

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
www.iacmac.ru

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

Подписка на сайте издателя
<https://service.iacmac.ru>

Адрес для корреспонденции
214019, г. Смоленск, а/я 5.
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:
cmac@antibiotic.ru

Электронная версия журнала:
<https://cmac-journal.ru>

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

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2021.

Содержание

Болезни и возбудители

- Сацук А.В., Солопова Г.Г., Чурилова Н.С., Власенко Н.В., Панасюк Я.В., Плоскирева А.А., Акимкин В.Г.
- 340** Вирусный гепатит С у иммунокомпрометированных пациентов педиатрического профиля: эпидемиологический анализ данных центра детской гематологии, онкологии и иммунологии
- Баранова И.Б., Яременко А.И., Зубарева А.А., Карпищенко С.А., Попова М.О., Курусь А.А., Портнов Г.В., Пинегина О.Н., Лукина О.В., Маляревская М.В., Калакуцкий И.Н., Илюхина М.О., Климо Н.Н.
- 347** Мукормикоз костей лицевого черепа, полости носа и околоносовых пазух у пациентов, перенесших COVID-19
- Степин А.В.
- 359** Структура возбудителей и основные проблемы антибиотикорезистентности при инфекции области хирургического вмешательства в кардиохирургии

Антимикробные препараты

- Сычев И.Н., Федина Л.В., Сычев Д.А.
- 367** Антибактериальная терапия в условиях полипрагмазии: курс на безопасность

Антибиотикорезистентность

- Гостев В.В., Пунченко О.Е., Сидоренко С.В.
- 375** Современные представления об устойчивости *Staphylococcus aureus* к бета-лактамам антибиотикам
- Садеева З.З., Новикова И.Е., Шакирзянова Р.А., Алябьева Н.М., Лазарева А.В., Мелков М.С., Карасева О.В., Вершинина М.Г., Фисенко А.П.
- 388** Молекулярно-генетическая характеристика механизмов антибиотикорезистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей

Опыт работы

- Лёдов В.А.
- 400** Определение функциональных и антиген-специфических антител в сыворотке у мышей после иммунизации кандидатной вакциной против *Shigella flexneri* 1b, 2a, 3a, 6, Y
- Умпелева Т.В., Еремеева Н.И., Вахрушева Д.В.
- 404** Разработка технологии длительного хранения культур микобактерий туберкулеза

DOI: 10.36488/cmasc.2021.4.388-399

Оригинальная статья

Молекулярно-генетическая характеристика механизмов антибиотикорезистентности штаммов *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей

Садеева З.З.¹, Новикова И.Е.¹, Шакирзянова Р.А.¹, Алябьева Н.М.¹, Лазарева А.В.¹, Мелков М.С.¹, Карасева О.В.², Вершинина М.Г.¹, Фисенко А.П.¹

¹ ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава России, Москва, Россия

² НИИ неотложной детской хирургии и травматологии, Москва, Россия

Контактный адрес:

Зульфрия Закиевна Садеева
Эл. почта: zulfiryasadeeva@yandex.ru

Ключевые слова: дети, нозокомиальные инфекции, гемокультура, антибиотикорезистентность, гены резистентности, карбапенемазы.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Оценить чувствительность к антибиотикам и определить наличие генов резистентности и фенотипические группы изолятов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей с нозокомиальными инфекциями в отделениях реанимации и интенсивной терапии с 2014 по 2020 г.

Материалы и методы. Всего в исследование были включены 63 штамма *K. pneumoniae*, 23 штамма *P. aeruginosa* и 14 штаммов *A. baumannii*. Минимальные подавляющие концентрации антибиотиков определяли методом серийных микроразведений в бульоне. Выявление генов, кодирующих карбапенемазы, проводили с помощью гибридизационно-флуоресцентной детекции.

Результаты. *K. pneumoniae* была выявлена в 10,3% случаев. *P. aeruginosa* выделяли с частотой 3,5%. На долю *A. baumannii* пришлось 2,3% исследованных образцов. Доля резистентных к меропенему и имипенему штаммов *K. pneumoniae* составила 33% и 37% соответственно. Резистентность к колистину и полимиксину у изолятов *K. pneumoniae* составила 33% и 24% соответственно. Продукция карбапенемаз ОХА-48 выявлена у 25 (89%) изолятов *K. pneumoniae*. Карбапенемаз NDM, VIM, KPC выявлено не было. Среди *P. aeruginosa* резистентными к меропенему оказались 65% штаммов, к имипенему – 74%. Наиболее высокую *in vitro* активность в отношении *P. aeruginosa* проявляли полимиксины. Нечувствительных к колистину штаммов выявлено не было. Частота выявления металло-бета-лактамаз (МБЛ) у штаммов *P. aeruginosa* составила 48%, все они были представлены только МБЛ VIM-типа (другие типы МБЛ обнаружены не были). *A. baumannii* был нечувствительным к меропенему в 64% случаев, к имипенему – 71%. Наиболее высокую активность в отношении *A. baumannii* проявил полимиксин, к нему не было обнаружено ни одного резистентного штамма. К колистину резистентными оказались 29% штаммов *A. baumannii*. Гены ОХА-40 и ОХА-23 были выявлены у 5 и 3 штаммов *A. baumannii* соответственно.

Выводы. Среди штаммов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей с нозокомиальными инфекциями, наблюдается широкое распространение резистентности к большинству антибиотиков, а также рост резистентности к карбапенемам. Резистентность к карбапенемам у *K. pneumoniae* была обусловлена продукцией карбапенемаз ОХА-48, у *P. aeruginosa* – МБЛ VIM-типа, у *A. baumannii* – карбапенемаз ОХА-40 и ОХА-23.

Original Article

Genetic characteristics of antimicrobial resistance mechanisms in *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii* isolated from blood and cerebrospinal fluid of children

Sadeeva Z.Z.¹, Novikova I.E.¹, Schakirzyanova R.A.¹, Alyabyeva N.M.¹, Lazareva A.V.¹, Melkov M.S.¹, Karaseva O.V.², Verшинina M.G.¹, Fisenko A.P.¹

¹ National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia

² Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Trauma, Moscow, Russia

Contacts:

Zulfirya Z. Sadeeva
E-mail: zulfiryasadeeva@yandex.ru

Key words: children, nosocomial infections, blood culture, antimicrobial resistance, resistance genes, carbapenemase.

Objective. To assess antimicrobial susceptibility, presence of resistance genes and determine the phenotypic groups of *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii* isolated from blood and cerebrospinal fluid of children with nosocomial infections in intensive care units from 2014 to 2020.

Materials and methods. Minimum inhibitory concentrations of antibiotics were determined using the serial broth microdilution method. The identification of genes encoding the production of carbapenemases was carried out using hybridization fluorescence detection.

Садеева З.З. и соавт.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding source: no external funding received.

Results. A total of 63 isolates of *K. pneumoniae*, 23 isolates of *P. aeruginosa* and 14 isolates of *A. baumannii* were tested in this study. *K. pneumoniae* was detected in 10.3%. *P. aeruginosa* was isolated at a frequency of 3.5%. *A. baumannii* accounted for 2.3%. The proportion of carbapenem-resistant *K. pneumoniae* strains to meropenem and imipenem was 33% and 37%, respectively, of all isolates. Resistance to colistin and polymyxin in *K. pneumoniae* isolates was 33% and 24%, respectively. The production of carbapenemases OXA-48 was detected in 25 (89%) isolates. The presence of NDM, VIM, KPC carbapenemases was not detected. Among *P. aeruginosa*, 65% were resistant to meropenem, and 74% to imipenem. The highest activity against *P. aeruginosa* *in vitro* was exhibited by polymyxins. There were no strains that were insensitive to colistin. The detection rate of metallo- β -lactamases (MBL) in *P. aeruginosa* strains was 48%. Only VIM-type MBLs were identified. No other types of MBL have been found. *A. baumannii* was non-susceptible to meropenem in 64% and to imipenem in 71%. The highest *in vitro* activity against *A. baumannii* was shown by polymyxin. Rate of colistin resistance was 29%. The OXA-40 and OXA-23 genes were detected in 5 and 3 isolates, respectively.

