

УДК

## Динамика распространенности и чувствительности БЛРС-продуцирующих штаммов энтеробактерий к различным антимикробным препаратам в ОРИТ России

М. В. Эйдельштейн<sup>1</sup>, Л. С. Страчунский<sup>1</sup>, исследовательская группа РОСНЕТ<sup>2</sup>

<sup>1</sup> НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленск

Изучена распространенность продукции  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра (БЛРС) среди нозокомиальных штаммов энтеробактерий, выделенных в ОРИТ различных регионов России в 1997–1998 гг. и 2003 г. Выявлено стремительное нарастание частоты встречаемости БЛРС, в основном за счет распространения  $\beta$ -лактамаз СТХ-М-типа. Результаты оценки чувствительности штаммов-продуцентов БЛРС к различным препаратам *in vitro* свидетельствуют о значи-

тельном снижении активности небеталактамовых препаратов (амикацина и ципрофлоксацина) за указанный период. Препаратами выбора для терапии нозокомиальных инфекций, вызванных продуцентами БЛРС, остаются карбапенемы и цефоперазон/сульбактам.

**Ключевые слова:**  $\beta$ -лактамазы расширенного спектра, энтеробактерии, нозокомиальные инфекции.

<sup>2</sup> Агапова Е.Д. (Областная детская клиническая больница, Иркутск); Александрова И.А. (НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко, Москва); Афиногенов В.Е. (Российский НИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена, Санкт-Петербург); Ахметова Л.И. (Клиническая больница скорой медицинской помощи, Екатеринбург); Бирюков В.В. (Городской диагностический центр, Рязань); Богомолова Н.С. (Государственный научный центр хирургии, Москва); Боронина Л.Г. (Областная детская клиническая больница № 1, Екатеринбург); Гугицидзе В.Н. (Клиническая больница при УД Президента РФ, Москва); Гудкова Л.В. (Томская областная клиническая больница, Томск); Здзитовецкий Д.Э. (Клиническая больница скорой медицинской помощи, Красноярск); Зубарева Н.А. (Городская клиническая больница №6, Пермь); Ильина В.Н. (Новосибирская областная клиническая больница, Новосибирск); Карпухина Л.Н. (Дальневосточная центральная бассейновая больница, Владивосток); Кречикова О.И. (Смоленская областная клиническая больница, Смоленск); Курчавов В.А. (Детская городская клиническая больница № 13 им. Н.Н. Филатова, Москва); Марусина Н.Е. (Республиканская детская клиническая больница, Казань); Мултых И.Г. (Городская клиническая больница № 2, Краевой диагностический центр, Краснодар); Нехаева Г.И. (Городская клиническая больница № 10 «Электроника», Воронеж); Ортенберг Э.А. (Городская клиническая больница № 2, Тюмень); Перьянова О.В. (Городская клиническая больница № 7, Красноярск); Поликарпова С.В. (Городская клиническая больница № 15, Москва); Ритчик Л.А. (Центральная клиническая больница при УД Президента РФ, Москва); Розанова С.М. (Городская клиническая больница №40, Екатеринбург); Сарматова Н.И. (Краевая клиническая больница, Красноярск); Скальский С.В. (Омская областная клиническая больница, Омск); Строганов В.П. (Детская городская клиническая больница № 9 им. Г.Н. Сперанского, Москва); Суборова Т.Н. (Российская военно-медицинская академия, Санкт-Петербург); Тарабан В.К. (Краевая клиническая больница, Краснодар); Тец В.В. (Государственный медицинский университет им. И.П. Павлова, Санкт-Петербург); Тихонов Ю.Г. (Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко, Москва); Туркупоков В.Б. (Краевая клиническая больница №1, Владивосток); Фурлетова Н.М. (Клиническая больница № 23 им. Медсантруд, Москва); Хасанова С.Г. (Городская клиническая больница № 21, Уфа); Щетинин Е.В. (Детская краевая клиническая больница, Ставрополь).

Контактный адрес:

## Trends in the Prevalence and Susceptibility of ESBL-producing *Enterobacteriaceae* to Various Antimicrobial Agents in Russian ICUs

M. V. Edelstein<sup>1</sup>, L. S. Stratchounski<sup>1</sup>, and the ROSNET study group<sup>2</sup>

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

The prevalence of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase (ESBL) production in nosocomial *Enterobacteriaceae* isolated in ICUs of various regions of Russia in 1997–1998 and 2003 was studied. Here, we report the dramatic increase in the incidence of ESBLs, attributed mainly to the dissemination of the CTX-M-type  $\beta$ -lactamases. The results of in vitro susceptibility testing of ESBL producers indicate that the activity of non- $\beta$ -lactam agents (amika-

cin and ciprofloxacin) significantly decreased during the time period of the study. Carbapenems and cefoperazone/sulbactam presently remain the drugs of choice for the treatment of nosocomial infections caused by ESBL producers.

**Key words:** extended-spectrum  $\beta$ -lactamase, *Enterobacteriaceae*, nosocomial infections

### Введение

Резистентность нозокомиальных энтеробактерий к беталактамам, обусловленная продукцией  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС), представляют серьезную проблему здравоохранения во всем мире. Особое значение БЛРС определяется прежде всего их способностью обуславливать устойчивость ко всем современным цефалоспорином, которые широко используются для лечения нозокомиальных инфекций. В свою очередь, снижение эффективности цефалоспоринов III–IV поколения диктует необходимость выбора адекватной терапии нозокомиальных инфекций, вызванных БЛРС-продуцирующими штаммами энтеробактерий.

Известно, что стабильными к действию БЛРС являются карбапенемы, однако их высокая стоимость и необходимость сохранения в качестве пре-

паратов резерва подчеркивает насущность изучения активности других антибиотиков в отношении БЛРС-продуцирующих энтеробактерий.

