идентификация возбудителей инфекции дыхательных путей имеет важное значение для обеспечения своевременного начала лечения соответствующими антибиотиками с целью элиминации бактериальных патогенов и организации надлежащего инфекционного мониторинга профилактики распространения патогенных микроорганизмов среди больных МВ.

Очень часто правильная микробиологическая диагностика представляет трудности, так как микробная флора дыхательных путей у таких больных представлена часто ассоциациями, а некоторые микроорганизмы проявляют атипичные для своего вида фенотипические свойства, например ауксотрофные у *Pseudomonas aeruginosa* и SCV

(small colony variants — фенотип мелких колоний) у *Staphylococcus aureus*.

При изучении микрофлоры нижних дыхательных путей различных возрастных групп детей, больных муковисцидозом, в международных исследованиях установлено, что доминирующими возбудителями инфекции легких у больных муковисцидозом являются *P. aeruginosa*, *S. aureus* и *Haemophilus influenzae*, а также бактерии *Burkholderia cepacia* complex. Показано, что в первые годы жизни у больных муковисцидозом доминирует золотистый стафилококк, а затем основным возбудителем становится синегнойная палочка. Грибы *Aspergillus fumigatus* и представители рода *Candida* выделяют у больных муковисцидозом в более взрослом возрасте, особенно подвергавшихся многократному лечению антибиотиками.

В последнее время одной из главных причин, приводящих к летальному исходу, является инфекция, вызванная бактериями *B. cepacia*. По данным Регистра Москвы и Московской области, среди больных МВ *B. cepacia* complex встречается у 8,7% пациентов [3]. Этот возбудитель способен вызывать так называемый «*cepacia*-синдром» — некротизирующую пневмонию с септициемией, нередко приводящую к летальному исходу. Инфицирование больных муковисцидозом бактериями комплекса *B. cepacia* представляет особую опасность, так как данный микроорганизм обладает природной устойчивостью к широкому спектру антимикробных препаратов и быстро приобретает резистентность к новым антибиотикам. Такие свойства затрудняют проведение эрадикации бактерий комплекса *B. cepacia* в процессе лечения, способствуют длительной персистенции возбудителя, приводя к быстрому переходу острой инфекции нижних дыхательных путей в хроническую форму и к значительным нарушениям функций легких. Больные, инфицированные *B. cepacia*, являются источником инфекции и представляют опасность для других пациентов [4]. Кроме того, колонизация нижних дыхательных путей бактериями комплекса *B. cepacia* до последнего времени была противопоказанием для пересадки легких, являю-

щейся важной частью программы по увеличению продолжительности жизни у больных муковисцидозом.

Данные последних публикаций и собственные исследования подтверждают значимость в развитии хронической инфекции других видов *неферментирующих грамотрицательных бактерий* (НФГОБ), среди которых особое значение, в связи с большей частотой выделения по сравнению с другими микроорганизмами и фенотипическим сходством с бактериями комплекса *B. cepacia*, приобретает *Achromobacter xylosoxydans*.

Учитывая вышесказанное, целью работы являлась разработка алгоритма микробиологической диагностики хронической инфекции лёгких у больных муковисцидозом и апробация его для мониторинга хронической инфекции у больных детей и взрослых.

## Материал и методы

Исследование проводили в два этапа.

За период с 2008 по 2009 гг. в динамике обследовано 84 ребенка, больных муковисцидозом (г. Москва и Московская область): 40 детей проходили лечение в отделении медицинской генетики РДКБ, 44 — находились на амбулаторном лечении в Московском центре муковисцидоза на базе ГДКБ № 13 им. Н. Ф. Филатова [5].

За период с 2012–2013 гг. было проведено микробиологическое исследование 369 образцов клинического материала, в том числе мокроты и мазков из зева от 167 детей с тяжелым течением муковисцидоза в стадии обострения, наблюдавшихся в РДКБ, и 26 образцов от 26 взрослых больных, наблюдавшихся в НИИ пульмонологии.

У 99 детей образцы брали до и после антибиотикотерапии с интервалом 15–30 дней. У 20 из них был проведен также микробиологический мониторинг с интервалом от 4 до 15 месяцев.

Для идентификации *S. aureus* использовали *желточно-солевой агар* (ЖСА) и 5% кровяной агар, тест на плазмокоагулазу, коммерческие тест-системы StaphyloTest 16 «Lachema» или BioMerieux API Staph. Определение бактерий *P. aeruginosa* проводили высевом на селективную среду — цитримид-агар, 5% кровяной агар, тест на оксидазу, наличие пигмента, характерного запаха (винограда или земляничного мыла), использовали коммерческую тест-систему API 20NE «BioMerieux». Энтеробактерии идентифицировали высевом на агары Эндо, Макконки, Гектоен (Himedia). Для идентификации бактерий *B. cepacia* использовали разработанный алгоритм идентификации и типирования [6], включающий два последовательных

этапа исследования: применение бактериологических, биохимических, других фенотипических методов (выявление гемолиза, способности образования биопленки) и молекулярно-биологических методов. Все штаммы были идентифицированы с помощью коммерческих тест-систем: API 20NE «BioMerieux», 24 NE «Lachema» в соответствии с инструкцией производителя. Рост на селективном агаре для *B. cepacia* (BCSA — *Burkholderia cepacia* selective agar) наблюдали при температуре 37 °C через 24 ч и при 30 °C через 48 ч.

Чувствительность к антимикробным препаратам определяли в соответствии с МУК 4.2.1890–04 методом серийных разведений в бульоне [7], с использованием АТВ-стрипов для стафилококков и синегнойной палочки «BioMerieux». Антибиотики были выбраны в соответствии с рекомендациями для лечения заболеваний, вызванных грамположительными и грамотрицательными бактериями [8]. Генотипирование штаммов проводили методом RAPD-ПЦР со случайным олигонуклеотидным праймером, размером 10 нуклеотидов Sh1 (Short 1) — AATCGGGCTG. Для определения *B. cepacia* использовали ПЦР гена *recA*, специфичного для бактерий комплекса *B. cepacia*, с праймерами BCR1–5' TGACCCGCCGAGAAGAGCAA и BCR25' CTCTTCTTCGTCATCGCCTC [6]. Определение геномвара проводили с помощью ПЦР с геномвар-специфическими праймерами согласно методам, описанным в работах Mahenthalingam E, Bischof J, Byrne SK, Radomski C, Davies JE, Av-Gay Y Vandamme P. DNA-based diagnostic approaches for identification of *Burkholderia cepacia* complex, *Burkholderia vietnamiensis*, *Burkholderia multivorans*, *Burkholderia stabilis*, and *Burkholderia cepacia* genomovars I and III. *J Clin Microbiol* 2000; 38:3165–3173. Для идентификации *Achromobacter xylosoxydans* использовали праймеры на locus 16S рДНК AX-F1–5'-GCAGGAAAGAAACGTCGCGGGT-3' и AX-B1–5'-ATTTCACATCTTTCTTTCCG-3' [9].

В отдельных случаях для подтверждения микробиологического диагноза использовали ПЦР-реалтайм, мультилокусное секвенирование, полное секвенирование генома [10].

## Результаты исследования и обсуждение

Материалом при исследовании нижних дыхательных путей у больных МВ являются мокрота при кашле, мазок из зева после кашля, ларингеальный или назофарингеальный аспират, индуцированная гипертоническим раствором мокрота, *бронхоальвеолярный лаваж* (БАЛ), материал щеточной биопсии при бронхоскопии.

По данным A. C. Equi et al., чувствительность и специфичность результатов посевов мазка из зева после кашля по сравнению с результатами посевов спонтанной мокроты составляет 34 и 100% соответственно. Чувствительность показывает процент положительного результата, полученного методом посева мазка из зева, по сравнению с положительным результатом, полученным при посеве мокроты. Специфичность показывает процент отрицательного результата, полученного методом посева мазка из зева, по сравнению с отрицательным результатом, полученным при посеве мокроты [11].

В работе S. K. Kabra et al. сравнивали результаты, полученные при посеве мазков из зева после кашля, мазков из зева до и после физиотерапии и при посеве мокроты. Чувствительность для выделения *P. aeruginosa* была 40, 42 и 82%, а для *S. aureus* — 57, 50 и 100% соответственно при посеве мазков из зева после кашля, мазков из зева до и после физиотерапии. Специфичность была высокая — 99–100%, как для *P. aeruginosa*, так и для *S. aureus*. Таким образом, наиболее значимым исследованием для больных МВ является посев мокроты [12].

Установлено, что любая задержка, в частности хранение при комнатной температуре (20–25 °С), приводит к увеличению количества быстро растущих бактерий, что может привести к угнетению роста истинных патогенов, и наоборот, хранение в холодильнике (4 °С) может привести к гибели термофильных патогенных микроорганизмов.