Conclusions. There were high resistance rates to most antimicrobials among *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii* isolated from blood and cerebrospinal fluid in children with nosocomial infections. The increase in carbapenem resistance rates was also observed. Carbapenem resistance was due to OXA-48 carbapenemases in *K. pneumoniae*, VIM-type MBLs in *P. aeruginosa*, and OXA-40 and OXA-23 carbapenemases in *A. baumannii*.

Введение

Klebsiella pneumoniae, *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii* являются наиболее частыми и проблемными возбудителями нозокомиальных инфекций [1]. Данные микроорганизмы обладают способностью к формированию вторичной резистентности к антимикробным препаратам (АМП) разных классов и поэтому входят в группу наиболее проблемных бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций – ESKAPE [2–4].

В данной статье представлены результаты оценки чувствительности к АМП, а также определения генов резистентности и фенотипических групп 63 изолятов *K. pneumoniae*, 23 штаммов *P. aeruginosa* и 14 штаммов *A. baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей в отделениях реанимации и интенсивной терапии (ОРИТ) с 2014 по 2020 г.

Энтеробактерии являются ведущими бактериальными возбудителями инфекций в ОРИТ. Особую опасность вызывает прогрессирующая устойчивость грамотрицательных бактерий к карбапенемам [5, 6]. Главным механизмом резистентности к карбапенемам является продукция карбапенемаз – ферментов, разрушающих АМП [7, 8]. В распространении устойчивости к карбапенемам большую роль играют неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОб) – *P. aeruginosa* и *A. baumannii* [9, 10]. Они обладают высокой природной резистентностью к АМП, что существенно затрудняет лечение инфекций, вызванных данными возбудителями [11, 12].

В настоящее время появление и распространение у возбудителей нозокомиальных инфекций устойчивости к карбапенемам является реальной угрозой и определяет необходимость регулярного мониторинга чувствительности.

Цель исследования – определить чувствительность к АМП и наличие генов резистентности у штаммов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей в ОРИТ.

Материалы и методы

Нами были отобраны штаммы *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, выделенные из крови и ликвора у детей, находящихся в ОРИТ г. Москвы с 2014 по 2020 г.

Все образцы крови инкубировали в анализаторе гемокультур BACTEC 9050 (Becton Dickinson, США) до момента регистрации микробного роста, затем проводили посев на плотные питательные среды для выделения чистой культуры возбудителя классическими микробиологическими методами.

Посевы биологического материала производили на кровяной агар и Uri-select агар (Bio-Rad, США), затем инкубировали в термостате при температуре 37°C в течение 24–48 ч. Идентификацию микроорганизмов до вида проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии (Bruker Daltonics, Германия). Рекомендательные значения Score $\geq 2,0$ были использованы в качестве критерия надежной идентификации.

Минимальные подавляющие концентрации (МПК) АМП определяли методом серийных микроразведений в бульоне Мюллера – Хинтона (bioMérieux, Франция) Sensititre™ (ThermoScientific, Великобритания). Результаты интерпретировали, руководствуясь оценочными критериями Европейского комитета по определению чувствительности к АМП (EUCAST), версия 10.0 [13].

Для выделения ДНК использовали суточную культуру, полученную при посеве на плотные питательные среды. Бактериальную ДНК выделяли с помощью коммерческих наборов «ГК-экспресс» (ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) согласно инструкции производителя. Полученные образцы хранили до использования при температуре -20°C. Выявление генов, кодирующих карбапенемазы, проводили с использованием наборов с гибридационно-флуоресцентной детекцией «АмплиСенс® MDR MBL-FL» (IMP, NDM, VIM), «АмплиСенс® MDR KPC/OXA-48-FL» (KPC, OXA-48), «АмплиСенс MDR Ab-OXA-FL» (OXA-23, OXA-40, OXA-58), производства ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора.

Проведение ПЦР в режиме реального времени включало в себя следующие этапы: выделение ДНК, амплификация с гибридно-флуоресцентной детекцией в режиме реального времени, анализ и интерпретация результатов. Общий объем реакционной смеси составил 25 мкл, включая 10 мкл пробы ДНК. Компоненты реакционной смеси смешивали непосредственно перед проведением амплификации. В качестве положительного и отрицательного контролей использовали соответствующие образцы, входящие в состав набора. Реакцию амплификации проводили в соответствии с инструкцией производителя.

Результаты

Спектр микроорганизмов, выделенных из гемокультур и ликвора

В период 2014–2020 гг. была проанализирована 621 положительная проба гемокультур и ликвора, полученная от детей с симптомами бактериальной инфекции. Лидирующее место по частоте выделения занимали коагулазонегативные стафилококки (КНС) – *Staphylococcus hominis* и *Staphylococcus haemolyticus* – 189 (30,4%) и 109 (17,6%) изолятов соответственно. Вторым по значимости микроорганизмом была *K. pneumoniae* – 10,1% (n = 63). Энтерококки были представлены *E. faecalis* (6,1%) и *E. faecium* (5,3%). *P. aeruginosa* выделяли в 23 (3,7%) случаях. *Staphylococcus aureus* был обнаружен в 3,4% исследованных образцов, *Stenotrophomonas maltophilia* – в 2,7%. *Escherichia coli* и *Serratia marcescens* были выделены из положительных образцов с одинаковой частотой (2,6%). На долю *A. baumannii* пришлось 2,3% (n = 14) исследованных образцов, *Enterobacter cloacae* – 2,1%. Другие микроорганизмы суммарно составили 11,1% (n = 69) (Рисунок 1).

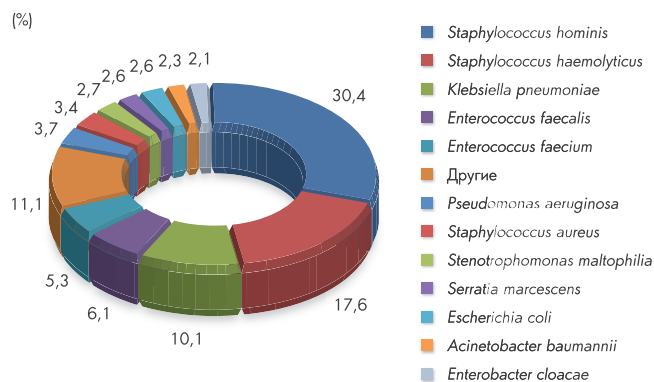


Рисунок 1. Спектр микроорганизмов, выделенных из гемокультур и ликвора

Другие: *Citrobacter gillenii*, *Proteus mirabilis*, *Pantoea calida*, *Burkholderia cenocepacia*, *Haemophilus influenzae*, *Enterobacter* spp., *Streptococcus pneumoniae*, *Pseudomonas* spp., *Leuconostoc* spp., *Klebsiella* spp., *Staphylococcus warneri*, *Acinetobacter* spp., *Achromobacter* spp., *Staphylococcus capitis*.

Всего было исследовано 63 изолята *K. pneumoniae*, 23 изолята *P. aeruginosa* и 14 изолятов *A. baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей (Рисунок 2). Мониторинг антибиотикорезистентности и определение генов резистентности и фенотипических групп проводились для грамотрицательных микроорганизмов – *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, представляющих наибольшую опасность при инфекциях кровотока. Все штаммы были разделены на 3 категории чувствительности к АМП: чувствительные, чувствительные при увеличенной экспозиции и резистентные.