Комбинации беталактамов с ингибиторами  $\beta$ -лактамаз (клавулановой кислотой, сульбактамом или тазобактамом) могут рассматриваться в качестве возможной альтернативы цефалоспорином III и IV поколения, так как БЛРС обычно чувствительны к действию ингибиторов. Тем не менее, на практике различные комбинации беталактамов с ингибиторами значительно различаются по своей активности в отношении БЛРС-продуцирующих штаммов. Резистентность зачастую может быть обусловлена гиперпродукцией БЛРС или продукцией нескольких  $\beta$ -лактамаз [1–5]. Из всех существующих комбинаций беталактамов с ингибиторами цефоперазон/сульбактам (1:1) потенциально способен обладать наибольшей активностью в отношении БЛРС-продуцирующих штаммов, поскольку

<sup>2</sup> **Agapova E.D.** (Regional Pediatric Hospital, Irkutsk); **Alexandrova I.A.** (Research Institute of Neurosurgery named under N.N. Burdenko, Moscow); **Afinogenov V.E.** (Russian Research Institute for Traumatology and Orthopedic named under R.R. Vredena, Saint-Petersburg); **Ahmetova L.I.** (Clinical Emergency Hospital, Ekaterinburg); **Biryukov V.V.** (Municipal Diagnostic Center, Ryazan); **N.S. Bogomolova** (Scientific Center of Surgery of the Russian Academy of Medical Science, Moscow); **Boronina L.G.** (Pediatric Regional Clinical Hospital, Ekaterinburg); **Gugutcidze E.N.** (Central Clinical Hospital of Business Department of the President of Russian Federation, Moscow); **Gudkova L.V.** (Regional Clinical Hospital, Tomsk); **Zdzitovetcky D.E.** (Emergency City Hospital, Krasnoyarsk); **Zubareva N.A.** (City Hospital №6, Perm); **Ilyina V.N.** (Regional Clinical Hospital, Novosibirsk); **Karpukhina L.N.** (Far-Eastern Hospital, Vladivostok); **Kretchikova O.I.** (Smolensk Regional Hospital, Smolensk); **Kurchavov V.A.** (Pediatric City Clinical Hospital No 13, Moscow); **Marusina N.E.** (Children Republican Clinical Hospital, Kazan); **Multih I.G.** (City Hospital №2, Clinical Diagnostic Centre, Krasnodar); **Nehaeva G.I.** (City Hospital № 10 «Electronica», Voronej); **Ortenberg E.A.** (City Hospital № 2, Tumen); **Peryanova O.V.** (City Clinical Hospital No 7, Krasnoyarsk); **Polikarpova S.V.** (City Clinical Hospital No 15, Moscow); **Ritchik L.A.** (Central Clinical Hospital of Business Department of the President of Russian Federation, Moscow); **Rozanova S.M.** (City Hospital №40, Ekaterinburg); **Sarmatova N.I.** (Regional Clinical Hospital, Krasnoyarsk); **Skalskiy S.V.** (Regional Hospital, Omsk); **Stroganov V.M.** (Pediatric City Clinical Hospital No 9, Moscow); **Suborova T.N.** – Academy of Military Medicine, Saint-Petersburg); **Taraban V.K.** (Regional Clinical Hospital, Krasnodar); **Tez V.V.** (State Medical University named under I.P. Pavlov, Saint-Petersburg); **Tikhonov Yu.G.** (Main Military Clinical Hospital named under N.N. Burdenko, Moscow); **Turkutukov V.B.** (Regional Clinical Hospital №1, Vladivostok); **Furletova N.M.** (City Clinical Hospital No.23, Moscow); **Hasanova S.G.** (City Clinical Hospital No.21, Ufa); **Schetinin E.V.** (Stavropol State Medical Academy, Stavropol).

цефоперазон более стабилен к действию  $\beta$ -лактамаз класса А, чем пенициллины (ампициллин, амоксициллин, тикарциллин и пиперациллин). Однако данные сравнения активности цефоперазона/сульбактама и ингибиторозащищенных пенициллинов в отношении большого числа продуцентов БЛРС в публикуемых материалах отсутствуют.

Наряду с этим, *in vitro* активность различных беталактамов в отношении продуцентов  $\beta$ -лактамаз может зависеть от изменения микробного числа. Данный феномен, известный как «инокулюм-эффект», позволяет предсказать возможность клинической неэффективности антибиотиков при тяжелых генерализованных инфекциях с высокой микробной нагрузкой [6–10].

Необходимо также учитывать, что БЛРС-продуцирующие штаммы часто проявляют устойчивость к небеталактамам препаратам, в частности к фторхинолонам и аминогликозидам [11–15]. Причинами повышенной устойчивости БЛРС-продуцентов к небеталактамам препаратам являются: ко-селекция резистентности, связанная с более частым воздействием на нозокомиальные штаммы различных антибиотиков [14, 16], а также сцепление генов, кодирующих БЛРС, аминогликозидмодифицирующие ферменты и факторы устойчивости к хинолонам на плазидах [17–20]. Данные исследований, проводимых в различных странах, свидетельствуют о наличии существенных различий в частоте резистентности БЛРС-продуцирующих штаммов ко всем потенциально активным в отношении данной группы микроорганизмов антибиотикам [12, 21–24].

В настоящей публикации представлены результаты исследования распространенности и спектра БЛРС у нозокомиальных штаммов энтеробактерий, выделенных в российских стационарах в 1997–1998 гг. и в 2003 г., а также данные по изучению активности ингибиторозащищенных беталактамов, цефепима, карбапенемов и ряда небеталактамов антибиотиков в отношении этих штаммов. Полученные данные могут служить основой для разработки рекомендаций по антибактериальной терапии инфекций, вызванных БЛРС-продуцирующими микроорганизмами.