Результаты исследований ученых по данному вопросу являются противоречивыми. Согласно Wong K, Roberts MC, Owens L, Fife M, Smith AL. Selective media for the quantification of bacteria in cystic fibrosis sputum. J Med Microbiol 1984; 17:113-119., Williams SG, Kauffman CA. Survival of *Streptococcus pneumoniae* in sputum from patients with pneumonia. J Clin Microbiol 1978; 7:3-5., хранение мокроты при температуре 4 °С в течение 48 часов не оказывает влияния на количественное содержание *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *H. influenzae* или *S. pneumoniae*. Gould et al. установили, что в 8,7% образцов клинического материала *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis* и *S. pneumoniae* не выдерживают хранения при температуре 4 °С в течение 48 ч. Pye et al. показали, что в 24% образцов жизнеспособность *P. aeruginosa* была снижена в 10 раз. Согласно данным Pitt TL, Govan JRW. Pseudomonas cepacia in cystic fibrosis patients. PHLS Microbiol Digest 1993; 10:69-72, бактерии *B. cepacia* погибают в случае хранения мокроты при температуре 4 °С [13].

Перед посевом мокроту предварительно отмыывают в стерильном изотоническом растворе хлорида натрия и гомогенизируют механическим спо-

собом — путем перемешивания в течение 10 мин. стерильными микробиологическими бусами или химическими методами — путем обработки дитиотреитолом.

Обязательным для установления диагноза хронической инфекции, вызванной ассоциацией возбудителей, является неоднократное в течение 6 месяцев выделение чистой культуры микроорганизмов (так называемый «золотой стандарт»). Поэтому посев мокроты осуществляют на универсальные среды: 5% кровяной и шоколадный агары с наложением на поверхность дисков с гентамицином и оптохином для выявления *Haemophilus influenzae* и *Streptococcus pneumoniae* и селективные среды для выделения *S. aureus*, *P. aeruginosa*, *B. cepacia*, *Candida* spp., *Enterobacteriaceae* и НФГБ (ЖСА, цетримидный агар, ВКСА, Сабуро, Эндо).

При анализе данных бактериологических посевов установлено, что микроорганизмы выделяются у 61,9% детей в возрасте до 1 года, у 92,9% — в возрасте 1–4 лет, у 93,8% — в возрасте 5–7 лет и в возрасте 8–14 и 15–18 у 100% детей. Это свидетельствует о том, что колонизация легких микроорганизмами у больных муковисцидозом начинается фактически с первых дней после рождения и достигает максимума уже к 5 годам жизни. При этом, если в группе детей до 1 года *S. aureus* выявляется только у 28,6% детей, а *P. aeruginosa* — у 19%, то в возрасте 5–7 лет золотистый стафилококк обнаруживается у 87,5% детей, а *P. aeruginosa* — у 31,2% детей. Таким образом, только в возрасте до 1 года более чем у 1/3 больных муковисцидозом нижние дыхательные пути еще не обсеменены микроорганизмами, в возрасте 1–4 лет нижние дыхательные пути обсеменены почти у всех больных (92,9%), а к 8–18 годам — у 100% больных. Хроническая стафилококковая, синегнойная или смешанная инфекция начинает диагностироваться у 25% детей уже в возрасте 1–4 лет, в возрасте 5–7 лет — у 50% больных, в возрасте 8–14 лет — у 65% и к 18 годам — у 80% больных муковисцидозом [5]. При этом установлено, что в 2/3 случаев хроническая инфекция легких осуществляется не монокультурой, а ассоциацией микроорганизмов, причем у госпитализированных больных, в отличие от амбулаторных, эти ассоциации представлены, как правило, не двумя, а тремя и более видами микроорганизмов. За рубежом эти показатели в два раза ниже — в 35% исследуемых образцов БАЛ выявляют рост двух микроорганизмов и в 10% случаев ассоциации представлены тремя и более видами микроорганизмов. Наиболее часто встречающейся ассоциацией является сочетание *P. aeruginosa* + *S. aureus* (18,2%), *P. aeruginosa* + *B. cepacia* (9,1%). В 18% случаев от

больных в составе микробных ассоциаций выделяли одновременно мукоидный и немучоидный фенотип *P. aeruginosa*. В составе ассоциаций, кроме *P. aeruginosa*, часто выявляются и другие представители НФГБ — *B. cepacia*, *Stenotrophomonas maltophilia*, *Acinetobacter baumannii*, что, вероятно, обусловлено тропизмом этих видов микроорганизмов к легочной ткани. Полученные данные послужили основанием для заключения, что для больных муковисцидозом характерным проявлением инфекционных осложнений является смешанная инфекция. Таким образом, при анализе микрофлоры детей, больных муковисцидозом, можно утверждать, что с увеличением возраста у больных формируются постоянные очаги хронической легочной инфекции, основными возбудителями которой являются *P. aeruginosa* и *S. aureus* [5].

Хроническая смешанная инфекция, как правило, представляет собой значительно большую проблему, чем моноинфекция — как для врачей, проводящих лечение инфекционного осложнения, так и для микробиологов и эпидемиологов. В экспериментах на мышах было показано, что смешанная инфекция, вызванная *P. aeruginosa* и *B. cepacia*, усиливает вирулентные свойства возбудителей, и в течение суток наблюдается гибель всех животных, т.е. доза заражения из  $LD_{50}$  превращается в  $LD_{100}$  [14, 15]. Полученные данные позволили выдвинуть предположение, что симбиотические взаимоотношения исследуемых бактерий *in vivo* также выражаются в увеличении продукции факторов патогенности и утяжелении инфекционного процесса у животных. Усиление вирулентности *in vivo* видов *P. aeruginosa* и *B. cepacia* свидетельствует о возможности взаимного использования компонентов регуляторной системы «Quorum sensing» близкородственными бактериями. В этом случае бактерии выбирают стратегию развития острой инфекции, что может быть одной из причин ухудшения клинического состояния больных муковисцидозом, страдающих смешанной инфекцией. Нами впервые установлено, что более 83% клинических штаммов *B. cepacia* способны формировать биопленку, колонизировать поверхности органов и тканей, формировать постоянные резервуары инфекции в госпитальной среде. Способность бактерий к формированию биопленки считается маркером возбудителя, который может вызывать хроническую инфекцию. Биопленки являются клинически важным состоянием бактерий в легочной ткани, потому что в таком состоянии бактерии устойчивы к эрадикации фагоцитами и их элиминации при лечении антибиотиками, при этом *минимальная подавляющая концентрация*

(МПК) антибиотика увеличивается в 100 и более раз [16].

На основании проведенных исследований, многолетнего опыта лаборатории и анализа данных зарубежных авторов нами разработан алгоритм микробиологической диагностики хронической легочной инфекции у больных МВ (рисунок) и апробирован при обследовании 167 детей и 26 взрослых с изучением 369 образцов мокроты, полученной у них.

### **Результаты, полученные при апробации алгоритма исследования образцов клинического материала от больных муковисцидозом**