Таблица 1. Чувствительность к АМП штаммов *K. pneumoniae*, выделенных из крови и ликвора у детей в ОРИТ в 2014–2020 гг. (n = 63)

АМП	Чувствительные		Чувствительные при увеличенной экспозиции		Резистентные	
	n	%	n	%	n	%
Меропенем	33	52	9	14	21	33
Имипенем	35	55	5	8	23	37
Колистин	42	67	–	–	21	33
Тобрамицин	6	10	–	–	57	90
Амикацин	22	35	–	–	41	65
Гентамицин	12	19	–	–	51	81
Фосфомицин	33	52	–	–	30	48
Азтреонам	4	6	–	–	59	94
Цефепим	2	3	6	10	55	87
Цефтазидим	3	4	1	2	59	94
Тикарциллин/клавуланат	1	2	1	2	61	96
Пиперациллин/тазобактам	9	14	3	5	51	81
Ко-тримоксазол	16	25	–	–	47	75
Ципрофлоксацин	11	17	6	10	46	73

Садева С.С. и соавт.

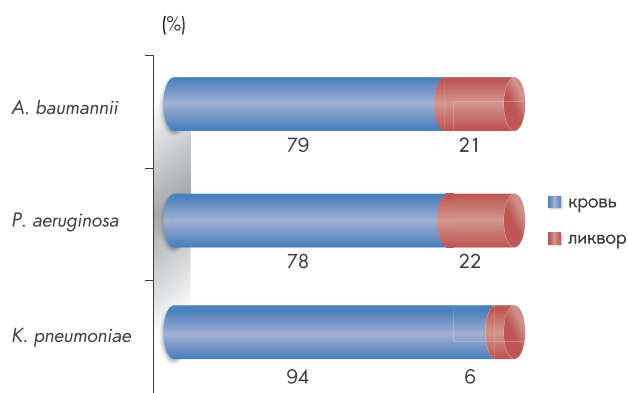


Рисунок 2. Частота выделения из крови и ликвора

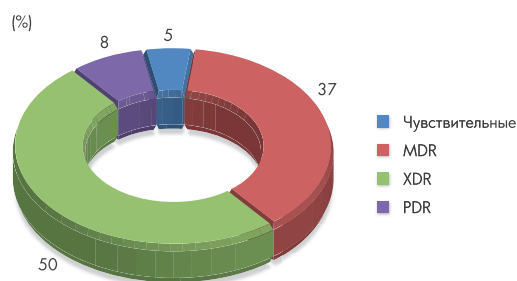


Рисунок 4. Фенотипические группы *K. pneumoniae* (n = 63)

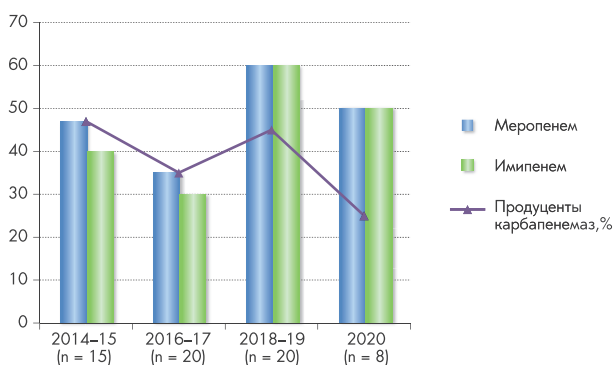


Рисунок 3. Динамика устойчивости к карбапенемам и продукции карбапенемаз у изолятов *K. pneumoniae*

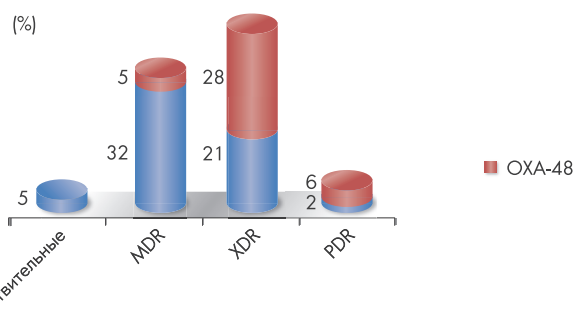


Рисунок 5. Частота продукции карбапенемаз у *K. pneumoniae* в зависимости от фенотипа

Результаты определения чувствительности штаммов *K. pneumoniae* выявили низкую *in vitro* активность азтреонама, тикарциллина/клавуланата и пиперациллина/тазобактама, резистентность к которым составила 94%, 96% и 81% соответственно (Таблица 1).

Среди аминогликозидов резистентность к амикацину составила 65%, к гентамицину и тобрамицину – 81% и 90% соответственно. Фторхинолоны также показали низкую активность. Так, доля резистентных к цiproфлоксацину штаммов составила 73%. К фосфомицину были резистентны 48% изолятов. Резистентность к колистину составила 33%. К цефалоспорином резистентность штаммов *K. pneumoniae* выявлена в 94% случаев для цефтазидима и до 87% для цефепима. Резистентность к карбапенемам – меропенему и имипенему – проявили 33% и 37% всех изолятов соответственно.

Определение карбапенемаз проводили у карбапенеморезистентных штаммов. Продукция карбапенемаз, относящихся к группе OXA-48, выявлена у 25 (89%) изолятов. Карбапенемаз NDM, VIM, KPC выявлено не было. При сравнении результатов, полученных в разные годы, наблюдается рост устойчивости к карбапенемам (Рисунок 3).

В соответствии с принятыми критериями, фенотипом множественной лекарственной устойчивости (MDR, т.е. резистентность как минимум к одному препарату

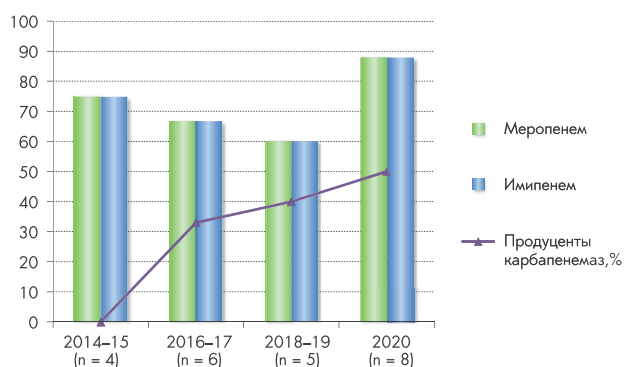
трех и более классов АМП) обладали 23 (37%) изолята (Рисунок 4). Среди них только у трех изолятов была обнаружена карбапенемаза OXA-48. Фенотипом экстремальной резистентности (XDR, т.е. резистентность как минимум к одному препарату из всех классов АМП, кроме двух и менее классов) – 31 (50%) изолят. Из них 18 обладали OXA-48 (Рисунок 5). Фенотипом панрезистентности (PDR, т.е. резистентность ко всем классам АМП) обладали 5 (8%) изолятов, и 4 из них обладали карбапенемазой OXA-48.

Не менее значимыми микроорганизмами при бактериемии являются НГОб. В нашем исследовании второй по частоте встречаемости была *P. aeruginosa*. Результаты оценки чувствительности *P. aeruginosa* представлены в Таблице 2.