### Материал и методы исследования

**Клинические штаммы.** Всего было исследовано 544 БЛРС-продуцирующих штамма микроорганизмов семейства *Enterobacteriaceae*: 148 *Escherichia coli*, 346 *Klebsiella pneumoniae* и 50 *Proteus mirabilis* (повторно выделенные штаммы не включались в исследование). Из них 242 (46 *E. coli*, 160 *K. pneumoniae* и 36 *P. mirabilis*) выделены от пациентов ОРИТ 23

российских стационаров в 1997–1998 гг. и 300 штаммов (100 *E. coli*, 186 *K. pneumoniae* и 14 *P. mirabilis*), выделенных из ОРИТ 21 стационара различных регионов России в 2003 г. (табл. 1).

Начальная идентификация вида микроорганизмов была осуществлена непосредственно в лечебных центрах – участниках исследования с использованием принятых в каждой лаборатории методов. Реидентификация всех штаммов была выполнена в НИИ антимикробной химиотерапии (Смоленск) при помощи коммерческих систем АР120Е (bioMérieux, Франция). Штаммы хранились при температуре  $-70^{\circ}\text{C}$  непосредственно до проведения анализа.

**Фенотипическое обнаружение БЛРС.** Определение продукции БЛРС проводили с помощью метода «двойных дисков» и дополнительно путем сравнения МПК цефалоспоринов III поколения (цефотаксима и цефтазидима) и их комбинаций с клавулановой кислотой в соответствии с Методическими указаниями МЗ РФ [25] и стандартами NCCLS США [26]. Штаммы *K. pneumoniae* ATCC 700603<sup>®</sup> (SHV-18) и *E. coli* ATCC 35218<sup>®</sup> (TEM-1) были использованы в качестве положительного и отрицательного контроля соответственно.

**Молекулярное типирование  $\beta$ -лактамаз.** Для выявления генов, кодирующих наиболее распространенные  $\beta$ -лактамазы класса А – TEM-, SHV- и CTX-M-типов, использовали ПЦР с ранее описанными праймерами [24, 27–29].

Принадлежность CTX-M  $\beta$ -лактамаз к одному из 5 известных генетических кластеров (CTX-M-1-, CTX-M-2-, CTX-M-9-, CTX-M-8- и CTX-M-25-родственных ферментов) определяли с помощью анализа полиморфизма длины рестрикционных фрагментов ПЦР-продуктов (ПЦР-ПДРФ) [24].

Для идентификации БЛРС SHV-типа использовали мультиплексную ПЦР в режиме реального времени с четырьмя MGB Eclipse зондами (Epoch Biosciences, США), комплементарными участкам, мутации в которых определяют расширенный спектр активности (кодона: 146, 149, 156, 179, 238 и 240, согласно стандартной нумерации R. Ambler для  $\beta$ -лактамаз класса А) [29,30].

**Определение чувствительности БЛРС-продуцентов к антибиотикам.** Минимальные подавляющие концентрации (МПК) амоксициллина/клавуланата (2:1), пиперациллина/тазобактама (с фиксированной концентрацией тазобактама 4 мг/л), цефоперазона/сульбактама (1:1), цефепима, имипенема, меропенема, гентамицина, амикацина и ципрофлоксацина определяли методом разведения в агаре Мюллера–Хинтон (Becton Dickinson,

Таблица 1. Лечебные центры – участники исследования

Город	Лечебный центр	1997–1998 гг.	2003 г.
Владивосток	Дальневосточная центральная бассейновая больница	+	–
	Краевая клиническая больница №1	–	+
Воронеж	Городская клиническая больница № 10 «Электроника»	–	+
Екатеринбург	Городская клиническая больница №40	–	+
	Клиническая больница скорой медицинской помощи Областная детская клиническая больница № 1	+	+
Иркутск	Областная детская клиническая больница	–	+
Казань	Республиканская детская клиническая больница	+	+
Краснодар	Городская клиническая больница №2		+
	Краевая клиническая больница	+	+
	Краевой диагностический центр	+	–
Красноярск	Городская клиническая больница № 7	+	–
	Клиническая больница скорой медицинской помощи	+	+
	Краевая клиническая больница	–	+
Москва	Главный военный клинический госпиталь им. Н.Н. Бурденко	+	+
	Городская клиническая больница № 15	+	+
	Государственный научный центр хирургии	+	+
	Детская городская клиническая больница № 13 им. Н.Н. Филатова	+	–
	Детская городская клиническая больница № 9 им. Г.Н. Сперанского	+	–
	Клиническая больница № 23 им. Медсантруд	+	–
	Клиническая больница при УД Президента РФ	+	–
	НИИ нейрохирургии им. Н.Н. Бурденко	+	+
Центральная клиническая больница при УД Президента РФ	+	–	
Новосибирск	Новосибирская областная клиническая больница	+	+
Омск	Омская областная клиническая больница	+	+
Пермь	Городская клиническая больница №6	–	+
Рязань	Городской диагностический центр	+	–
Санкт-Петербург	Государственный медицинский университет им. И.П. Павлова	+	–
	Российская военно-медицинская академия	+	+
	Российский НИИ травматологии и ортопедии им. Р.Р. Вредена	+	–
Смоленск	Смоленская областная клиническая больница	+	+
Ставрополь	Детская краевая клиническая больница	+	+
Томск	Томская областная клиническая больница	+	+
Тюмень	Городская клиническая больница № 2	–	+
Уфа	Городская клиническая больница № 21	+	–

США). Результаты определения чувствительности интерпретировали в соответствии со стандартами NCCLS, 2004 г. [26]. Ввиду отсутствия интерпретационных критериев NCCLS для цефоперазона/сульбактама, категории чувствительности к данной комбинации определяли с использованием пограничных значений МПК цефоперазона, по аналогии с другими комбинациями беталактамов с ингибиторами. Штаммы *E. coli* ATCC 25922<sup>®</sup>, ATCC 35218<sup>®</sup> и *P.aeruginosa* ATCC 27853<sup>®</sup> использовали для контроля качества определения чувствительности. Статистический анализ чувствительности проводили с помощью программы M-Lab (НИИ антимикробной химиотерапии, Смоленск).