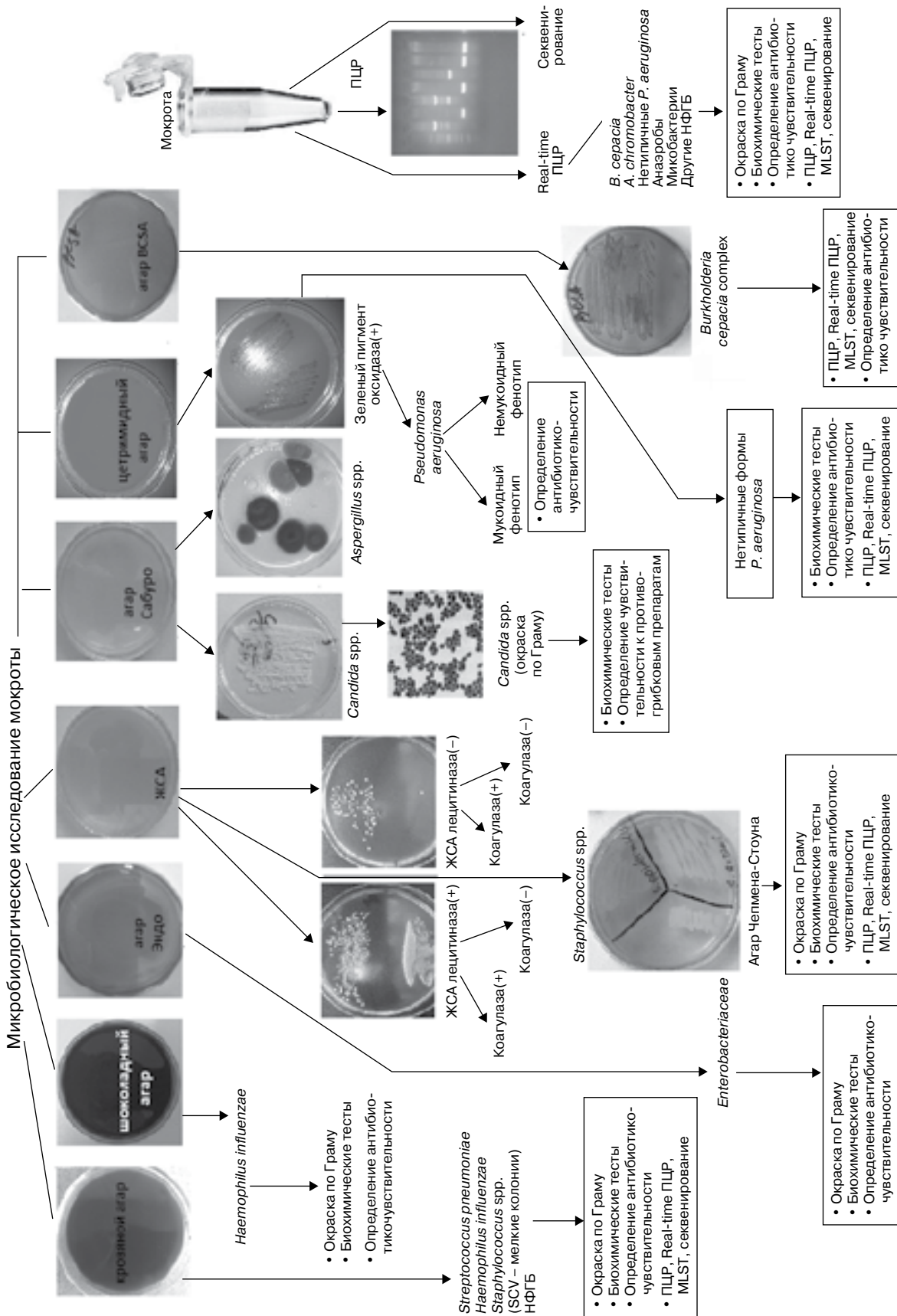
При учете посева материала на элективные питательные среды было установлено, что микроорганизмы в клиническом материале встречаются в ассоциациях. При этом доминирующими микроорганизмами у больных с тяжелым течением МК являются: *P. aeruginosa* — у 51 больного ребенка (30,5%), *B. cepacia* complex — у 48 (28,7%), *S. aureus* — у 89 (53,3%) и *A. xylosoxidans* — у 15 (9%), грибы рода *Candida* — у 96 (57,5%). При этом грибы у 21 пациента были обнаружены только при вторичном посеве после антибиотикотерапии как наглядный результат влияния продолжительности антибиотикотерапии в максимальной дозе на появление грибов и необходимость их контроля при проведении данного вида терапии у больных с муковисцидозом.

Микроорганизмы почти в 100% случаях встречались в ассоциациях. У 8 больных высевали из материала одновременно *B. cepacia*, *P. aeruginosa* и *S. aureus*. Ассоциация *B. cepacia* и *P. aeruginosa* была у 18 больных, ассоциация *P. aeruginosa* и *S. aureus* — у 15 больных, *B. cepacia* и *S. aureus* — у 12 больных.

### **Идентификация золотистого стафилококка**

Идентификацию стафилококков проводили на селективной среде ЖСА. На основании фенотипических свойств — наличия пигмента и лецитиназной активности 173 штамма стафилококков были отнесены к виду *S. aureus*. Для подтверждения принадлежности стафилококка к виду *S. aureus* необходимо использовать тест на коагулазу — фермент, образуемый определенными видами микроорганизмов рода *Staphylococcus*, который вызывает свертывание плазмы крови. Летициназоположительные стафилококки, характеризующиеся положительным тестом на коагулазу, были отнесены к виду *S. aureus*. Коагулазу продуцируют также *S. intermedius* и *S. hyicus*, которые





Алгоритм диагностики хронической легочной инфекции у больных МВ.

редко присутствуют в клиническом материале. В некоторых случаях идентификацию стафилококков до вида проводили с помощью коммерческой тест-системы Staph 16 (Lachema).

У больных МВ встречаются атипичные формы золотистого стафилококка, которые трудно выделять и идентифицировать общепринятыми методами из-за их замедленного роста и нетипичных для стафилококков свойств. Такие атипичные формы называют штаммами с фенотипом мелких колоний (small-colony variant – SCV). Бактерии медленно растут, в результате через 48 часов роста формируются очень маленькие без пигмента и гемолиза колонии, имеющие «fried-egg» фенотип («яичницы-глазуньи») или точечный фенотип, редко – мукоидный фенотип. SCV стафилококки имеют также другие атипичные, метаболически не свойственные нормальным стафилококкам свойства. Могут быть лецитиназоотрицательными, слабо коагулазоположительными, характеризоваться отсутствием фермента маннитола, ауксотрофными по гемину, тимидину и менадиону и характеризоваться возможностью возврата в родительскую форму. Они часто ассоциируются с персистентной инфекцией и обладают резистентностью к антибиотикам [17].

По данным С. Gómez-González et al., распространенность SCV *S. aureus* в клинических экзemplарах составляет приблизительно 1%, а среди больных муковисцидозом до 17%. SCV *S. aureus* может часто высеваться от пациентов, которые получали гентамицин или другие аминогликозиды [18]. Часто золотистый стафилококк может не идентифицироваться при смешанных инфекциях с *P. aeruginosa*: длительный рост *S. aureus* в присутствии экзопродукта 4-гидрокси-2-гептилхинолон-N-оксида бактерий *P. aeruginosa*, ингибирующего рост стафилококков, приводит к образованию SCV. Чаще SCV выделяется из нижних дыхательных путей больных МВ старших возрастных групп в ассоциации с *P. aeruginosa* [19].

Разные модели инфекции на животных показывают различный уровень вирулентности SCV по сравнению с типичным *S. aureus*. Моделирование септического артрита на мышях показывает, что SCV более вирулентны, чем типичные стафилококки. Модель эндокардита на кроликах не подтвердила различия в вирулентности у типичных и SCV стафилококков. На модели *Caenorhabditis elegans* было показано, что SCV менее вирулентны, чем первичные родственные изоляты [17].

Лабораторная диагностика и определение чувствительности к антибиотикам атипичных форм золотистого стафилококка могут иметь существенное значение для выбора тактики антимикробной

терапии стафилококковой инфекции у больных МВ.

В результате наших исследований были выделены 12 штаммов SCV. При этом в 6 случаях наблюдали смешанную инфекцию с *P. aeruginosa*. 4 из выделенных штамма были резистентными более чем к трём группам антибиотиков, у двух из которых выявлен ген *tesA*. Поэтому при выделении штаммов с SCV фенотипом необходимо подтвердить принадлежность к виду *S. aureus* с использованием молекулярно-генетических методов (ПЦР, MLST) и исследовать на антибиотикочувствительность.

Другим важным моментом в диагностике стафилококковой инфекции является идентификация *метициллинорезистентных стафилококков* (MRS), среди которых особый интерес представляют MRSA.

Определение чувствительности к антибиотикам 208 штаммов и выявление MRS проводили диско-диффузионным методом, 82 штамма из этих образцов проверяли также с помощью АТВ стрипов (BioMerieux). Результаты тестов показали, что 31 (15%) штамм устойчив к оксациллину. Тест на коагулазу показал, что 15 из них были коагулазоположительными, что позволило нам, учитывая также пигментообразование и лецитиназную активность, отнести их к MRSA, а остальные 16 штаммов – к метициллинрезистентным *коагулидоотрицательным стафилококкам* (КОС).

Определение чувствительности к антибиотикам 82 штаммов стафилококков с помощью АТВ стрипов показало, что 29 из них были резистентны менее чем к трем антибиотикам, 31 – к 3–5 антибиотикам, 22 – более чем к 5 антибиотикам. 71 из 82 (88,7%) штаммов был устойчив к гентамицину, 69 (84,1%) – к пенициллину, 50 (61%) – к эритромицину. К ванкомицину и линезолиду были чувствительны 100%, к рифампицину и фузидину – 97,9 и 93,8% штаммов соответственно.

С клинической точки зрения важно дифференцировать штаммы, имеющие ген *tesA*, обуславливающий резистентность ко многим антибиотикам, от штаммов с другими редко встречающимися механизмами резистентности. При стафилококковых инфекциях, вызванных штаммами, характеризующимися наличием гена *tesA*, терапия бета-лактамами антибиотиками (пенициллинами, цефалоспоридами, карбапенемами) неэффективна, кроме того, эти штаммы часто бывают резистентны практически ко всем другим классам антибиотиков, за исключением гликопептидов (ванкомицин, тейкопланин).

С помощью ПЦР гена *tesA* было установлено, что у 29 штаммов резистентность к оксациллину

обусловлена наличием гена *mecA*. Резистентность к оксациллину двух остальных штаммов можно объяснить гиперпродукцией  $\beta$ -лактамазы BOR-SA (borderline *S. aureus*), либо новой, модифицирующей способностью связывания пенициллина (MOD-SA) или наличием гена *mecC*, т.е. нового варианта гена *mecA*, идентичность которого с *mecA* составляет примерно 70%.