Резистентными к пиперациллину/тазобактаму были 43% изолятов. К антисинегнойному цефалоспориноу цефтазидиму оказались резистентны 74% изолятов. Резистентность к аминогликозидам (тобрамицину, амикацину) была выявлена у 65% и 39% штаммов соответственно. К цiproфлоксацину резистентными оказались 70% изолятов. К комбинированным препаратам – цефтазидиму/авибактаму и цефтолозану/тазобактаму – были резистентны 61% и 57% исследованных изолятов соответственно. Наиболее высокую *in vitro* активность в отношении протестированных штаммов *P. aeruginosa*

Таблица 2. Чувствительность к АМП штаммов *P. aeruginosa*, выделенных из крови и ликвора у детей в ОРИТ в 2014–2020 гг. (n = 23)

АМП	Чувствительные		Чувствительные при увеличенной экспозиции		Резистентные	
	n	%	n	%	n	%
Меропенем	6	26	2	9	15	65
Имипенем	–	–	6	26	17	74
Колистин	23	100	–	–	–	–
Тобрамицин	8	35	–	–	15	65
Амикацин	14	61	–	–	9	39
Ципрофлоксацин	–	–	7	30	16	70
Пиперациллин/тазобактам	13	57	–	–	10	43
Цефтолозан/тазобактам	–	–	10	43	13	57
Цефтазидим/авибактам	9	39	–	–	14	61
Азтреонам	–	–	18	78	5	22
Цефтазидим	–	–	6	26	17	74

Рисунок 6. Динамика устойчивости к карбапенемам и продукции МБЛ у штаммов *P. aeruginosa*

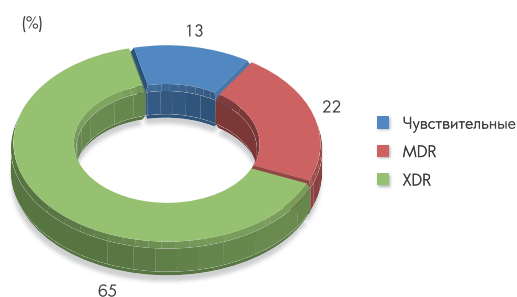
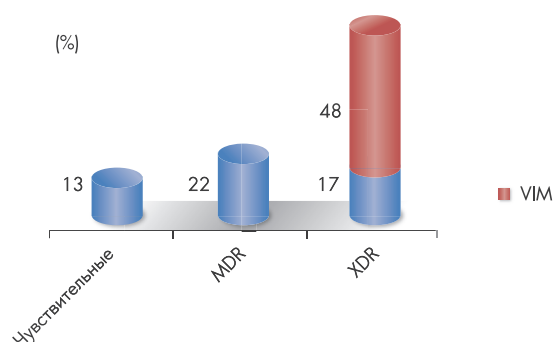
проявляли полимиксины; нечувствительных к колистину штаммов выявлено не было. Доля штаммов, устойчивых к карбапенемам, за период с 2014 по 2020 г. составила 65% для меропенема и 74% для имипенема (Рисунок 6).

Определение карбапенемаз проводили у карбапенеморезистентных штаммов. Частота выявления металло-бета-лактамаз (МБЛ) у штаммов *P. aeruginosa* составила 48%. Стоит отметить, что были выявлены только МБЛ VIM-типа, другие типы обнаружены не были.

Фенотипом MDR обладали 5 (22%) изолятов, фенотипом XDR – 15 (65%) изолятов (Рисунок 7). Все продуценты VIM входили в XDR-группу (11/15 штаммов) (Рисунок 8). Штаммов с фенотипом PDR выявлено не было.

Также важное место среди НГОБ при инфекциях кровотока в нашем исследовании занял *A. baumannii*. Результаты оценки чувствительности *A. baumannii* представлены в Таблице 3.

Резистентностью к ко-тримоксазолу обладали 64% изолятов *A. baumannii*. Крайне высокие показатели устойчивости отмечены для аминогликозидов – амика-

Рисунок 7. Фенотипические группы *P. aeruginosa* (n = 23)Рисунок 8. Частота продукции карбапенемаз у *P. aeruginosa* в зависимости от фенотипа

цина и гентамицина – 86%. Доля штаммов, резистентных к тобрамицину, составила 64%. Резистентными к колистину оказались 4 изолята. Высокие показатели устойчивости также были определены для фторхинолонов: к ципрофлоксацину были резистентны 86% изоля-

Таблица 3. Чувствительность к АМП штаммов *A. baumannii*, выделенных из крови и ликвора у детей в ОРИТ в 2014–2020 гг. (n = 14)

АМП	Чувствительные		Чувствительные при увеличенной экспозиции		Резистентные	
	n	%	n	%	n	%
Меропенем	4	29	1	7	9	64
Имипенем	4	29	–	–	10	71
Колистин	10	71	–	–	4	29
Тобрамицин	5	36	–	–	9	64
Амикацин	2	14	–	–	12	86
Гентамицин	2	14	–	–	12	86
Ко-тримоксазол	4	29	1	7	10	64
Ципрофлоксацин	–	–	2	14	12	86

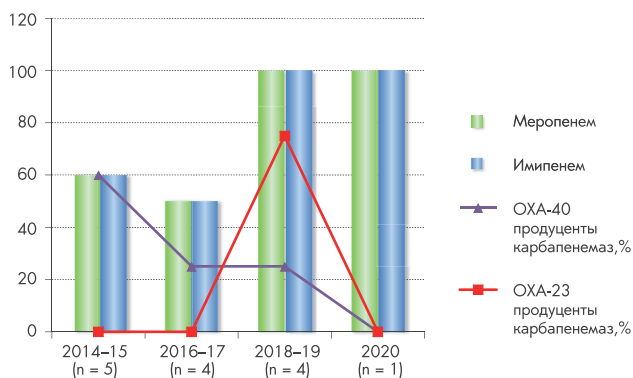


Рисунок 9. Динамика устойчивости к карбапенемам и продукции карбапенемаз у изолятов *A. baumannii*

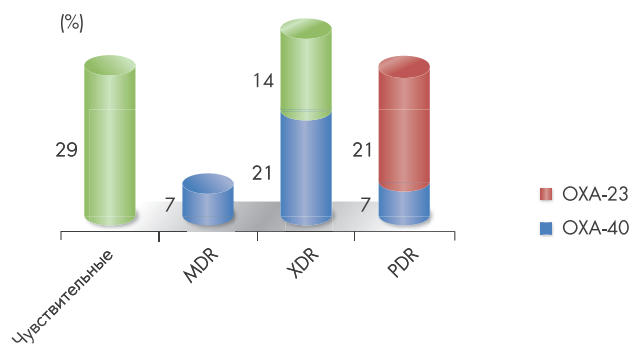


Рисунок 11. Частота продукции карбапенемаз у *A. baumannii* в зависимости от фенотипа

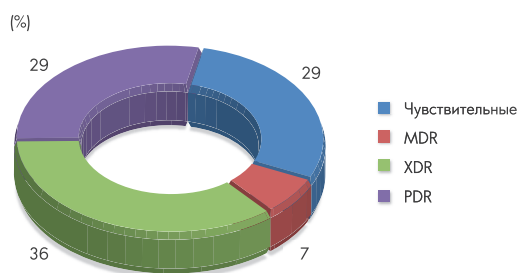


Рисунок 10. Фенотипические группы *A. baumannii* (n = 14)

тов. Из всех исследованных штаммов резистентными к меропенему были 64%, к имипенему – 71% изолятов. В период с 2014 по 2020 г. вырос уровень резистентности *A. baumannii* к карбапенемам (Рисунок 9).

Наличие карбапенемаз исследовали у карбапенеморезистентных штаммов. Ген OXA-40 был выявлен у 5 штаммов, ген OXA-23 – у 3 штаммов (Рисунок 9). Фенотипом MDR обладал 1 изолят (Рисунок 10), у которого была выявлена карбапенемаза OXA-40. Фенотипом XDR обладали 5 изолятов. Из них у трех

был обнаружен ген OXA-40. Четыре изолята обладали фенотипом PDR, все они несли гены карбапенемаз. Только 1 штамм имел OXA-40, а 3 изолята – OXA-23 (Рисунок 11).

Обсуждение

Инфекция кровотока – одно из самых опасных осложнений в ОРИТ. Оно имеет далеко идущие последствия, приводящие к увеличению продолжительности пребывания в больнице, увеличению расходов для физических лиц и казначейства, а также во многих случаях к гибели людей [14–16].