**Определение инокулюм-эффекта.** Влияние микробной нагрузки (инокулюм-эффект) на анти-

бактериальную активность цефоперазона/сульбактама, амоксициллина/клавуланата, пиперациллина/тазобактама и цефепима было изучено для 19 лабораторных штаммов *E. coli*, продуцирующих известные БЛРС (типов TEM-3, TEM-4, TEM-5, TEM-6, TEM-7, TEM-9, TEM-10, TEM-11, TEM-12, TEM-26, SHV-2, SHV-3, SHV-4, SHV-5, SHV-6, CTX-M-3, CTX-M-5, CTX-M-9, CTX-M-15) и для 199 произвольно выбранных БЛРС-положительных клинических штаммов *E. coli* (n=46) и *K. pneumoniae* (n=153) из всех стационаров – участников исследования.

Сравнительную оценку МПК при стандартной ( $5 \times 10^5$  КОЕ/мл) и повышенной ( $5 \times 10^7$  КОЕ/мл) плотности инокулюма осуществляли с приме метода микроразведений в бульоне Мюллер-Хинтон

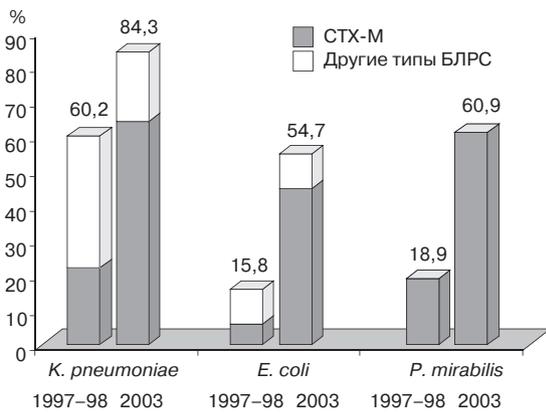


Рис. 1. Распространенность БЛРС среди нозокомиальных штаммов, выделенных в российских стационарах в 1997–1998 гг. и в 2003 г.

(Becton Dickinson, США). Для стандартизации инокулюма использовали фотометр Densimat (bio-Mérieux, Франция), калиброванный по стандартам мутности Мак-Фарланда. Значения МПК учитывали через 18 ч инкубации при 35 °С, результаты оценивали согласно стандартам NCCLS, 2004 г. [26].

**Результаты исследования**

**Распространенность БЛРС среди нозокомиальных штаммов**

Распространенность БЛРС-продуцирующих нозокомиальных штаммов в различных стационарах России была исследована в течение двух периодов: в 1997–1998 гг. и в 2003 г. Суммарные данные о час-

тоте продукции БЛРС у наиболее распространенных представителей семейства *Enterobacteriaceae* – *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. mirabilis* показаны на рис. 1. В 1997–1998 гг. БЛРС были обнаружены более чем у 60,2% штаммов *K. pneumoniae*, у 15,8% – *E. coli*, и у 18,9% – среди *P. mirabilis*. БЛРС-положительные штаммы были выявлены во всех включенных в исследование центрах, хотя и с различной частотой (от 8,1% в Омской областной клинической больнице до 90,0% в Главном военном клиническом госпитале им. Н.Н. Бурденко). Распространенность БЛРС среди нозокомиальных штаммов энтеробактерий существенно отличалась даже между стационарами одного города. Так, например, БЛРС были выявлены у 10,0, 16,7, 17,0, 23,7, 26,5, 58,3, 87,1 и 90,0% штаммов соответственно в 8 стационарах Москвы.

В 2003 г. было отмечено значительное увеличение частоты БЛРС. Доля продуцентов БЛРС достигла 84,3% среди нозокомиальных штаммов *K. pneumoniae*, 54,7% – среди штаммов *E. coli* и 60,9% – среди штаммов *P. mirabilis*. Важно отметить, что существенное увеличение частоты БЛРС было связано в основном с чрезвычайно быстрым распространением β-лактамаз CTX-M типа: за пятилетний период частота CTX-M БЛРС возросла более чем в 3 раза среди штаммов *K. pneumoniae* и *P. mirabilis* и почти в 8 раз среди штаммов *E. coli* (см. рис. 1). В некоторых стационарах, например в Государственном научном центре хирургии (Москва), Краснодарской краевой клинической



Рис. 2. Частота выделения (в %) БЛРС-продуцирующих энтеробактерий в стационарах различных городов России в 2003 г.

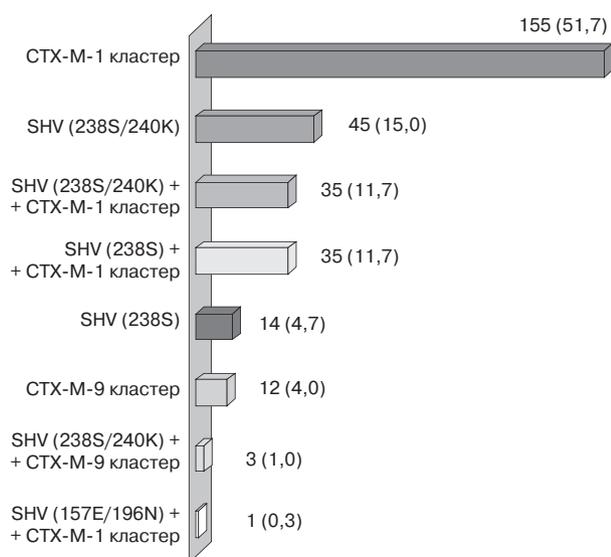


Рис. 3. Распространенность различных типов БЛРС и их комбинаций у нозокомиальных штаммов, выделенных в 2003 г.

