

ПРЕВАЛИРУЮЩИЕ ФЕНОТИПЫ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ИЗОЛЯТОВ СИНЕГНОЙНОЙ ПАЛОЧКИ В СТАЦИОНАРАХ РЕСПУБЛИКИ БЕЛАРУСЬ

¹Соловей Н.В., ¹Карпов И.А., ²Кречикова О.И., ³Левшина Н.Н.

¹*УО «Белорусский государственный медицинский университет»*

кафедра инфекционных болезней

²*Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии
ГОУВПО «Смоленская государственная медицинская академия Министерства
здравоохранения и социального развития Российской Федерации»*

г. Смоленск

³*ГУ «Минский городской центр гигиены и эпидемиологии»*

Актуальность. В течение последних десяти лет отмечается распространение в стационарах всего мира грамотрицательных внутрибольничных патогенов, устойчивых практически ко всем используемым антибактериальным средствам и дезинфектантам [1]. Синегнойная палочка остается одним из ключевых проблемных микроорганизмов, вызывающих тяжелые нозокомиальные инфекции (вентилятор-ассоциированную пневмонию, сепсис, инфекции мочевыводящих путей, раневые инфекции, инфекции костей и суставов и т.д.) у пациентов в критическом состоянии и с иммуносупрессией. Так, 11,0-13,8% всех внутрибольничных инфекций вызываются *P.aeruginosa*, причем среди инфекций в ОРИТ доля данного возбудителя возрастает до 13,2-22,6% [2].

Особую проблему для клинической медицины представляет природная устойчивость синегнойной палочки к целому ряду антибиотиков и способность приобретать новые механизмы антибиотикорезистентности, в том числе и в процессе проводимой антибактериальной терапии [3]. Для штаммов синегнойной палочки, циркулирующих сегодня в условиях стационаров, характерна множественная (устойчивость хотя бы к одному препарату в трех и более категориях антимикробных препаратов) и чрезвычайная (устойчивость хотя бы к одному препарату во всех категориях антимикробных препаратов, за исключением 1-2 категорий) антибиотикорезистентность [4, 5]. Это затрудняет выбор рациональной эмпирической и этиотропной антибактериальной терапии синегнойных инфекций, что в свою очередь приводит к увеличению частоты осложнений и летальных исходов, длительным госпитализациям, возрастанию затрат на оказание медицинской помощи и другим неблагоприятным последствиям [6-8].

Целью данного исследования было оценить общий уровень антибиотикоустойчивости и распространенность превалирующих фенотипов антибиотикорезистентности нозокомиальных изолятов синегнойной палочки в стационарах Республики Беларусь для оптимизации рационального выбора потенциально активных антимикробных препаратов.

Материалы и методы исследования. В исследование включены культуры *P. aeruginosa*, выделенные из патологического материала пациентов старше 18 лет, находящихся в 12 многопрофильных и специализированных стационарах г. Минска в период с 1 января 2011 года по 1 декабря 2012 г. Критериями включения являлись выделение синегнойной палочки у пациентов с инфекцией либо колонизацией не ранее 48 ч от момента госпитализации или в любые сроки от момента госпитализации при условии поступления пациента из другого стационара. При выделении нескольких последовательных культур от одного пациента, в анализ включалась только первый клинически значимый штамм возбудителя.

Первичное исследование патологического материала и идентификация *P. aeruginosa*, а также определение чувствительности к полимиксинам проводились на базе бактериологической лаборатории ГУ «Минский городской центр гигиены и эпидемиологии» (Минск, Республика Беларусь) и бактериологической лаборатории 9 ГКБ (Минск, Республика Беларусь). В дальнейшем все выделенные культуры на транспортных средах доставлялись в микробиологическую лабораторию НИИ антимикробной химиотерапии (Смоленск, Российская Федерация), где осуществлялась реидентификация возбудителя с использованием MALDI-TOF-масс-спектрометрии (MALDI

Biotyper System, Bruker Daltonics, Germany), а также определение чувствительности к 6 маркерным антибактериальным препаратам, обладающим антипсевдомонадной активностью (цефтазидим, ципрофлоксацин, гентамицин, амикацин, имипенем, меропенем) с помощью диск-диффузионного метода по общепринятой методике. Дополнительно проводилась детекция продукции металло-бета-лактамаз фенотипическим методом «двойных дисков с ЭДТА». Интерпретация результатов осуществлялась согласно критериям CLSI (США, 2012). Штаммы *P.aeruginosa*, демонстрирующие резистентность или промежуточную резистентность в рамках данной работы рассматривались как нечувствительные к исследуемому антибиотику.