В настоящее время наблюдается увеличение количества вмешательств у пациентов в критическом состоянии, способствующих формированию очагов, из которых бактерии могут получить доступ к кровотоку. На них приходится около 15% всех внутрибольничных инфекций и около 1% всех госпитализированных пациентов [14]. Инфекции могут считаться связанными с оказанием медицинской помощи (ИСМП) через 48 ч. пребывания пациента в стационаре [17]. Инфекция кровотока является первичной, когда центральный катетер представляет собой единственный вероятный

источник инфекции, и вторичной, когда существует основная причина (мочеполовая/респираторная инфекция или любой другой очевидный источник инфекции в организме).

Среди грамположительных микроорганизмов наиболее распространенными бактериальными причинами инфекции кровотока являются *S. aureus*, КНС и *E. faecalis*; среди Enterobacterales – *E. coli*, *K. pneumoniae* и *Serratia* spp.; среди НГОБ – *Pseudomonas* spp. и *A. baumannii* [15, 18].

Исследование Weinstein M. и соавт., посвященное 843 случаям положительных посевов крови у госпитализированных пациентов из трех больниц, показало, что ряд микроорганизмов следует рассматривать как возбудителей истинной бактериемии или фунгеми при выделении из крови [19]. К этой группе относились *S. aureus*, *S. pneumoniae*, *E. coli*, другие энтеробактерии, *P. aeruginosa* и *Candida albicans*. Кроме того, следующие бактерии почти всегда представляют собой истинную инфекцию при выделении из гемокультуры: *S. agalactiae*, *S. pyogenes*, *Listeria monocytogenes*, *Neisseria gonorrhoeae*, *Neisseria meningitidis*, *H. influenzae*, представители *Bacteroides fragilis*, все виды *Candida* и *Cryptococcus neoformans* [20].

В нашем случае *K. pneumoniae* составила 10,3% микробного спектра. *P. aeruginosa* выделяли с частотой 3,5%, *S. aureus* был обнаружен с частотой 3,4%. *E. coli* и *S. marcescens* выделяли из положительных образцов с одинаковой частотой – 2,6%. *A. baumannii* обнаруживали в 12,3% случаев. Доля других микроорганизмов суммарно составила 11,1%.

Определенные микроорганизмы представляют собой контаминацию в значительной части случаев. Эти микроорганизмы включают КНС, *Corynebacterium* spp., *Bacillus* spp., отличные от *Bacillus anthracis*, *Propionibacterium acnes*, *Micrococcus* spp., стрептококки группы viridans, энтерококки и *Clostridium perfringens*. Важно признать, что каждый из этих микроорганизмов также может являться причиной истинной бактериемии с тяжелыми последствиями.

Несмотря на то что некоторые микроорганизмы чаще других оказываются контаминантами, определение вероятности истинной бактериемии может быть сложной задачей для клиницистов. Например, когда речь идет о КНС. В начале XXI в. считалось, что КНС представляют собой контаминацию при выделении из посевов крови. Фактически данные микроорганизмы являются наиболее распространенными загрязняющими агентами культур крови, обычно составляя от 70% до 80% всех положительных гемокультур [21–25].

В нашем исследовании доля КНС составила 48%. Однако есть работы, показывающие, что КНС часто являются источником истинной бактериемии у пациентов с протезами и центральными венозными катетерами [19, 23, 26–28]. Хотя большинство изолятов КНС из крови продолжают оставаться контаминантами, Weinstein M. и соавт. обнаружили, что только 12,4% КНС были клинически значимыми и занимали третье место среди наиболее частых причин бактериемии [19].

В педиатрической практике имеются дополнительные факторы риска. Часто педиатры вместо периферической венопункции для уменьшения дискомфорта используют уже установленные венозные катетеры для получения образца крови [23]. Данные о влиянии этой практики на уровень контаминации неоднозначны. В двухлетнем исследовании Norberg A. и соавт., сравнивающем уровни контаминации образцов, взятых у детей с помощью венопункции, и образцов, взятых с помощью венозных катетеров, было обнаружено статистически значимое снижение количества ложноположительных результатов посева крови (с 9,1% до 2,8%) после того, как их учреждение приняло тактику, исключающую использование венозных катетеров для этой цели [22]. Ramsook C. и соавт. получили сходные результаты в 6-месячном исследовании 2431 образцов детских гемокультур с уровнем контаминации 3,4% для образцов, собранных с помощью венозных катетеров, и 2% – полученных с помощью венопункции ($p = 0,043$) [29]. Учитывая нежелание педиатров подвергать детей лишним болезненным процедурам, а также отсутствие четких доказательств того, какой подход лучше всего предотвращает контаминацию образцов, использование уже установленных катетеров для взятия крови на исследование в этой категории пациентов продолжается [30]. Однократные посевы крови особенно распространены у детей раннего возраста; этот факт в сочетании с более частым использованием культур из катетера затрудняет разграничение истинной бактериемии и контаминации, особенно когда в культуре выявляются КНС [31]. Для полученных от детей гемокультур, содержащих КНС, необходимы дополнительные данные для правильной интерпретации результатов. В конечном итоге контаминация посевов крови – сложная проблема, требующая системного подхода.

При выделении клинически значимых микроорганизмов из гемокультур крайне важно своевременное определение чувствительности к АМП и детерминант резистентности. Высокая распространенность различных детерминант резистентности затрудняет выбор АМП для эмпирической терапии и требует проведения регулярного микробиологического мониторинга с использованием современных методов [32].

Бактерии порядка Enterobacterales часто регистрируются в качестве возбудителей внутрибольничных инфекций [33]. В других исследованиях результаты определения чувствительности к АМП свидетельствуют о наиболее высокой активности цефтазидима/авибактама в отношении изолятов Enterobacterales: доля резистентных к нему изолятов составила 3,5%. Устойчивость к колистину выявлена у 18,6% от всех изолятов, принадлежащих в основном к видам Enterobacterales с природной резистентностью. Приобретенная резистентность к колистину выявлена у 9,4% изолятов *K. pneumoniae*. Резистентность к фосфомицину составила 51,2% у *K. pneumoniae*. Среди аминогликозидов наименьшей резистентностью обладал амикацин – 19,8% [34]. Отмечался рост резистентности штаммов *K. pneumoniae* к ингибиторозащищенным пенициллинам с 51,6% в

2012 г. до 83,7% в 2017 г. Существенный рост устойчивости *K. pneumoniae* наблюдался к карбапенемам: с 7,8% в 2012 г. до 82,9% в 2017 г. Напротив, к амикацину и тигециклину чувствительность *K. pneumoniae* увеличилась. Все штаммы *K. pneumoniae* сохраняли чувствительность к полимиксину [35].

По результатам нашего исследования, была выявлена довольно низкая *in vitro* активность в отношении *K. pneumoniae* для азтреонама, тикарциллина/клавуланата и пиперациллина/тазобактама, резистентность к которым составила 94%, 96% и 81% соответственно. Среди аминогликозидов резистентность к амикацину составила 65%, к гентамицину и тобрамицину – 81% и 90% соответственно.

Доля резистентных к цiproфлоксацину штаммов составила 73%, к левофлоксацину были резистентны все исследованные изоляты *K. pneumoniae*. К фосфомицину резистентными оказались 48% изолятов, к колистину и полимиксину – 33% и 24% соответственно. К цефалоспорином резистентность штаммов *K. pneumoniae* выявлена в 94% случаев для цефтазидима и до 87% для цефепима. Резистентность к карбапенемам – меропенему и имипенему – проявили 33% и 37% всех изолятов соответственно.