кой больнице и Тюменской городской клинической больнице № 2, CTX-M ферменты оказались единственными выявленными типами БЛРС. β-Лактамазы CTX-M типа были обнаружены у всех проявляющих БЛРС фенотип штаммов *P. mirabilis*, выделенных как в конце 1990-х, так и в 2003 г. В 2003 г. частота выделения БЛРС-продуцирующих штаммов по-прежнему существенно различалась между центрами и между городами (рис. 2).

β-Лактамазы, принадлежащие к группе CTX-M-1-родственных ферментов (CTX-M-3 и CTX-M-15), идентифицировались наиболее часто (75,4%) и были выявлены у штаммов из всех регионов России (рис. 3). Ферменты другой генетической группы – CTX-M-9 были впервые обнаружены в 2003 г. у 14 штаммов *E. coli* и 1 штамма *K.pneumoniae* (общая частота среди продуцентов БЛРС – 5,0%), выделенных в 6 стационарах 5 городов: Москвы, С.-Петербурга, Новосибирска, Тюмени и Краснодара. БЛРС SHV-типа встречались реже (44,4%), по сравнению с CTX-M. Производные SHV с единичной заменой (Gly238→Ser), характерной для SHV-2 и определяющей относительно невысокую активность в отношении цефотаксима, составили 36,9% от общего числа ферментов данной группы. Большинство SHV БЛРС (60,8%) содержали двойные мутации (Gly238→Ser и Glu240→Lys), характерные для SHV-5 и обуславливающие высокий уровень резистентности к большинству оксимино-беталактамов. Одновременная продукция нескольких БЛРС различных типов отмечалась у 24,7% штаммов.

По данным многоцентровых международных

исследований [21,23], частота БЛРС среди нозокомиальных штаммов *E. coli*, *Klebsiella* spp. и *P. mirabilis* в большинстве стран Европы, включая Англию, Швейцарию, Испанию, Польшу, Голландию, Германию, Францию и Бельгию, составляет от 0,1 до ~10%, а в некоторых странах, например в Португалии, Италии, Турции и Греции, варьирует от 10 до 24–27%. Таким образом, полученные нами результаты свидетельствуют о рекордно высокой частоте БЛРС у возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ России. Сложившаяся ситуация требует пересмотра роли цефалоспоринов как препаратов первоочередного выбора для лечения нозокомиальных инфекций, вызванных представителями семейства *Enterobacteriaceae*, и оценки эффективности альтернативных препаратов в отношении БЛРС-продуцирующих штаммов.

### In vitro активность различных антимикробных препаратов в отношении БЛРС-продуцирующих штаммов

Суммарные данные об активности различных антибиотиков в отношении БЛРС-продуцирующих штаммов (основанные на степени их чувствительности) представлены в табл. 2.

**Комбинации беталактамов с ингибиторами.** Полученные результаты свидетельствуют о низкой активности ингибиторозащищенных пенициллинов в отношении продуцентов БЛРС. В 1997–1998 гг. лишь 20,5% штаммов были чувствительны к амоксицилину/клавуланату и 60,2% – к пиперациллину/тазобактаму. Чувствительность энтеробактерий к этим препаратам осталась практически на том же уровне в 2003 г., составив 18,3 и 64% соответственно. Пиперациллин/тазобактам обладал высокой активностью только в отношении штаммов *P. mirabilis* (94,4%), продуцирующих CTX-M-1-родственные ферменты. Амоксициллин/клавуланат проявлял меньшую активность в отношении протеев (42,9% чувствительных штаммов). Штаммы кишечной палочки были наиболее устойчивы ко всем комбинациям пенициллинов с ингибиторами (см. табл. 2).

Следует отметить значительно более высокую in vitro активность цефоперазона/сульбактама. В 1997–1998 гг. более 90% всех штаммов, продуцирующих БЛРС, были чувствительны к данной комбинации. Лишь 1 (2,1%) штамм *E. coli* и 10 (6,3%) штаммов *K. pneumoniae* были умереннорезистентны (МПК 32/32 мг/л) и 1 штамм *K. pneumoniae* был устойчив (МПК 64/64 мг/л). Показатели МПК<sub>50</sub> (8/8 мг/л) и МПК<sub>90</sub> (16/16 мг/л) цефоперазона/сульбактама для исследованной популяции штаммов были ниже уровня умеренной резистентнос-

Таблица 2. Распределение штаммов, продуцирующих БЛРС (в%), по степени чувствительности к антибиотикам различных химических групп