Так как способность к формированию биопленок свойственна штаммам, вызывающим хроническую инфекцию, нами было изучено формирование биопленок у 106 штаммов стафилококков. По способности формировать биопленки были разделены на три группы: первая — обладающие выраженной способностью к формированию биопленки; вторая — с умеренной способностью образовывать биопленки; третья — с низкой способностью или отсутствием способности формирования биопленки. Установлено, что из 106 изученных изолятов у 16 штаммов (15,1%) наблюдали выраженную способность к формированию биопленки, у 54 (50,9%) — умеренную, у 36 штаммов (40%) низкую.

Основным экзополисахаридом, продуцируемым *S. aureus* и *S. epidermidis*, с помощью которого происходит межклеточное взаимодействие при образовании биопленок, является *полисахарид межклеточной адгезии* (PIA), также известный как *поли-N-ацетилглюкозамин* (PNAG). Синтез PIA/PNAG кодируется *ica* опероном, состоящим из 4 генов: *icaA*, *icaB*, *icaC* и *icaD* [20]. Ключевыми продуктами являются трансмембранные протеины IcaA и IcaD, которые участвуют в синтезе PNAG. В связи с этим одним из направлений дальнейшего изучения штаммов стафилококков, выделенных от больных муковисцидозом, будет исследование на наличие генов *icaA* и *icaD*.

Таким образом, для точной идентификации видов стафилококков необходимо использовать комплекс бактериологических, биохимических, молекулярно-генетических методов.

### Идентификация неферментирующих грамотрицательных бактерий

Среди микроорганизмов, вызывающих инфекцию у больных муковисцидозом, значительное место занимают грамотрицательные неферментирующие бактерии, общими признаками которых являются природная устойчивость ко многим антибиотикам, высокая резистентность к дезинфектантам и распространение в больничных стационарах от больного к больному с помощью рук и выделений медперсонала. Грамотрицательные неферментирующие бактерии принадлежат к нескольким родам, и условно могут быть разделены на **оксидазопо-**

**ложительные** — роды *Pseudomonas*, *Burkholderia*, *Achromobacter*, *Moraxella*, *Stenotrophomonas*, группу бактерий WO-1 (weak oxidizer) со слабой оксидазной активностью, группу *Pseudomonas* подобных бактерий и **оксидазоотрицательные** — род *Acinetobacter*, виды *Chryseomonas luteola* и *Flavimonas oryzihabitans* [21].

### Идентификация *Pseudomonas aeruginosa*.

Род *Pseudomonas* (sensu stricto) включает 11 видов: *P. aeruginosa*, *P. fluorescens*, *P. putida*, *P. veronii*, *P. monteilii*, *P. stutzeri*, *P. mendocina*, *P. pseudoalcaligenes*, *P. alcaligenes*, *P. luteola*, *P. oryzihabitans*. Для больных муковисцидозом наиболее значимым является *P. aeruginosa*.

Типичные изоляты синегнойной палочки идентифицируют по таким свойствам, как пигментообразование, положительный тест на оксидазу, рост при 42 °С, характерный земляничный запах, рост на цетримидном агаре. При этом от больных МВ с хронической синегнойной инфекцией часто изолируют атипичные формы *P. aeruginosa*, которых трудно идентифицировать без применения молекулярно-генетических методов (ПЦР) [22].

При исследовании образцов мокроты от больных детей за период 2012–2013 гг. бактерии *P. aeruginosa* были выделены от 51 ребенка (30,5%). При этом от 25 детей была изолирована *P. aeruginosa* с мукоидным фенотипом, который характерен для хронической синегнойной инфекции легких. У 10 детей выделяли мукоидный и немучоидный фенотипы одновременно. От 16 детей были выделены и идентифицированы штаммы с немучоидным фенотипом. Мучоидные штаммы при хронической инфекции резистентны к защитным силам организма и лечению антибиотиками, что обусловлено наличием таких факторов патогенности, как альгинат и рамнолипид, продукцию которых регулирует система *quorum sensing*, ответственная, помимо синтеза ряда факторов патогенности, и за образование биопленки [23].

Развитию хронической синегнойной инфекции предшествует инфицирование меняющимися штаммами *P. aeruginosa*, при этом штаммы отличаются друг от друга. Установление хронической инфекции происходит благодаря образованию биопленок и адаптации в легких больных МВ штаммов: они переходят в мучоидную форму, становятся гипермутабельными и соответственно резистентными к антибиотикам [24]. Поэтому дополнительными методами исследования хронической синегнойной инфекции у больных МВ могут быть изучение способности образовывать биопленку и выявление гипермутабельных штаммов.

Исследование чувствительности штаммов *P. aeruginosa*, выделенных от больных муковисцидозом, с помощью тест-системы АТВ и диско-диффузионным методом показало, что 100% штаммов *P. aeruginosa* были чувствительны к колистину, 85,5% — к цефтазидиму, 82% — к меропенему, 71% штаммов к имипенему, азлоциллину, левофлоксацину и тобрамицину, 75% штаммов — к офлоксацину и ципрофлоксацину, 97% — пиперациллину/тазобактаму, 92% — к пиперациллину.

82% штаммов *P. aeruginosa* были устойчивы к ампициллину/сульбактаму, 79% — к ко-тримоксазолу, 79% — к цефотаксиму, 62,5% — к цефтриаксону и 83% к левомицетину. (хлорамфениколу).

Современные схемы терапии с использованием ингаляционных форм тобрамицина и системной антибактериальной терапии показали высокую эффективность при первичном, интермиттирующем и хроническом высева *P. aeruginosa*. В связи с этим очень важно своевременно установить диагноз синегнойной инфекции и организовать мониторинг флоры мокроты [25].

Согласно нашим исследованиям [5], в группе детей до 1 года у 19% встречается *P. aeruginosa*, а в возрасте 5–7 лет *P. aeruginosa* встречается уже у 31,2% детей. С возрастом процент высева *P. aeruginosa* увеличивается.

Таким образом, учитывая колонизацию дыхательных путей *P. aeruginosa* в раннем детском возрасте, необходимо осуществлять мониторинг микрофлоры сразу после постановки диагноза муковисцидоза.

#### Идентификация *Achromobacter xylosoxidans*.

*A. xylosoxidans* — опортунистический патоген, оксидазо- и каталазоположительный грамотрицательный неферментирующий микроорганизм. Обладает природной резистентностью ко многим антибиотикам.

В последнее время хроническая инфекция, вызванная *Achromobacter xylosoxidans*, у больных муковисцидозом встречается часто. Согласно нашим данным, третьим по частоте встречаемости из НФГБ является *Achromobacter xylosoxidans*, который при исследовании образцов от больных детей за 2012–2013 гг. выделяли в 9% случаев.

Очень часто *A. xylosoxidans* ложно диагностируют как *B. cepacia* complex в связи с их фенотипическим сходством при культивировании на 5% кровяном агаре и ростом на ВКСА — селективной для *B. cepacia* среде. Для подтверждения принадлежности бактерии к виду *A. xylosoxidans* необходимо использовать тест-системы API 20 NE (BioMerieux) и ПЦР для выявления локуса в 16S рДНК со специфическими праймерами AX-F1 и AX-B1 [9].

#### Идентификация *Burkholderia cepacia* complex.

Продолжительность жизни пациентов с муковисцидозом ассоциирована с комплексом *B. cepacia*. Изучение данного возбудителя и поиск адекватных методов антибактериальной терапии являются предметом исследования последних лет. В отличие от терапии синегнойной инфекции, не разработано эффективных с высокой степенью доказательности схем антибактериальной терапии. Для РФ характерна высокая частота данной инфекции, в отличие от других стран, что обуславливает актуальность и необходимость организации идентификации возбудителя и мониторинга его антибиотикорезистентности [3].

В настоящее время *B. cepacia* complex включает 17 видов микроорганизмов: *B. cepacia*, *B. multivorans*, *B. cenocepacia*, *B. stabilis*, *B. vietnamiensis*, *B. dolosa*, *B. ambifaria*, *B. pyrrocinia*, *B. anthina*, *B. ubonensis*, *B. latens*, *B. diffusa*, *B. arboris*, *B. seminalis*, *B. metallica*, *B. contaminans*, *B. lata* [26].

Точная идентификация неферментирующих грамотрицательных бактерий, выделенных от больных МВ, является наиболее сложной задачей. Очень часто нетипичные по фенотипическим свойствам микроорганизмы ошибочно могут диагностироваться как другие виды микроорганизмов. Ложная идентификация *P. aeruginosa* или *B. cepacia* complex могут иметь нежелательные последствия, ведущие к выбору неправильной терапии и изоляции пациентов.