Обработка данных и анализ результатов исследования проводились с использованием программы SPSS 19.0 (IBM, США).

Результаты исследования и обсуждение. Определена чувствительность к антибактериальным препаратам у 177 штаммов синегнойной палочки. Общий уровень нечувствительности к цефтазидиму составил 63,3%, к ципрофлоксацину – 92,7%, к гентамицину – 84,7%, к амикацину – 80,2%, к имипенему – 75,1%, к меропенему – 62,7%. Не обнаружено штаммов синегнойной палочки, устойчивых к полимиксинам (полимиксину В, колистину). Согласно вышеприведенным определениям, множественно устойчивыми являлись 79,7% штаммов, чрезвычайно устойчивыми – 40,1%. В 12,4% случаев фенотипическим методом выявлена продукция металло-бета-лактамаз.

Согласно отчетным данным Европейской сети исследования антибиотикорезистентности (EARS-Net) в 2011 году минимальный уровень нечувствительности штаммов синегнойной палочки к цефтазидиму регистрировался в Норвегии (3,4%), Нидерландах (5,3%), Швеции (5,3%), максимальный – в Румынии (62,5%), Эстонии (50,0%), Греции (42,9%); минимальный уровень нечувствительности к пиперациллин/тазобактаму отмечался в Эстонии (не найдено устойчивых штаммов), Ирландии (2,9%), Норвегии (5,6%), максимальный – в Румынии (66,7%), Словакии (41,7%), Германии (38,6%); к карбапенемам наименее нечувствительными были штаммы синегнойной палочки из Исландии (5,9%), Нидерландов (6,0%), Великобритании (6,9%), наиболее нечувствительными из Греции (70,3%), Румынии (66,7%), Кипра (64,7%); к фторхинолонам наименьший уровень устойчивости отмечался в Норвегии (6,1%), Эстонии (6,3%) и Исландии (6,3%), наибольший – в Румынии (75,0%), Словакии (59,8%), Греции (42,8%); наименьший уровень устойчивости к аминогликозидам регистрировался в Исландии, Мальте, Норвегии и Словении (не обнаружено устойчивых штаммов), наибольший – в Португалии (24,2%), Румынии (11,1%), Италии (10,6%) [9].

В таблице 1 представлены фенотипы антибиотикорезистентности внутрибольничных штаммов *P.aeruginosa*, выявленные в данном исследовании.

Фенотип резистентности	CAZ	CIP	GEN	AMK	IMI	MEM	Удельный вес, %
ФР-1	R	R	R	R	R	R	40,1%
ФР-2	S	R	R	R	R	R	12,4%
ФР-3	R	R	R	R	S	S	8,5%
ФР-4	S	R	R	R	S	S	6,8%
ФР-5	R	R	R	R	R	S	4,0%
ФР-6	S	R	R	R	R	S	2,8%
ФР-7	R	R	S	R	R	R	2,8%
ФР-8	S	S	S	S	S	S	2,3%
ФР-9	S	S	S	S	R	S	2,3%
ФР-10	R	R	R	S	R	R	2,3%
ФР-11	R	S	S	S	S	S	1,7%
ФР-12	S	R	R	S	R	R	1,7%
ФР-13	S	R	R	S	S	S	1,7%
ФР-14	R	R	R	S	R	S	1,1%
ФР-15	S	R	R	S	R	S	1,1%
ФР-16	R	R	S	S	R	R	1,1%
ФР-17	S	R	S	S	R	R	1,1%
ФР-18	R	R	R	S	S	S	1,1%
ФР-19	S	R	S	S	S	S	1,1%
ФР-20	S	R	S	R	S	S	1,1%
ФР-21	S	S	R	R	R	R	0,6%
ФР-22	R	R	S	R	R	S	0,6%
ФР-23	S	R	S	R	R	R	0,6%
ФР-24	S	R	S	S	R	S	0,6%
ФР-25	S	S	R	S	S	S	0,6%

Таблица 1. Фенотипы антибиотикорезистентности внутрибольничных штаммов синегнойной палочки.