Период выделения в ОРИТ	Цефоперазон/сульбактам		Амоксициллин/клавуланат		Пиперациллин/лин/газобактам		Цефепим *		Имипенем		Меропенем		Гентамицин		Амикацин		Ципрофлоксацин								
	Ч	УР	Ч	УР	Ч	УР	Ч	УР	Ч	УР	Ч	УР	Ч	УР	Ч	УР	Ч	УР							
<i>E. coli</i>																									
1997–1998 гг. (n=48)	97,9	2,1	0,0	12,5	33,3	54,2	62,5	10,4	27,1	62,5	18,8	18,7	100,0	0,0	0,0	6,3	8,3	85,4	85,4	2,1	12,5	52,1	0,0	47,9	
2003 г. (n=100)	68,0	21,0	11,0	9,0	39,0	52,0	73,0	9,0	18,0	27,0	8,0	65,0	100,0	0,0	0,0	13,0	0,0	87,0	63,0	9,0	28,0	18,0	0,0	82,0	
<i>K. pneumoniae</i>																									
1997–1998 гг. (n=160)	93,1	6,3	0,6	18,1	17,5	64,4	51,9	13,7	34,4	71,9	8,8	19,3	100,0	0,0	0,0	9,4	1,8	88,8	76,9	11,2	11,9	69,4	9,3	21,3	
2003 г. (n=186)	69,9	24,2	5,9	21,5	36,0	42,5	57,0	16,1	26,9	36,0	12,4	51,6	100,0	0,0	0,0	5,4	0,5	94,1	61,3	9,1	29,6	57,5	11,3	31,2	
<i>P. mirabilis</i>																									
1997–1998 гг. (n=36)	100,0	0,0	0,0	41,7	36,1	22,2	94,4	2,8	2,8	75,0	5,6	19,4	97,2	2,8	0,0	0,0	5,6	5,5	88,9	100,0	0,0	0,0	97,2	0,0	2,8
2003 г. (n=14)	92,9	7,1	0,0	42,9	50,0	7,1	92,9	7,1	0,0	50,0	21,4	28,6	100,0	0,0	0,0	14,3	0,0	85,7	64,3	21,4	14,3	35,7	0,0	64,3	
<i>Все штаммы</i>																									
1997–1998 гг. (n=244)	95,1	4,5	0,4	20,5	23,4	56,1	60,2	11,5	28,3	70,5	10,2	19,3	99,6	0,4	0,0	8,2	3,7	88,1	82,0	7,8	10,2	70,1	6,1	23,8	
2003 г. (n=300)	70,3	22,4	7,3	18,3	37,7	44,0	64,0	13,3	22,7	33,7	11,3	55,0	100,0	0,0	0,0	8,3	0,3	91,4	62,0	9,7	28,3	43,3	7,0	49,7	

Примечание: Ч – чувствительные; УР – умеренно-резистентные; Р – резистентные.

\* оценка чувствительности с использованием пограничных концентраций NCCLS (2004), без поправки на наличие БЛРС.

ти ( $\leq 32/32$  мг/л). В 2003 г. цефоперазон/сульбактам по-прежнему обладал наибольшей активностью среди всех ингибиторозащищенных беталактамов, однако доля БЛРС-продуцирующих штаммов, чувствительных к данной комбинации, снизилась до 70,3%. Двадцать один штамм (21%) *E. coli*, 45 (24,2%) *K. pneumoniae* и 1 штамм (7,1%) *P. mirabilis* были умеренно резистентны, а 22 (11%) штамма *E. coli* и 11 (5,9%) *K. pneumoniae* резистентны к цефоперазону/сульбактаму (МПК 64/64 для 21 штамма и 128/128 мг/л для 1 штамма). Значения МПК<sub>50</sub> и МПК<sub>90</sub> цефоперазона/сульбактама увеличились в 2 раза за исследуемый период.

Снижение активности цефоперазона/сульбактама возможно связано со стремительным распространением СТХ-М  $\beta$ -лактамаз в стационарах России. В пользу этого предположения говорит тот факт, что различные ферменты СТХ-М типа (СТХ-М-3, СТХ-М-15 и СТХ-М-14) были обнаружены у всех БЛРС-продуцирующих штаммов, резистентных к данной комбинации. Кроме того, сравнение штаммов, продуцирующих СТХ-М и другие типы БЛРС, свидетельствует о более высоком уровне резистентности СТХ-М-продуцентов к цефоперазону/сульбактаму (табл. 3).

**Цефепим.** Вопрос о возможности использования цефепима для терапии инфекций, вызванных *in vitro* чувствительными БЛРС-положительными штаммами, в настоящее время остается нерешенным. Согласно современным рекомендациям NCCLS и мнению ряда экспертов [26,31,32], все штаммы, продуцирующие БЛРС, должны рассматриваться как резистентные к любым оксимино-беталактамам, включая цефепим, независимо от уровня их устойчивости (МПК) *in vitro*. Данные рекомендации основаны на результатах ряда наблюдений, свидетельствующих о высокой вероятности неэффективности цефепима при лечении инфекций, вызванных формально чувствительными продуцентами БЛРС [6,33–36]. С другой стороны, эффективность цефепима в отношении отде-

Таблица 3. Чувствительность (в %) клинических штаммов, продуцирующих БЛРС различных типов, к цефоперазону/сульбактаму и цефепиму

Тип БЛРС (число штаммов)	Цефоперазон/сульбактам					Цефепим *				
	Ч	УР	Р	МПК <sub>50</sub> , мг/л	МПК <sub>90</sub> , мг/л	Ч	УР	Р	МПК <sub>50</sub> , мг/л	МПК <sub>90</sub> , мг/л
SHV (n=59)	96,6	3,4	0,0	4/4	16/16	96,6	1,7	1,7	2	8
СТХ-М (n=167)	61,1	29,3	9,6	16/16	64/64	22,2	13,8	64,1	32	≥256
СТХ-М + SHV (n=74)	70,3	21,6	8,1	16/16	64/64	8,1	13,5	78,4	64	≥256

Примечание: \* оценка чувствительности с использованием пограничных концентраций NCCLS (2004), без поправки на наличие БЛРС.

льных БЛРС-продуцирующих штаммов показана в некоторых модельных [37] и экспериментальных [38] фармакодинамических исследованиях, а также на примере нескольких клинических случаев, описанных отечественными авторами [39, 40].