Например, в нашем исследовании два штамма атипичной *P. aeruginosa* и два штамма *A. xylosoxidans* были неправильно идентифицированы API 20NE как *B. cepacia*, 12 штаммов *B. cepacia* биохимическими тестами (Lachema) были неправильно идентифицированы как другие НФГБ. Около 3,4% штаммов биохимическими тестами не удалось идентифицировать вообще. Для окончательной точной идентификации были использованы молекулярно-генетические методы.

D. L. Kiska et al. показали в своей работе, что точность идентификации НФГБ с помощью четырех различных коммерческих тест-систем составляет 57–80%, а точность идентификации *B. cepacia* — 43–86%. При этом все тесты идентифицировали НФГБ, не являющиеся *B. cepacia*, как *B. cepacia* [27].

Wellinghausen N, Köthe J, Wirths B, Sigge A, Poppert S. Superiority of molecular techniques for identification of Gram-negative, oxidase-positive rods, including morphologically nontypical *Pseudomonas aeruginosa*, from patients with cystic fibrosis. J Clin Microbiol 2005; 43:4070-4075, сравнивали результаты идентификации с помощью API 20NE 88

Таблица 1. Микробиологический мониторинг 24 детей, больных МВ

Микроорганизм	Интервал обследования	Хроническая инфекция	Штамм не менялся (RAPD-PCR)
<i>Burkholderia cepacia</i> complex	2 мес. (4 года)	18	18
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	2–14 мес.	6	6
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	3–15 мес.	5	Нет данных
<i>Staphylococcus aureus</i>	4–15 мес.	7	4

Таблица 2. Микробиологическая эффективность антибиотикотерапии у детей с МВ

Микроорганизм	Число детей, у которых выделяли микроорганизм до антибиотикотерапии	Число детей, у которых выделяли микроорганизм после антибиотикотерапии, абс. (%)
<i>P. aeruginosa</i>	34	14 (41,2)
<i>S. aureus</i>	58	15 (24,2)
<i>B. cepacia</i> complex	36	у 27 (75,0)
<i>B. xylosoxidans</i>	9	5 (55,5)
<i>Candida</i> spp.	42	34 (80,9)

грамотрицательных оксидазоположительных палочек с результатами секвенирования 16S rRNA. Точность идентификации составляла 17%.

В связи с этим методы, основанные на ПЦР, в частности real-time ПЦР, могут быть незаменимыми в сложных ситуациях.

Для точной идентификации *B. cepacia* complex необходимо соблюдать следующую схему:

1) посев мокроты на 5% кровяной агар, ВССА с дальнейшим выделением чистой культуры;

2) исследование чистой культуры молекулярно-генетическими методами: ПЦР на *recA* ген [6];

3) исследование мокроты молекулярно-генетическими методами [28].

#### Идентификация анаэробной инфекции.

В результате процессов в легких при муковисцидозе, приводящих к нарушению мукоцилиарного очищения, изменяется газообмен в легких и могут создаваться анаэробные условия, что способствует возникновению анаэробной инфекции. Наши исследования показали, что причиной легочной инфекции могут быть также анаэробные микроорганизмы. У двух детей классические бактериологические методы не позволили идентифицировать возбудителя легочной инфекции. При исследовании мокроты с помощью real-time ПЦР были выявлены анаэробные микроорганизмы. Для выращивания и идентификации анаэробов необходимы специальные анаэробные условия (анаэрозат). При отсутствии анаэрозата методом выбора является ПЦР real-time, с помощью которой идентификация анаэробов возможна непосредственно в мокроте.

#### Мониторинг микрофлоры верхних дыхательных путей

Вторичный посев клинического материала от детей после антибиотикотерапии дал возможность оценить эффективность антибиотикотерапии у больных МВ. При этом было установлено, что у 41 ребенка при первичном посеве были выделены бактерии *P. aeruginosa*. Эффективность антибиотикотерапии проверяли у 34 больных, из которых у 14 (41,2%) выделяли *P. aeruginosa* и после проведенного лечения.

Из 62 детей, у которых при первичном посеве выделяли *S. aureus*, эффективность лечения проверяли у 58, из которых у 15 (26%) выделили *S. aureus* после антибиотикотерапии.

У 45 детей при первичном посеве идентифицировали бактерии *B. cepacia* complex (у 35 — *B. cenocepacia*, у 1 — *B. contaminans* и у 1 — *B. vietnamensis*). Результаты лечения проверяли у 36 больных, из которых у 27 (75%) повторно выделяли бактерии *B. cepacia* complex. Все 27 штаммов, выделенных повторно, относились к виду *B. cenocepacia*. Бактерии, принадлежавшие к видам *B. contaminans* и *B. vietnamensis*, не были выделены после проведенного лечения.

Из 9 детей, у которых при первичном посеве выделяли *A. xylosoxidans*, у 5 (55%) высевали этот вид микроорганизма после лечения антибиотиками.

У 42 детей при первичном посеве были выделены грибы рода *Candida*. У 34 из них выделяли грибы рода *Candida* при вторичном посеве после антибиотикотерапии. У 21 пациента при первом посеве не

выделяли грибы рода *Candida*. Однако повторно после антибиотикотерапии они были обнаружены.

Новые данные, касающиеся хронической инфекции у больных муковисцидозом, можно получить в результате постоянного мониторинга пациентов с использованием стандартизованных методов микробиологической диагностики, включая молекулярно-генетические методы.

Микробиологический мониторинг 24 детей, больных МВ, позволил выявить хроническую инфекцию у 18 больных, связанную с бактериями *Burkholderia cepacia* complex (интервал 2–12 мес. — 4 года), у 6 — с *A. xylosoxidans* (интервал 2–14 мес.), у 5 — с *P. aeruginosa* (интервал 3–15 мес.), у 7 — с *S. aureus* (интервал 4–15 мес.) (табл. 1).

При этом с помощью RAPD-PCR было установлено, что у 18 больных с хронической инфекцией, вызванной бактериями *B. cepacia* complex, штамм, выделенный в начале исследования, идентичен со штаммами, выделенными через 2 месяца и до 4 лет наблюдения, т.е. в 100% случаев при хронической инфекции, вызванной бактериями комплекса *B. cepacia*, штаммы не меняются. Смена штамма не наблюдалась у 6 больных с хронической *A. xylosoxidans* инфекцией, взятых под наблюдение, а также у 4 больных с хронической инфекцией, вызванной *S. aureus*. Эти данные свидетельствуют о персистенции штаммов доминирующих микроорганизмов у больного МВ и невозможности элиминировать их с помощью проводимой антибиотикотерапии (табл. 2).

В связи с этим при диагностике хронической инфекции необходимо проведение молекулярно-генетического мониторинга штаммов, выделенных через определенные интервалы времени.

Таким образом, эффект антибиотикотерапии при лечении синегнойной инфекции наблюдался у 58,8% больных муковисцидозом, в случаях золотистого стафилококка — у 75,8%, *B. cepacia* complex — у 27%, *A. xylosoxidans* — у 45%, грибов рода *Candida* — 19%. Отсутствие высева *B. cepacia* у 27% при повторном исследовании не является окончательным подтверждением элиминации данного микроорганизма в связи с вероятностью перехода этих бактерий в некультивируемое состояние. У 21 пациента грибы рода *Candida* были обнаружены только при вторичном посеве после антибиотикотерапии.

Полученные данные подтвердили необходимость применения комплекса бактериологических, биохимических и молекулярно-генетических методов для диагностики хронической смешанной инфекции легких.

## Выводы

1. Мониторинг микрофлоры нижних дыхательных путей необходимо начинать сразу после постановки диагноза МВ.

2. Для диагностики хронической инфекции нижних дыхательных путей клинические образцы необходимо брать при каждом посещении поликлиники (не реже 1 раза в 3 месяца) или во время госпитализации при обострениях.

3. Из всех клинических образцов мокрота является рекомендуемым материалом для регулярного исследования у больных МВ. Исследование мазка из зева проводят только при невозможности получить мокроту.

4. При постоянных отрицательных результатах посева мазка из зева, но при ухудшении функции легких необходимо исследовать индуцированную гипертоническим раствором мокроту или БАЛ.

5. Исследования мокроты следует проводить не позднее 2 ч после сбора; 2–3-часовое охлаждение не влияет на жизнеспособность микрофлоры мокроты; при удлинении сроков исследования образцы должны храниться в холодильнике при температуре 4 °С [29].

6. Результаты бактериологического исследования мокроты, посеянной позднее 2–3 часов после отбора, должны интерпретироваться с осторожностью.

7. Идентификацию типичных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* можно проводить на основании таких фенотипических свойств как пигментообразование, положительная оксидазная реакция, рост при 42 °С.

8. Наличие бактерий *Pseudomonas aeruginosa*, *Burkholderia cepacia* complex и *Staphylococcus aureus* в образце должно учитываться независимо от количества.

9. Для выделения *S. aureus*, *H. influenzae*, *B. cepacia* complex и грибов бактериологи должны использовать селективные среды.