Несмотря на значительную гетерогенность обнаруженных фенотипов преобладающими являлись первые пять (ФР-1 – ФР-5), составлявшие 71,8% всех штаммов. Наиболее распространенным фенотипом антибиотикорезистентности был чрезвычайно устойчивый (чувствительный только к полимиксинам) фенотип (40,1%). В настоящее время аналогичные фенотипы выявлены в стационарах ряда стран, включая Корею, Бразилию, Испанию, Грецию, Тайвань, Россию и т.д. [10-12]. Практически треть чрезвычайно устойчивых штаммов *P.aeruginosa* (31,0%) продуцировали металло-бета-лактамазы, относящиеся к VIM-2 типу по данным молекулярно-генетического типирования.

Вторым по распространенности являлся фенотип, при котором синегнойная палочка сохраняет чувствительность к цефалоспорином III поколения с антисинегнойной активностью (цефтазидим, цефоперазон) несмотря на устойчивость к карбапенемам, фторхинолонам и аминогликозидам. Это возможно в случае гиперэкспрессии систем эффлюкса (MexAB-OprM и/или MexXY-OprM) и снижения проницаемости наружной мембраны (потеря OprD порина) при нормальном уровне экспрессии хромосомной бета-лактамазы AmpC [13].

Два следующих по частоте фенотипа антибиотикорезистентности были характерны для штаммов *P.aeruginosa*, которые демонстрировали чувствительность к карбапенемам с антисинегнойной активностью (ФР-3, 8,5%) или к карбапенемам и цефтазидиму (ФР-4, 6,8%). В то же время следует отметить в целом высокую устойчивость (превышающую 60,0%) нозокомиальных штаммов синегнойной палочки к антисинегнойным карбапенемам, являющимся основной группой препаратов для терапии нозокомиальных инфекций. Для сравнения в исследовании COMPACT в странах Азиатско-Тихоокеанского региона нечувствительность штаммов синегнойной палочки к карбапенемам составляла 29,8%, при этом в отношении имипенема нечувствительными являлись 27,7%, дорипенема – 24,6%, меропенема – 21,6% штаммов [14]. В исследовании CMSS, проведенного в 10 университетских стационарах Китая в 2003-2008 г.г. устойчивость синегнойной палочки к меропенему отмечалась только в 13,8-24,0%, к имипенему – в 25,2-29,5% [15].

Остальные фенотипы антибиотикорезистентности встречались в единичных случаях (от 1 до 5 штаммов для каждого фенотипа).

Выводы. Таким образом, на основе полученных данных можно сделать следующие выводы:

1. В стационарах Республики Беларусь преобладают множественно- и чрезвычайно-устойчивые штаммы синегнойной палочки, демонстрирующие

нечувствительность к большинству используемых антипсевдомонадных препаратов.

2. Ведущим фенотипом антибиотикорезистентности является чрезвычайно устойчивый фенотип, при котором *P.aeruginosa* сохраняет чувствительность лишь к полимиксинам. Часть штаммов синегнойной палочки может сохранять чувствительность к цефалоспорином III поколения с антисинегнойной активностью несмотря на устойчивость к карбапенемам.

3. Возможно различное сочетание профиля антибиотикорезистентности у нозокомиальных штаммов синегнойной палочки, что диктует необходимость стандартизации определения чувствительности к антибиотикам *in vitro* с обязательным включением в перечень тестирования маркерных препаратов.

4. Фенотипы антибиотикорезистентности вследствие их значительного разнообразия не могут служить убедительными маркерами для определения источника вспышки нозокомиальной инфекции при осуществлении мероприятий инфекционного контроля – для верификации предполагаемых сценариев распространения инфекции необходимо обязательное использование методов молекулярно-генетического типирования.