По нашим данным, с конца 1990-х по 2003 г. доля БЛРС-положительных штаммов, которые могут быть оценены с использованием стандартных критериев NCCLS как *in vitro* чувствительные к цефепиму (МПК ≤8 мг/л), сократилась более чем вдвое – с 70,5 до 33,7%. При этом наблюдалось значительное увеличение количества штаммов с высоким уровнем резистентности (МПК ≥32 мг/л) – от 19,3 до 55,0%. Цефепим был значительно менее активен *in vitro* в отношении штаммов, продуцирующих СТХ-М β-лактамазы (22,2% чувствительных; МПК<sub>90</sub> ≥256 мг/л) или комбинации СТХ-М и SHV БЛРС (8,1% чувствительных; МПК<sub>90</sub> ≥256 мг/л), по сравнению со штаммами, экспрессирующими только SHV-производные с расширенным спектром активности (96,6% чувствительных; МПК<sub>90</sub> 8 мг/л) (см. табл. 3). Высокий уровень устойчивости к цефепиму у продуцентов СТХ-М β-лактамаз описан в ряде публикаций и объясняется повышенной гидролитической активностью СТХ-М (по сравнению с БЛРС других типов) в отношении цефепима [9,41–44]. Учитывая тенденцию глобального распространения СТХ-М β-лактамаз, цефепим не может рассматриваться в настоящее время как эффективный препарат для лечения инфекций, вызванных продуцентами БЛРС.

**Карбапенемы.** Имипенем и меропенем, отличающиеся высокой стабильностью к большинству β-лактамаз класса А, характеризовались активностью в отношении практически всех БЛРС-продуцирующих штаммов. Только один штамм *P. mirabilis* (2,8%), выделенный в 1997 г., обладал умеренной резистентностью к имипенему (МПК 8 мг/л). В 2003 г. все исследованные штаммы были чувствительны к карбапенемам.

**Небеталактамы препараты.** Гентамицин был наименее активным из всех исследованных препаратов в отношении всех представленных энтеробактерий (всего 8,2–8,3% чувствительных к нему штаммов). Напротив, амикацин в 1997–1998 гг. обладал активностью в отношении 82% штаммов, однако в 2003 г. доля чувствительных к нему штаммов сократилась до 62%. Нечувствительные к амикацину БЛРС-продуцирующие штаммы *P. mirabilis* были впервые выявлены в 2003 г. – 35,7%, а среди *E. coli* и *K. pneumoniae* частота нечувствительных штаммов возросла с 14,6 до 37,0% и с 23,1 до 38,7% соответственно (см. табл. 2).

Не менее значительным оказался рост устойчивости к ципрофлоксацину – от 23,8 до 49,7%. В конце 1990-х гг. доля БЛРС-положительных штаммов, не чувствительных к ципрофлоксацину, составила 47,9% среди *E. coli*, 30,6% – среди *K. pneumoniae* и 2,8% – среди *P. mirabilis*, тогда как в 2003 г. частота резистентности у этих видов достигла 82,0, 42,5 и 64,3% соответственно.

**Ассоциированная и перекрестная резистентность к различным препаратам.** При анализе ко-резистентности БЛРС-положительных штаммов к различным антибиотикам β-лактаминового ряда обращает на себя внимание тот факт, что более 90% штаммов, устойчивых к цефоперазону/сульбактаму, проявляют также высокую резистентность к комбинациям пенициллинов с ингибиторами и цефепиму. Однако большинство штаммов, не чувствительных к амоксициллину/клавуланату, пиперациллину/тазобактаму и цефепиму, сохраняют чувствительность к цефоперазону/сульбактаму – 16,5, 30,4 и 12,7% соответственно (табл. 4).

Необходимо также отметить высокую частоту перекрестной резистентности БЛРС-продуцентов к различным препаратам, например: 50,0% – к цефепиму и гентамицину; 40,3% – к амоксициллину/клавуланату, 45,7% – к гентамицину и 24,0% – к ципрофлоксацину (табл. 5).

Таблица 4. Ко-резистентность (в %) штаммов энтеробактерий, продуцирующих БЛРС\*

Антибиотики	% резистентных штаммов	Цефоперазон/сульбактам	Амоксициллин/клавуланат	Пиперациллин/тазобактам	Цефепим
Цефоперазон/сульбактам	7,3	100,0	95,7	91,3	91,3
Амоксициллин/клавуланат	44,0	16,5	100,0	45,1	63,2
Пиперациллин/тазобактам	22,7	30,4	87,0	100,0	53,6
Цефепим	55,0	12,7	50,9	22,4	100,0

Примечание: \* – суммарные данные для *K. pneumoniae*, *E. coli* и *P. mirabilis*, выделенных в 2003 г.