10. Комерческие тест-системы не должны использоваться для идентификации бактерий *B. cepacia* complex, а также *Pandoraea* spp., *Ralstonia* spp., *Burkholderia gladioli* [13].

11. Для подтверждения диагноза инфекции, вызванной *B. cepacia* complex, необходимо использовать ПЦР для гена *recA*.

12. Идентификацию атипичных бактерий *B. cepacia* complex, *S. maltophilia*, *Achromobacter* spp. и *P. aeruginosa* можно проводить только с использованием молекулярно-генетических методов.

13. Штаммы бактерий *B. cepacia* complex должны далее быть проверены на принадлежность к эпидемическому генотипу ST 709 [1].

14. Идентификация доминирующих микроорганизмов и определение их чувствительности к антибиотикам являются сложными задачами, поэтому все исследования должны проводиться в лабораториях,

оснащенных современным оборудованием, имеющих специалистов-бактериологов, владеющих современными молекулярно-генетическими методами.

## Литература

1. Воронина О.Л., Чернуха М.Ю., Шагинян И.А., Кунда М.С., Аветисян Л.Р., Орлова А.А., Лунин В.Г., Капранов Н.И., Амелина Е.Л., Чучалин А.Г., Гинцбург А.Л. Характеристика генотипов штаммов *Burkholderia cepacia* complex, выделенных от больных в стационарах Российской Федерации. Молекулярная генетика, микробиология и вирусология, 2013; 2:22-30.
2. Красовский С.А., Амелина Е.Л., Черняк А.В., Каширская Н.Ю., Никонова В.С., Воронкова А.Ю., Кондратьева Е.И., Самойленко В.А., Шерман В.Д., Капранов Н.И., Усачева М.В., Науменко Ж.К., Горинова Ю.В., Чучалин А.Г. Роль регистра Московского региона в ведении больных муковисцидозом. Пульмонология. 2013; 2:27-33.
3. Красовский С.А., Никонова В.С., Каширская Н.Ю., Кондратьева Е.И., Черняк А.В., Капранов Н.И., Амелина Е.Л., Шерман В.Д., Самойленко В.А., Воронкова А.Ю., Шабалова Л.А., Симонова О.И., Усачева М.В., Черников В.В. Клинико-генетическая, микробиологическая и функциональная характеристика больных муковисцидозом, проживающих в Москве и Московской области. Вопросы современной педиатрии 2013; 1:24-30.
4. Чернуха М.Ю., Шагинян И.А., Капранов Н.И., Алексеева Г.В., Каширская Н.Ю., Аветисян Л.Р., Семейкин С.Ю., Данилина Г.А., Пивкина Н.В. Персистенция *Burkholderia cepacia* у больных муковисцидозом. Ж микробиол эпидемиол иммунобиол 2012; 4:93-8.
5. Шагинян И.А., Капранов Н.И., Чернуха М.Ю., Алексеева Г.В., Семейкин С.Ю., Аветисян Л.Р., Каширская Н.Ю., Пивкина Н.В., Данилина Г.А., Батов А.Б., Бусук Г.П. Микробный пейзаж нижних дыхательных путей у различных возрастных групп детей, больных муковисцидозом. Ж микробиол эпидемиол иммунобиол 2010; 1:15-20.
6. Алексеева Г.В., Чернуха М.Ю., Шагинян И.А. Идентификация бактерий комплекса *Burkholderia cepacia* с помощью ПЦР // «Полимеразная цепная реакция (ПЦР) и ее применение в бактериологии». Учебно-методическое пособие для врачей-бактериологов, Москва, 2006, глава 2.7, С. 117-26.
7. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. МУК 4.2.1890-04. Москва, 2004 г.
8. Magiorakos AP, Srinivasan A, Carey RB, Carmeli Y, Falagas ME, Giske CG, Harbarth S, Hindler JF, Kahlmeter G, Olsson-Liljequist B, Paterson DL, Rice LB, Stelling J, Struelens MJ, Vatopoulos A, Weber JT, Monnet DL. 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):268-81.
9. Lambiase A, Catania MR, Del Pezzo M, Rossano F, Terlizzi V, Sepe A, Raia V. *Achromobacter xylosoxidans* respiratory tract infection in cystic fibrosis patients. Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2011; 30(8):973-80.
10. Воронина О.Л., Кунда М.С., Аксенова Е.И., Орлова А.А., Чернуха М.Ю., Лунин В.Г., Амелина Е.Л., Чучалин А.Г., Гинцбург А.Л. Экспресс-диагностика микроорганизмов, поражающих дыхательные пути больных муковисцидозом. Клиническая лабораторная диагностика 2013; 11:53-8.
11. Equi AC, Pike SE, Davies J, Bush A. Use of cough swabs in a cystic fibrosis clinic. Arch Dis Child 2001; 85(5):438-9.
12. Kabra SK, Alok A, Kapil A, Aggarwal G, Kabra M, Lodha R, Pandey RM, Sridevi K, Mathews J. Can throat swab after physiotherapy replace sputum for identification of microbial pathogens in children with cystic fibrosis? Indian J Pediatr. 2004 Jan; 71(1):21-3.
13. Group, Cystic Fibrosis Trust Microbiology Laboratory Standards Working. Laboratory Standards for Processing Microbiological Samples from People With Cystic Fibrosis. Report of the UK Cystic Fibrosis Trust Microbiology Laboratory Standards Working Group, September 2010.
14. Чернуха М.Ю., Данилина Г.А., Шагинян И.А., Алексеева Г.В., Гинцбург А.Л. Роль регуляторной системы «quorum sensing» в образовании биопленок бактериями *Burkholderia cepacia* и *Pseudomonas aeruginosa*. Ж микробиол, эпидемиол, иммунобиол 2009; 4:39-43.
15. Чернуха М.Ю., Романова Ю.М., Малеев Г.В., Шагинян И.А., Гинцбург А.Л. Роль регуляторной системы «Quorum sensing» в симбиотическом взаимодействии бактерий *Burkholderia cepacia* и *Pseudomonas aeruginosa* при смешанной инфекции. Журн микробиол 2006; 4:32-7.
16. Шагинян И.А., Данилина Г.А., Чернуха М.Ю., Алексеева Г.В., Батов А.Б. Формирование биопленок клиническими штаммами бактерий комплекса *Burkholderia cepacia* в зависимости от их фенотипических и генотипических характеристик. Журн микробиол 2007; 1:3-9.
17. Besier S, Smaczny C, von Mallinckrodt C, Krahl A, Ackermann H, Brade V, Wichelhaus TA. Prevalence and clinical significance of *Staphylococcus aureus* small-colony variants in cystic fibrosis lung disease. J Clin Microbiol 2007; 45(1):168-72.
18. Gómez-González C, Acosta J, Villa J, Barrado L, Sanz F, Orellana MA, Otero JR, Chaves F. Clinical and molecular

- characteristics of infections with CO<sub>2</sub>-dependent small-colony variants of *Staphylococcus aureus*. J Clin Microbiol 2010; 48 (8):2878-84.
19. Hoffman LR, Déziel E, D'Argenio DA, Lépine F, Emerson J, McNamara S, Gibson RL, Ramsey BW, Miller SI. Selection for *Staphylococcus aureus* small-colony variants due to growth in the presence of *Pseudomonas aeruginosa*. Proc Natl Acad Sci U S A. 2006 Dec 26, 2006; 103(52):19890-5.
  20. de Silva GD, Kantzanou M, Justice A, Massey RC, Wilkinson AR, Day NP, Peacock SJ. The ica Operon and biofilm production in coagulase-negative staphylococci associated with carriage and disease in a neonatal intensive care unit. J Clin Microbiol 2002; 40(2):382-8.
  21. Шагинян И. А., Чернуха М. Ю. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций: клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности. Клин. микробиол. антимикроб. химиотер. 2005; 7(3): 271-85.
  22. Wellinghausen N, Köthe J, Wirths B, Sigge A, Poppert S. Superiority of molecular techniques for identification of Gram-negative, oxidase-positive rods, including morphologically nontypical *Pseudomonas aeruginosa*, from patients with cystic fibrosis. J Clin Microbiol 2005; 43:4070-5.
  23. Erickson DL, Endersby R, Kirkham A, Stuber K, Vollman DD, Rabin HR, Mitchell I, Storey DG. Quorum sensing and virulence of *Pseudomonas aeruginosa* during lung infection of cystic fibrosis patients. Infect Immun 2002; 70(4):1783-90.
  24. Driffield K, Miller K, Bostock JM, O'Neill AJ, Chopra I. Increased mutability of *Pseudomonas aeruginosa* in biofilms. J Antimicrob Chemother 2008; 61(5):1053-6.
  25. Капранов Н. И., Каширская Н. Ю. «Муковисцидоз». Методические рекомендации. Издание четвертое переработанное и дополненное / под редакцией Капранова Н. И., Каширской Н. Ю. М.: 2011.-124 с.
  26. Sousa SA, Ramos CG, Leitão JH. *Burkholderia cepacia* complex: emerging multihost pathogens equipped with a wide range of virulence factors and determinants. Int J Microbiol 2011; 2011:607575.
  27. Kiska DL, Kerr A, Jones MC, Caracciolo JA, Eskridge B, Jordan M, Miller S, Hughes D, King N, Gilligan PH. Accuracy of four commercial systems for identification of *Burkholderia cepacia* and other Gram-negative non-fermenting bacilli recovered from patients with cystic fibrosis. J Clin Microbiol 1996; 34: 886-91.
  28. Воронина О. Л., Кунда М. С., Аксенова Е. И., Орлова А. А., Чернуха М. Ю., Лунин В. Г., Амелина Е. Л., Чучалин А. Г., Гинцбург А. Л. Экспресс-диагностика микроорганизмов, поражающих дыхательные пути больных муковисцидозом. Клиническая лабораторная диагностика 2013; 11:53-8.
  29. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений. Приказ Минздрава СССР от 22.04.1985 № 535. Москва, 1985 г.
  30. Шагинян М. А., Чернуха М. Ю., Данилина Г. А., Алексеева Г. В., Гинцбург А. Л. Роль регуляторной системы «quorum sensing» в образовании биопленок бактериями *Burkholderia cepacia* и *Pseudomonas aeruginosa*. Ж микробиол эпидемиол иммунобиол, 2009; 4:39-43.