P. aeruginosa – один из наиболее значимых возбудителей нозокомиальных инфекций [36]. Возможности лечения инфекций, вызываемых этим патогеном, сильно ограничены из-за широкого спектра его природной резистентности, а также способности к формированию приобретенной устойчивости к АМП [10]. По результатам исследования «МАРАФОН» 2013–2014 гг., нечувствительность *P. aeruginosa* к пиперациллину/тазобактаму выявлена у 57,9% изолятов, к цефтазидиму – у 55,9%, к цефепиму – у 51,9%, к меропенему – у 59,7% [39]. В более поздних исследованиях большинство изолятов *P. aeruginosa* проявляли высокие уровни устойчивости к ингибиторозащищенным пенициллинам – тикарциллину/клавуланату (97,6%) и пиперациллину/тазобактаму (62,0%). Резистентность к антисегментным цефалоспорином – цефтазидиму и цефепиму – проявляли 56,8% и 51,5% изолятов соответственно. Устойчивость к цефтазидиму/авибактаму выявлена у 41,6% изолятов. Согласно новым критериям EUCAST, 41,5% изолятов были резистентны к азтреонаму. Резистентность к карбапенемам – меропенему и имипенему – была отмечена у 55,5% и 67,5% изолятов соответственно. Среди не-бета-лактамов АМП наиболее высокий уровень резистентности отмечен для цiproфлоксацина (63,3%). Резистентность к аминогликозидам – гентамицину, тобрамицину и амикацину – проявляли 56,3%, 54,2% и 47,7% изолятов соответственно. Наиболее активными *in vitro* были полимиксины. К колистину были устойчивы только 1,4% изолятов [37].

В другом исследовании изоляты *P. aeruginosa* также обладали высокой устойчивостью к АМП, при этом отмечался значительный рост резистентности к пиперациллину/тазобактаму – с 32,4% в 2012 г. до 79,2% в 2017 г. Также наблюдался рост устойчивости к амикацину с 44,1% до 73,4%. У 3 (1,7%) штаммов *P. aeruginosa*, выде-

ленных в 2017 г., была выявлена резистентность к АМП всех исследуемых классов. У штаммов *P. aeruginosa*, выделенных в 2017 г., обнаружена более высокая устойчивость ($\geq 70\%$ ко всем анализируемым классам АМП, кроме полимиксинов) [35]. В нашем исследовании резистентными к пиперациллину/тазобактаму были 43% изолятов, к цефтазидиму – 74%. Резистентностью к аминогликозидам обладали до 65%, к цiproфлоксацину – 70% штаммов. Изолятов *P. aeruginosa*, резистентных к колистину, выявлено не было.

Бактерии рода *Acinetobacter* являются еще одной распространенной причиной нозокомиальных инфекций [38–40]: *A. baumannii* занимает второе место по частоте после *P. aeruginosa*. Известно, что *A. baumannii* обладает высокой природной резистентностью к большинству бета-лактамов АМП. Согласно результатам исследований, проведенных в 2010–2014 гг., нечувствительность к оксиминоцефалоспорином выявлена более чем у 90% исследованных штаммов *A. baumannii*, а к карбапенемам – более 70% [11, 38–41]. В исследованиях 2015–2016 гг. большинство изолятов *A. baumannii* характеризовались высоким уровнем устойчивости к пиперациллину/тазобактаму, цефтазидиму и цефепиму. Резистентными к карбапенемам (имипенему и меропенему) были 77,4% и 77,1% соответственно. Крайне высокие показатели устойчивости отмечены для цiproфлоксацина (99%). Частота резистентности к аминогликозидам (амикацину, гентамицину, нетилмицину и тобрамицину) составляла 89,2%, 77,4%, 64,2% и 50,6% соответственно. Устойчивость к ко-тримоксазолу выявлена у 41,2% изолятов. Среди не-бета-лактамов АМП наиболее высокой *in vitro* активностью обладал колистин (0,9% резистентных изолятов) [42].

По результатам исследования, резистентность штаммов *A. baumannii*, выделенных в 2017 г., достигала 100% как к оксиминоцефалоспорином, так и к карбапенемам. Единственным активным препаратом для лечения инфекции, вызванной *A. baumannii*, оставался полимиксин. Однако в 2017 г. 2,5% выделенных штаммов *A. baumannii* оказались резистентны и к полимиксину, что свидетельствует о появлении серьезной проблемы при выборе АМП для лечения этих инфекций [35]. В нашей работе резистентность к ко-тримоксазолу составила 64%, а к остальным группам АМП – почти 100%. В динамике мы отмечали рост резистентности к меропенему и имипенему до 71%.

В настоящее время бактерии с множественной лекарственной устойчивостью, обитающие в экологических нишах больниц, создают проблемы при лечении [43]. Бактериологический профиль и паттерны лекарственной устойчивости, как правило, присущи учреждению, которое имеет дело с особой категорией пациентов [15]. Выявление распространенности генов резистентности среди микроорганизмов позволяет получить доказательства в пользу регулирования применения АМП. Такие данные обосновывают внедрение программ рационального использования АМП и стандартизированных руководств по инфекционному кон-

тролю. Знание модели устойчивости к АМП может мотивировать на разработку новых лекарств.

Наиболее распространенные карбапенемазы относятся к МБЛ класса В (VIM-, IMP- и NDM-типов) и сериновым карбапенемазам класса D (ОХА-48) и класса А (КРС). Быстрая диагностика инфекции и механизмов резистентности существенно влияет на исход заболевания [44]. На основании исследования, проведенного нашими коллегами, можно сделать вывод об увеличении продукции карбапенемаз у представителей порядка Enterobacteriales в стационарах России. Это ведет к росту числа случаев неэффективной терапии, антибиотикорезистентности и необходимости использования новых АМП [45].

У энтеробактерий чаще встречаются карбапенемазы молекулярного класса D, относящиеся к группе ОХА-48 (11,4%); молекулярного класса В, относящиеся к группе NDM-1 (2,7%); молекулярного класса А, относящиеся к группе КРС (< 0,1%). У 8 изолятов (0,3%) *K. pneumoniae* обнаружено одновременное наличие генов групп ОХА-48 и NDM-1 [34].

По сравнению с результатами исследования «МАРАФОН» в 2015–2016 гг., у *P. aeruginosa* отмечается увеличение частоты продукции карбапенемаз, главным образом МБЛ группы VIM и сериновых карбапенемаз группы GES-5 [37]. У *A. baumannii* отмечают наличие генов приобретенных карбапенемаз молекулярного класса D, относящихся к группам ОХА-24/40 (57,5%), ОХА-23 (18,4%) и ОХА-58 (0,1%), причем у некоторых изолятов наблюдается одновременное наличие генов ОХА-24/40 и ОХА-23-подобных бета-лактамаз [42].

В нашем исследовании резистентность к карбапенемам у изолятов *K. pneumoniae* была обусловлена продукцией карбапенемаз ОХА-48, у *P. aeruginosa* – наличием гена VIM, у *A. baumannii* – ОХА-40 и ОХА-23. Полученные нами результаты совпадают с данными других исследований.

Заключение

Результаты данного исследования свидетельствуют о широком распространении резистентности к большинству АМП среди штаммов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii*, выделенных из крови и ликвора. Особенно вызывает настороженность рост резистентности к карбапенемам и полимиксинам. Это сопровождается увеличением количества продуцентов карбапенемаз. Так, доля штаммов *K. pneumoniae*, резистентных к меропенему и имипенему, составила 33% и 37% от всех изолятов соответственно. Резистентность к колистину и полимиксину у изолятов *K. pneumoniae* составила 33% и 24% соответственно. Среди *P. aeruginosa* резистентными к меропенему были 65% изолятов, к имипенему – 74%. Наиболее высокую *in vitro* активность в отношении *P. aeruginosa* проявляли полимиксины. Штаммов, нечувствительных к колистину, выявлено не было. *A. baumannii* оказались нечувствительными к меропенему в 64% случаев, к имипенему – 71%. Наиболее высокую *in vitro* активность в отношении *A. baumannii* проявил полимиксин, к нему не было ни одного резистентного штамма. К колистину оказались резистентны 29% изолятов.