5. Наиболее активными антимикробными препаратами в отношении нозокомиальных штаммов синегнойной палочки остаются полимиксины, антисинегнойные карбапенемы (дорипенем, меропенем, в меньшей степени имипенем), а также цефалоспорины III поколения с антисинегнойной активностью. Аминогликозиды и фторхинолоны не могут служить препаратами выбора для эмпирической терапии синегнойной инфекции в связи с крайне высокими уровнями устойчивости к данным классам лекарственных средств.

Список литературы

1. Kunz, A.N. & Brook, I. Emerging resistant Gram-negative aerobic bacilli in hospital-acquired infections / A.N. Kunz, I. Brook // *Chemotherapy*. – 2010. – Vol. 56, № 6. – P. 492–500.
2. Driscoll, J.A. Brody, S.L. & Kollef, M.H. The epidemiology, pathogenesis and treatment of *Pseudomonas aeruginosa* infections / J.A. Driscoll, S.L. Brody, M.H. Kollef // *Drugs*. – 2007. – Vol. 67, № 3. – P. 351–368.
3. Breidenstein, E.B.M. de la Fuente-Núñez, C. & Hancock, R.E.W. *Pseudomonas aeruginosa*: all roads lead to resistance / E.B.M. Breidenstein, C. de la Fuente-Núñez, R.E.W. Hancock // *Trends in microbiology*. – 2011. – Vol. 19, № 8. – P. 419–426.

4. Magiorakos, A.-P. et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance / A.-P. Magiorakos et al. // *Clinical microbiology and infection: the official publication of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases*. – 2012. – Vol. 18, № 3. – P. 268–281.
5. Barie, P.S. Multidrug-resistant organisms and antibiotic management / P.S. Barie // *The Surgical clinics of North America*. – 2012. – Vol. 92, № 2. – P. 345–391, ix–x.
6. Aloush, V. et al. Multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: risk factors and clinical impact / V. Aloush et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2006. – Vol. 50, № 1. – P. 43–48.
7. Hirsch, E.B. & Tam, V.H. Impact of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infection on patient outcomes / E.B. Hirsch, V.H. Tam // *Expert Review of Pharmacoeconomics & Outcomes Research*. – 2010. – Vol. 10, № 4. – P. 441–451.
8. Morales, E. et al. Hospital costs of nosocomial multi-drug resistant *Pseudomonas aeruginosa* acquisition / E. Morales et al. // *BMC health services research*. – 2012. – Vol. 12, – P. 122.
9. Электронный ресурс: http://ecdc.europa.eu/en/activities/surveillance/EARS-Net/database/Pages/tables_report.aspx; режим доступа: 10.09.2013.
10. Fonseca, E.L. da Freitas, F. dos S. & Vicente, A.C.P. The colistin-only-sensitive Brazilian *Pseudomonas aeruginosa* clone SP (sequence type 277) is spread worldwide / E.L. da Fonseca, F. dos S. Freitas, A.C.P. Vicente // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2010. – Vol. 54, № 6. – P. 2743.
11. Viedma, E. et al. Nosocomial spread of colistin-only-sensitive sequence type 235 *Pseudomonas aeruginosa* isolates producing the extended-spectrum beta-lactamases GES-1 and GES-5 in Spain / E. Viedma et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2009. – Vol. 53, № 11. – P. 4930–4933.
12. Mastoraki, A. et al. *Pseudomonas aeruginosa* susceptible only to colistin in intensive care unit patients / A. Mastoraki et al. // *Surgical Infections*. – 2008. – Vol. 9, № 2. – P. 153–160.
13. Llanes, C. et al. Clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa* overproducing MexAB-OprM and MexXY efflux pumps simultaneously / C. Llanes et al. // *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. – 2004. – Vol. 48, № 5. – P. 1797–1802.
14. Kiratisin, P. et al. Comparative in vitro activity of carbapenems against major Gram-negative pathogens: results of Asia-Pacific surveillance from the

COMPACT II study / P. Kiratisin et al. // International journal of antimicrobial agents. – 2012. – Vol. 39, № 4. – P. 311–316.

15. Wang, H. et al. Antimicrobial resistance among clinical isolates from the Chinese Meropenem Surveillance Study (CMSS), 2003-2008 / H. Wang et al. // International journal of antimicrobial agents. – 2010. – Vol. 35, № 3. – P. 227–234.