## Перечень статей, опубликованных в 2014 г.

### Рекомендации

*Дехнич Н.Н., Захарова Н.В., Кузьмин КрUTEцкий М.И., Лапина Т.Л., Пирогов С.С., Саблин О.А., Самсонов А.А., Симаненков В.И.* — Резолюция экспертного совещания «Тактика ведения пациента с инфекцией *Helicobacter pylori*. От простого к сложному» .....3,176

*Козлов Р.С., Иванчик Н.В., Дехнич Н.Н.* — Рекомендации по выделению, идентификации и определению чувствительности *Helicobacter pylori* к антимикробным препаратам.....3,181

*Хвостов Д.Л., Привольнев В.В.* — Профилактика инфекционных осложнений в травматологии и ортопедии .....3,168

### Методические рекомендации

Эпидемиологический надзор за внебольничными пневмониями (Методические указания МУ 3.1.2.3047-13).... 2,88

### Болезни и возбудители

*Ашерова И.К., Капранов Н.И.* — Современные подходы к диагностике и лечению респираторных инфекций у больных муковисцидозом .....2,100

*Биркун А.А.* — Введение антибиотиков в дыхательные пути: способы повышения эффективности при лечении госпитальной пневмонии .....3,185

*Данилов А.И., Алексеева И.В., Аснер Т.В., Веселова О.Ф., Власова Е.Е., Дроздович Е.Л., Егерь Ю.В., Елохина Е.В., Калягин А.Н., Литвинов А.В., Милягин В.А., Палютин Ш.Х., Портнягина У.С., Рог А.А., Фоминых С.Г., Якупова С.П., Шамес Д.В., Шпунтов М.Г.* — Представления российских врачей об этиологии, диагностике и терапии инфекционного эндокардита..... 1,26

*Козлов Р.С., Голуб А.В.* — Выбор антимикробных препаратов при неосложненных

инфекциях мочевых путей: как принять соломоново решение?..... 1,18

*Соловьева Н.С., Оттен Т.Ф., Журавлев В.Ю., Гащенко Н.Н., Шульгина М.В.* — Бактериологическая и молекулярно-генетическая верификация бактериемии у ВИЧ-инфицированных больных .....4,248

*Шилова В.С., Рыбалкина Т.Н., Семенов Т.А., Каражас Н.В., Бошьян Р.Е., Навольнев С.О., Кузин С.Н., Шибанов А.М.* — Вирусный гепатит E у лиц со вторичными иммунодефицитами.....3,195

### Антимикробные препараты

*Иванов А.С.* — Дозирование ванкомицина у пациентов на гемодиализе.....2,130

*Козлов Р.С., Дехнич А.В.* — Цефдиторен пивоксил: клинико-фармакологическая и микробиологическая характеристика.....2,111

*Ортенберг Э.А., Шафеева Ю.Э., Кирушок Г.И., Хохлявин Р.Л., Шень Н.П.* — Карбапенемы в многопрофильном стационаре: некоторые клинические и экономические аспекты ..... 1,33

*Привольнев В.В., Даниленков Н.В.* — Мёд в лечении инфицированных ран.....3,219

*Смолянкин Н.Н., Грекова А.И., Жаркова Л.П.* — Эффективность азитромицина и цефиксима в терапии острых кишечных инфекций с инвазивным типом диареи у детей.....3,202

*Эйдельштейн И.А., Козлов Р.С., Чагарян А.Н.* — Чувствительность клинических штаммов *Streptococcus pyogenes* к антисептическому препарату гексэтидину и антимикробным препаратам для системного применения .....3,212

### Антибиотикорезистентность

*Арепьева М.А., Колбин А.С., Курылев А.А., Балькина Ю.Е., Сидоренко С.В.* — Систематический обзор математических моделей, применяемых для

прогнозирования развития резистентности бактерий к антибиотикам .....2,137

Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В., Эйдельштейн М.В., Гринев А.В., Перепанова Т.С., Козлов Р.С., Исследовательская группа «ДАРМИС» — Осложненные внебольничные инфекции мочевых путей у взрослых пациентов в России ..... 1,39

Протасова И.Н., Перьянова О.В., Бахарева Н.В., Салмина А.Б., Рева И.В., КаноТ.Та, Ивао Я., Ямамото Т., Сидоренко С.В., Мельников В.Г. — Чувствительность к антибиотикам пневмококков, выделенных у детей города Красноярск .....2,144

Сивая О.В., Козлов Р.С., Кречикова О.И., Иванчик Н.В., Катосова Л.К., Гудкова Л.В. и группа исследователей проекта ПеГАС — Антибиотикорезистентность *Haemophilus influenzae* в России: результаты многоцентрового проспективного исследования ПеГАС ..... 1,57

Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. и исследовательская группа «МАРАФОН» — Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriaceae* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. ....4,254

Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. и исследовательская группа «МАРАФОН» — Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. ....4,266

Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. и исследовательская группа «МАРАФОН» — Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. ....4,273

Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С.

и исследовательская группа «МАРАФОН» — Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Staphylococcus aureus* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. ....4,280

Эйдельштейн И.А., Эйдельштейн М.В., Шипицына Е.В., Хуснутдинова Т.А., Савичева А.М., Козлов Р.С. — Оценка распространенности «классических» механизмов устойчивости к фторхинолонам у *Chlamydia trachomatis*, связанных с мутациями в генах топоизомераз .....4,287

### Фармакоэпидемиология и фармакоэкономика

Белькова Ю.А., Рачина С.А., Козлов Р.С., Миценко В.М., Павлюков Р.А., Козлов С.Н., Абубакирова А.И., Бережанский Б.В., Зубарева Н.А., Карпов И.А., Палютин Ш.Х., Портнягина У.С., Самуйло Е.К. — Потребление и затраты на системные антимикробные препараты в отделениях реанимации и интенсивной терапии многопрофильных стационаров Российской Федерации и Республики Беларусь: результаты многоцентрового фармакоэпидемиологического исследования .....4,294

### Лабораторная диагностика

Муравьева В.В., Припутневич Т.В., Завьялова М.Г., Анкирская А.С., Ильина Е.Н. — Сравнительная оценка видовой идентификации вагинальных изолятов дрожжевых грибов методом MALDI-TOF MS и традиционными (биохимическим и фенотипическим) методами ..... 1,10

Припутневич Т.В., Мелкумян А.Р., Бурменская О.С., Непша О.В., Никитина И.В., Любасовская Л.А., Ионов О.В., Ильина Е.Н., Трофимов Д.Ю., Митрохин С.Д. — Использование методов MALDI-TOF масс-спектрометрии и количественной ПЦР для быстрой диагностики септических состояний ..... 1,4

Чернуха М.Ю., Аветисян Л.Р., Шагинян И.А., Алексеева Г.В., Авакян Л.В., Каширская Н.Ю., Капранов Н.И., Семькин С.Ю., Сиянова Е.А., Медведева О.С., Красовский С.А., Усачева М.В., Кондратьева Е.И., Амелина Е.Л., Чучалин А.Г., Гинцбург А.Л. — Алгоритм микробиологической диагностики хронической инфекции лёгких у больных муковисцидозом .....4,312

**Опыт работы**

Абаев И.В., Скрябин Ю.П., Печерских Э.И., Мицевич И.П., Мицевич Е.В., Коробова О.В., Гриценко В.А., Светоч Э.А. — Генотипирование изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных при вспышке эксфолиативного дерматита новорожденных..... 1,70