Литература

1. Shamina O.V., Samoilova E.A., Novikova I.E., Lazareva A.V. *Klebsiella pneumoniae*: microbiological characteristics, antibiotic resistance and virulence. *Rossiiskij pediatricheskij zhurnal*. 2020;23(3):191-197. Russian. (Шамина О.В., Самойлова Е.А., Новикова И.Е., Лазарева А.В. *Klebsiella pneumoniae*: микробиологическая характеристика, антибиотикорезистентность и вирулентность. *Российский педиатрический журнал*. 2020;23(3):191-197.) DOI: 10.18821/1560-9561-2020-23-3-191-197
2. Santajit S., Indrawattana N. Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *Biomed Res Int*. 2016;2016:1-8. DOI: 10.1155/2016/2475067
3. Pendleton J.N., Gorman S.P., Gilmore B.F. Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013;11(3):297-308. DOI: 10.1586/eri.13.12
4. Boucher H.W., Talbot G.H., Bradley J.S., Edwards J.E., Gilbert D., Rice L.B., et al. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America. *Clin Infect Dis*. 2009;48(1):1-12. DOI: 10.1086/595011
5. Bassetti M., Vena A., Croxatto A., Righi E., Guery B. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs Context*. 2018; 29;7:212527. DOI: 10.7573/dic.212527
6. Savinova T.A., Lazareva A.V., Shamina O.V., Kryzhanovskaya O.A., Chebotar I.V., Mayanskiy N.A. Genotypes and metallo-beta-lactamases carriage in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from children in Moscow. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaya himioterapiya*. 2018;20(4):370-374. Russian. (Савинова Т.А., Лазарева А.В., Шамина О.В., Крыжановская О.А., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. Генотипы и носительство металло-бета-лактамаз среди карбапенеморезистентных *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных у детей в г. Москве. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2018;20(4):370-374.) DOI: 10.36488/смс.2018.4.370-374
7. Pfeifer Y., Cullik A., Witte W. Resistance to cephalosporins and carbapenems in Gram-negative bacterial pathogens. *Int J Med Microbiol*. 2010;300(6):371-379. DOI: 10.1016/j.ijmm.2010.04.005
8. Russo T.A., Thomas A., Luke N.R., Beanan J.M., Olson R., Sauberman S.L., et al. The K1 capsular polysaccharide of *Acinetobacter baumannii* strain 307-0294 is a major

- virulence factor. *Infect Immun.* 2010;78(9):3993-4000. DOI: 10.1128/iai.00366-10
9. Lazareva A.V., Chebotar I.V., Kryzhanovskaya O.A., Chebotar V.I., Mayansky N.A. *Pseudomonas aeruginosa*: pathogenicity, pathogenesis and pathology. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaya himioterapiya.* 2015;17(3):170-186. Russian. (Лазарева А.В., Чеботарь И.В., Крыжановская О.А., Чеботарь В.И., Маянский Н.А. *Pseudomonas aeruginosa*: патогенность, патогенез и патология. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2015;17(3):170-186.)
 10. Zarrilli R., Pournaras S., Giannouli M., Tsakris A. Global evolution of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* clonal lineages. *Int J Antimicrob Agents.* 2013;41(1):11-19. DOI:10.1016/j.ijantimicag.2012.09.008
 11. Potron A., Poirel L., Nordmann P. Emerging broad-spectrum resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*: Mechanisms and epidemiology. *Int J Antimicrob Agents.* 2015;45(6):568-585. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2015.03.001
 12. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Clinical breakpoints – breakpoints and guidance. Version 10.0. 2020. Available at: www.eucast.org/clinical_breakpoints. Accessed May 2020.
 13. Exline M.C., Ali N.A., Zikri N., Mangino J.E., Torrence K., Vermillion B., et al. Beyond the bundle-journey of a tertiary care medical intensive care unit to zero central line-associated bloodstream infections. *Crit Care.* 2013;17(2):41. DOI: 10.1186/cc12551
 14. Hugonnet S., Sax H., Eggimann P., Chevrolet J., Pittet D. Nosocomial bloodstream infection and clinical sepsis. *Emerg Infect Dis.* 2004;10(1):76-81. DOI: 10.3201/eid1001.030407
 15. Parameswaran R., Sherchan J. B., Muralidhar V. D., Mukhopadhyay C., Vidyasagar S. Intravascular catheter-related infections in an Indian tertiary care hospital. *J Infect Dev Ctries.* 2010;5(6):452-458. DOI: 10.3855/jidc.1261
 16. Healthcare Infection Control Practices Advisory Committee (HICPAC). Meeting Summary Report. October 11-12, 2012. Available at: www.cdc.gov/hicpac/minutes. Accessed May 2020.
 17. Datta S., Wattal C., Goel N., Oberoi J. K., Raveendran R., Prasad K.J. A ten year analysis of multi-drug resistant blood stream infections caused by *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care hospital. *Indian J Med Res.* 2012;135(6):907-912. PMID: 22825611
 18. Weinstein M.P., Towns M.L., Quartey S.M., Mirrett S., Reimer L.G., Parmigiani G., et al. The clinical significance of positive blood cultures in the 1990s: a prospective comprehensive evaluation of the microbiology, epidemiology, and outcome of bacteremia and fungemia in adults. *Clin Infect Dis.* 1997;24(4):584-602. DOI: 10.1093/clind/24.4.584
 19. Weinstein M.P. Blood culture contamination: persisting problems and partial progress. *J Clin Microbiol.* 2003;41(6):2275-2278. DOI: 10.1128/jcm.41.6.2275-2278.2003
 20. Calfee D.P., Farr B.M. Comparison of four antiseptic preparations for skin in the prevention of contamination of percutaneously drawn blood cultures: a randomized trial. *J Clin Microbiol.* 2002;40(5):1660-1665. DOI: 10.1128/jcm.40.5.1660-1665.2002
 21. Norberg A., Christopher N.C., Ramundo M.L., Bower J.R., Berman S.A. Contamination rates of blood cultures obtained by dedicated phlebotomy vs intravenous catheter. *JAMA.* 2003;289(6):726-729. DOI: 10.1001/jama.289.6.726
 22. Rubin L. G., Sanchez P.J., Siegel J., Levine G., Saiman L., Jarvis W. R., et al. Evaluation and treatment of neonates with suspected late-onset sepsis: a survey of neonatologists' practices. *Pediatrics.* 2002;110(4):42. DOI: 10.1542/peds.110.4.e42
 23. Schiffman R.B., Strand C.L., Meier F.A., Howanitz P.J. Blood culture contamination: a College of American Pathologists Q-Probes study involving 640 institutions and 497134 specimens from adult patients. *Arch Pathol Lab Med.* 1998;122(3):216-221. PMID: 9823858
 24. Souvenir D., Anderson D.E., Palpant Jr.S., Mroch H., Askin S., Anderson J., et al. Blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: antisepsis, pseudo-bacteremia, and therapy of patients. *J Clin Microbiol.* 1998;36(7):1923-1926. DOI: 10.1128/jcm.36.7.1923-1926.1998
 25. Chandrasekar P.H., Brown W.J. Clinical issues of blood cultures. *Arch Intern Med.* 1994;154(8):841. DOI: 10.1001/archinte.1994.00420080023003
 26. Huang A.H., Yan J.J., Wu J.J. Comparison of five days versus seven days of incubation for detection of positive blood cultures by the Bactec 9240 system. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 1998;17(9):637-641. DOI: 10.1007/s100960050147
 27. Tokars J.I. Predictive value of blood cultures positive for coagulase-negative staphylococci: implications for patient care and health care quality assurance. *Clin Infect Dis.* 2004;39(3):333-341. DOI: 10.1086/421941
 28. Ramsook C., Childers K., Cron S.G., Nirken M. Comparison of blood-culture contamination rates in a pediatric emergency room: newly inserted intravenous catheters versus venipuncture. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2000;21(10):649-651. DOI: 10.1086/501708
 29. McQuillen K.K., Santucci K.A., Conrad M.A., Nelson D.G., Lewander W., Duffy S.J., et al. Intravenous catheter blood cultures: utility and contamination. *Pediatrics.* 1999;103(4):52. DOI: 10.1542/peds.103.4.e52
 30. BATTERY J.P. Blood cultures in newborns and children: optimising an everyday test. *Arch Dis Child Fetal Neonatal Ed.* 2002;87(1):25-28. DOI: 10.1136/fn.87.1.f25
 31. Kutsevalova O.Yu., Kozel Yu.Yu., Rosenko D.A., Martynov D.V., Korshunkova O.V. Analysis of antibiotic resistance of the main gram-negative pathogens in hospitals in Rostov-on-Don and the region. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaya himioterapiya.* 2020;22(2):143-148. Russian. (Кутсвалова О.Ю., Козель Ю.Ю., Розенко Д.А., Мартынов Д.В., Коршункова О.В. Анализ антибиотикорезистентности основных грамотрицатель-

- ных возбудителей в больницах Ростова-на-Дону и области. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2020;22(2):143-148.) DOI: 10.36488/смас.2020.2.143-148
32. Sukhorukova M.V., Eidelshtein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Mikotina A.V., Dekhnich A.V., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacteriaceae isolates in Russia: results of a multicentre epidemiological study "MARATHON" 2013-2014. *Kliniceskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia*. 2017;19(1):49-56. Russian. (Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Дехнич А.В. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования "МАРАФОН" 2013-2014. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017;19(1):49-56.)
 33. Sukhorukova M.V., Edelstein M. V., Ivanchik N.V., Skleenova, E.Yu., Shajdullina E.R., Azizov I., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacterales isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "MARATHON 2015-2016". *Kliniceskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia*. 2019;21(2):147-159. Russian. (Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Иванчик Н.В., Скленова Е.Ю., Шайдулина Е.Р., Азизов И. и соавт. Устойчивость к антибиотикам внутрибольничных штаммов Enterobacterales в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015-2016». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(2):147-159.) DOI: 10.36488/смас.2019.2.147-159
 34. Pervukhin S.A., Statsenko I.A., Ivanova E.Yu., Palmash A.V., Vitkovskaya I.V., Zhidkova O.V., et al. Antimicrobial resistance of Gram-negative pathogens of nosocomial pneumonia in intensive care unit patients. *Kliniceskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia*. 2019;21(1):62-68. (Первухин С.А., Стаценко И.А., Иванова Э.Ю., Пальмаш А.В., Витковская И.В., Жидкова О.В. и соавт. Устойчивость к антибиотикам грамотрицательных возбудителей внутрибольничной пневмонии у больных реанимации. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(1):62-68.) DOI: 10.36488/смас.2019.1.62-68
 35. Eidelshtein M.V., Sukhorukova M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Mikotina A.V., Shek E.A., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: results of a multicentre epidemiological study "MARATHON" 2013-2014. *Kliniceskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia*. 2017;19(1):37-41. Russian. (Эйдельштейн М.В., Сухорукова М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Шек Е.А. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013-2014. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017;19(1):37-41.)
 36. Edelstein M.V., Sukhorukova E.A., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Shajdullina E.R., Mikotina A.V. et al. Antimicrobial resistance, carbapenemase production, and genotypes of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "MARATHON 2015-2016". *Kliniceskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia*. 2019;21(2):160-170. Russian. (Эйдельштейн М.В., Сухорукова Е.А., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Шайдулина Е.Р., Микотина А.В. и соавт. Устойчивость к антибиотикам, продукция карбапенемаз и генотипы внутрибольничных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в российских больницах: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015-2016». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(2):160-170.) DOI: 10.36488/смас.2019.2.160-170
 37. Gordinskaya N.A., Sabirova E.V., Abramova N.V., Dudareva E.V., Savochkina Yu.A. Characteristics of nosocomial strains of *Acinetobacter* spp. in a trauma center. *Kliniceskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia*. 2013;15(2):143-146. Russian. (Гординская Н.А., Сабирова Е.В., Абрамова Н.В., Дударева Е.В., Савочкина Ю.А. Особенности внутрибольничных штаммов *Acinetobacter* spp. в травматологической клинике. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2013;15(2):143-146.)
 38. Sukhorukova M.V., Eidelshtein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Shek E.A., Dekhnich A.V., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial *Acinetobacter* spp. isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "MARATHON" 2013-2014. *Kliniceskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia*. 2017;19(1):42-48. Russian. (Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Шек Е.А., Дехнич А.В. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013-2014. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017;19(1):42-48.)
 39. Bogomolova N.S., Bolshakov L.V., Kuznetsova S.M. Problems of treatment of purulent-inflammatory complications caused by *Acinetobacter*. *Anestezilogija i reanimatologija*. 2014;1:26-32. Russian. (Богомолова Н.С., Большаков Л.В., Кузнецова С.М. Проблемы лечения гнойно-воспалительных осложнений, вызванных *Acinetobacter*. Анестезиология и реаниматология. 2014;1:26-32.)
 40. Martinovich A.A. Resistance trends and epidemiology of *Acinetobacter* infections in Russia. *Kliniceskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia*. 2010;12(2):96-105. Russian. (Мартинович А.А. Динамика устойчивости к противомикробным препаратам и эпидемиология инфекций, вызываемых *Acinetobacter* spp. в России. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2010;12(2):96-105.)
 41. Shek E.A., Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Shajdullina E.R., et al. Antimicrobial resistance, carbapenemase production, and genotypes of nosocomial *Acinetobacter* spp. isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "MARATHON 2015-2016". *Kliniceskaa mikrobiologia*

- i antimikrobnaa himioterapia. 2019;21(2):171-180. Russian. (Шек Е.А., Сухорукова М.В., Эдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Шайдуллина Е.Р. и соавт. Устойчивость к антибиотикам, образование карбапенемаз и генотипы внутрибольничных штаммов *Acinetobacter* spp. в больницах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015-2016». Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2019;21(2):171-180.) DOI: 10.36488/смас.2019.2.171-180
42. Kang C.I., Kim S.H., Park W.B., Lee K.D., Kim H.B., Kim E.C., et al. Bloodstream infections caused by antibiotic-resistant gram-negative bacilli: risk factors for mortality and impact of inappropriate initial antimicrobial therapy on outcome. *Antimicrob Agents Chemother.* 2005;49(2):760-766. DOI: 10.1128/aac.49.2.760-766.2005
43. Kumar A., Roberts D., Wood K.E., Light B., Parrillo J.E., Sharma S., et al. Duration of hypotension before initiation of effective antimicrobial therapy is the critical determinant of survival in human septic shock. *Crit Care Med.* 2006;34(6):1589-1596. DOI: 10.1097/01.ccm.0000217961.75225.e9
44. Shaidullina E.R., Eidelstein M.V., Skleenova E.Yu., Sukhorukova M.V., Kozlov R.S. Antibiotic resistance of nosocomial carbapenemase-producing strains of Enterobacterales in Russia: results of an epidemiological study 2014-2016. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapia.* 2018;20(4):362-369. Russian. (Шайдуллина Е.Р., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Сухорукова М.В., Козлов Р.С. Устойчивость к антибиотикам внутрибольничных штаммов Enterobacterales, продуцирующих карбапенемазы, в России: результаты эпидемиологического исследования 2014-2016 гг. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2018;20(4):362-369.) DOI: 10.36488/смас.2018.4.362-369