Божкова С.А., Краснова М.В., Полякова Е.М., Рукина А.Н., Шабанова В.В. — Способность к формированию биопленок у клинических штаммов *S. aureus* и *S. epidermidis* — ведущих возбудителей ортопедической имплант-ассоциированной инфекции.....2,149

Колкова Н.И., Роздина О.И., Королева Е.А., Федина Е.Д., Шабалина Л.А., Моргунова Е.Ю., Зигангирова Н.А. — Разработка модели хламидийного артрита на крысах .....3,229

Орлова О.В., Орлов В.А., Кочетков С.Н., Белжеларская С.Н. — Компьютерные модели пространственной структуры мутантных белков оболочки вируса гепатита С, влияющих на формирование вирусных частиц.....3,238

**Информация**

Роль и место современных макролидов в лечении бактериальных инфекций ..... 1,78

Список конференций..... 2,157; 3,244

Краткие правила для авторов.....2,161

Перечень статей, опубликованных в 2014 г. .... 325

Список авторов ..... 327

**Список авторов**

<p><b>А</b></p> <p>Абаев И.В. .... 1,70</p> <p>Абубакирова А.И. .... 4,294</p> <p>Авакян Л.В. .... 4,312</p> <p>Аветисян Л.Р. .... 4,312</p> <p>Алексеева Г.В. .... 4,312</p> <p>Алексеева И.В. .... 1,26</p> <p>Амелина Е.Л. .... 4,312</p> <p>Анкирская А.С. .... 1,10</p> <p>Арепьева М.А. .... 2,137</p> <p>Аснер Т.В. .... 1,26</p> <p>АшEROVA И.К. .... 2,100</p> <p><b>Б</b></p> <p>Балыкина Ю.Е. .... 2,137</p> <p>Бахарева Н.В. .... 2,144</p> <p>Белжеларская С.Н. .... 3,238</p> <p>Белькова Ю.А. .... 4,294</p> <p>Бережанский Б.В. .... 4,294</p> <p>Биркун А.А. .... 3,185</p> <p>Божкова С.А. .... 2,149</p> <p>Бошнян Р.Е. .... 3,195</p> <p>Бурменская О.С. .... 1,4</p> <p><b>В</b></p> <p>Веселова О.Ф. .... 1,26</p> <p>Власова Е.Е. .... 1,26</p>	<p><b>Г</b></p> <p>Гашенко Н.Н. .... 4,248</p> <p>Гинцбург А.Л. .... 4,312</p> <p>Голуб А.В. .... 1,18</p> <p>Грекова А.И. .... 3,202</p> <p>Гринев А.В. .... 1,39</p> <p>Гриценко В.А. .... 1,70</p> <p>Гудкова Л.В. .... 1,57</p> <p><b>Д</b></p> <p>Даниленков Н.В. .... 3,219</p> <p>Данилов А.И. .... 1,26</p> <p>Дехнич А.В. .... 1,39; 2,111; 4,254,266,273,280</p> <p>Дехнич Н.Н. .... 3,176,181</p> <p>Дроздович Е.Л. .... 1,26</p> <p><b>Е</b></p> <p>Егерь Ю.В. .... 1,26</p> <p>Елохина Е.В. .... 1,26</p> <p><b>Ж</b></p> <p>Жаркова Л.П. .... 3,202</p> <p>Журавлев В.Ю. .... 4,248</p> <p><b>З</b></p> <p>Завьялова М.Г. .... 1,10</p> <p>Захарова Н.В. .... 3,176</p> <p>Зигангирова Н.А. .... 3,229</p>	<p>Зубарева Н.А. .... 4,294</p> <p><b>И</b></p> <p>Иванов А.С. .... 2,130</p> <p>Иванчик Н.В. .... 1,57; 3,181; 4,254,266,273,280</p> <p>Иваo Я. .... 2,144</p> <p>Ильина Е.Н. .... 1,4,10</p> <p>Ионов О.В. .... 1,4</p> <p><b>К</b></p> <p>Калягин А.Н. .... 1,26</p> <p>Капранов Н.И. .... 2,100; 4,312</p> <p>Каражас Н.В. .... 3,195</p> <p>Карпов И.А. .... 4,294</p> <p>Катосова Л.К. .... 1,57</p> <p>Каширская Н.Ю. .... 4,312</p> <p>Кирушок Г.И. .... 1,33</p> <p>Козлов Р.С. .... 1,18,39,57; 2,111; 3,181,212; 4,254,266,273,280,287,294</p> <p>Козлов С.Н. .... 4,294</p> <p>Колбин А.С. .... 2,137</p> <p>Колкова Н.И. .... 3,229</p> <p>Кондратьева Е.И. .... 4,312</p> <p>Коробова О.В. .... 1,70</p> <p>Королева Е.А. .... 3,229</p>
--	--	--

- Кочетков С.Н. .... 3,238  
Краснова М.В. .... 2,149  
Красовский С.А. .... 4,312  
Кречикова О.И. .... 1,57  
Кузин С.Н. .... 3,195  
Кузьмин-Крутецкий М.И. . 3,176  
Курьлев А.А. .... 2,137
- Л**
- Лапина Т.Л. .... 3,176  
Литвинов А.В. .... 1,26  
Любасовская Л.А. .... 1,4
- М**
- Медведева О.С. .... 4,312  
Мелкумян А.Р. .... 1,4  
Мельников В.Г. .... 2,144  
Милягин В.А. .... 1,26  
Митрохин С.Д. .... 1,4  
Мицевич Е.В. .... 1,70  
Мицевич И.П. .... 1,70  
Мищенко В.М. .... 4,294  
Моргунова Е.Ю. .... 3,229  
Муравьева В.В. .... 1,10
- Н**
- Навольнев С.О. .... 3,195  
Непша О.С. .... 1,4  
Никитина И.В. .... 1,4
- О**
- Орлов В.А. .... 3,238  
Орлова О.В. .... 3,238  
Ортенберг Э.А. .... 1,33  
Оттен Т.Ф. .... 4,248
- П**
- Павлюков Р.А. .... 4,294  
Палагин И.С. .... 1,39  
Палютин Ш.Х. .... 1,26; 4,294  
Перепанова Т.С. .... 1,39  
Перьянова О.В. .... 2,144  
Печерских Э.И. .... 1,70
- Пирогов С.С. .... 3,176  
Полякова Е.М. .... 2,149  
Портнягина У.С. .... 1,26; 4,294  
Привольнев В.В. .... 3,168,219  
Припутневич Т.В. .... 1,4,10  
Протасова И.Н. .... 2,144
- Р**
- Рачина С.А. .... 4,294  
Рева И.В. .... 2,144  
Рог А.А. .... 1,26  
Роздина О.И. .... 3,229  
Рукина А.Н. .... 2,149  
Рыбалкина Т.Н. .... 3,195
- С**
- Саблин О.А. .... 3,176  
Савичева А.М. .... 4,287  
Салмина А.Б. .... 2,144  
Самсонов А.А. .... 3,176  
Самуйло Е.К. .... 4,294  
Светоч Э.А. .... 1,70  
Семененко Т.А. .... 3,195  
Семькин С.Ю. .... 4,312  
Сивая О.В. .... 1,57  
Сидоренко С.В. .... 2,137,144  
Симаненков В.И. .... 3,176  
Сиянова Е.А. .... 4,312  
Склеенова Е.Ю. .... 4,254,266,  
273,280  
Скрябин Ю.П. .... 1,70  
Смолянкин Н.Н. .... 3,202  
Соловьева Н.С. .... 4,248  
Сухорукова М.В. . 1,39; 4,254,266,  
273,280
- Т**
- Такано Т. .... 2,144  
Тимохова А.В. . 4,254,266,273,280  
Трофимов Д.Ю. .... 1,4
- У**
- Усачева М.В. .... 4,312
- Ф**
- Федина Е.Д. .... 3,229  
Фоминых С.Г. .... 1,26
- Х**
- Хвостов Д.Л. .... 3,168  
Хохлявин Р.Л. .... 1,33  
Хуснутдинова Т.А. .... 4,287
- Ч**
- Чагарян А.Н. .... 3,212  
Чернуха М.Ю. .... 4,312  
Чучалин А.Г. .... 4,312
- Ш**
- Шабалина Л.А. .... 3,229  
Шабанова В.В. .... 2,149  
Шагинян И.А. .... 4,312  
Шамес Д.В. .... 1,26  
Шафеева Ю.Э. .... 1,33  
Шень Н.П. .... 1,33  
Шибанов А.М. .... 3,195  
Шилова В.С. .... 3,195  
Шипицына Е.В. .... 4,287  
Шпунтов М.Г. .... 1,26  
Шульгина М.В. .... 4,248
- Э**
- Эйдельштейн И.А. . . 3,212; 4,287  
Эйдельштейн М.В. .... 1,39;  
4,254,266,  
273,280,287
- Я**
- Якупова С.П. .... 1,26  
Ямамото Т. .... 2,144