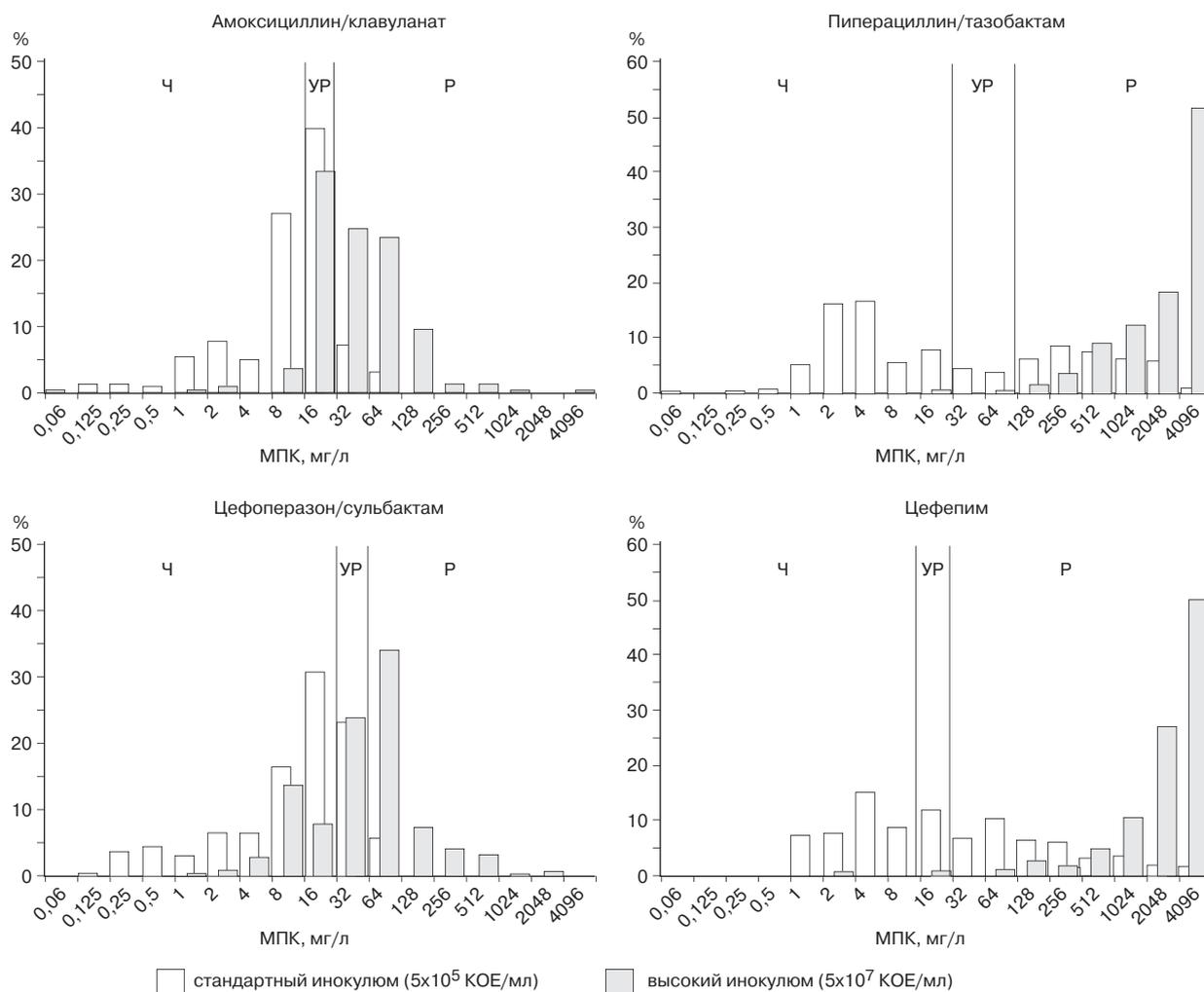


Рис. 4. Распределение МПК ингибиторозащищенных бета-лактамов и цефепима при использовании инокулюма стандартной и высокой плотности.

**Влияние инокулюма на *in vitro* активность ингибиторозащищенных бета-лактамов и цефепима в отношении БЛРС-продуцирующих штаммов**

В данном исследовании влияние микробной нагрузки (плотности инокулюма) на *in vitro* актив-

ность цефоперазона/сульбактама, амоксициллина/клавуланата, пиперациллина/тазобактама и цефепима было оценено для 199 клинических и 19 лабораторных штаммов *E. coli*, продуцирующих известные БЛРС. Лабораторные штаммы были включены в исследование с целью определения инокулюм-эффекта для как можно большего

Таблица 5. Перекрестная резистентность (в %) штаммов энтеробактерий, продуцирующих БЛРС \*

Антибиотики	Гентамицин	Амикацин	Ципрофлоксацин
Цефоперазон/сульбактам	7,0	4,3	5,7
Амоксициллин/клавуланат	40,3	10,3	24,0
Пиперациллин/тазобактам	22,0	7,0	8,7
Цефепим	50,0	18,7	34,3
Гентамицин	–	27,7	45,7
Амикацин	–	–	11,0

**Примечание:** \* – количество штаммов (в %), одновременно резистентных к паре препаратов, от общего числа БЛРС-положительных *K. pneumoniae*, *E. coli* и *P. mirabilis*, выделенных в 2003 г.

Таблица 6. Различия в МПК ингибиторозащищенных беталактамов и цефепима для БЛРС-продуцентов при тестировании с инокулюмом стандартной и повышенной плотности

Антибиотики	% штаммов при увеличении МПК в n раз						МПК <sub>50</sub> ; МПК <sub>90</sub> , мг/л*	
	n=1	n=2	n=4	n=8	n=16	n≥32	10 <sup>5</sup> КОЕ/мл	10 <sup>7</sup> КОЕ/мл
Цефоперазон/сульбактам	7,8	32,6	33,9	11	7,8	6,9	16; 32	32; 128
Амоксициллин/клавуланат	7,8	34,4	29,8	13,3	7,3	7,3	16; 16	32; 128
Пиперациллин/тазобактам	0,9 **	7,3 **	7,3 **	8,3	9,2	67	16; 1024	≥4096; ≥4096
Цефепим	2,3 **	1,8 **	4,1 **	5,5	6,4	79,8	16; 512	≥4096; ≥4096

**Примечание:** \* – концентрация бета-лактамного компонента для комбинированных препаратов;  
\*\* – указанный уровень повышения МПК может быть занижен из-за наличия у штаммов устойчивости, превышающей максимальные тестируемые концентрации препаратов (4096 мг/л).

числа различных БЛРС. Частотные распределения МПК, полученных при тестировании со стандартной ( $5 \times 10^5$  КОЕ/мл) и повышенной ( $5 \times 10^7$  КОЕ/мл) плотностью инокулюма представлены на рис. 4.

При стандартных условиях определения чувствительности наблюдалось мономодальное распределение МПК амоксициллина/клавуланата, цефоперазона/сульбактама и цефепима. Следует отметить, что медианы распределений МПК были близки или совпадали со значениями пограничных концентраций, что в значительной степени свидетельствует об условности разделения категорий чувствительности к данным препаратам для штаммов-продуцентов БЛРС. Напротив, распределение МПК пиперациллина/тазобактама было бимодальным. Менее 10% штаммов попадали в категорию умеренно-резистентных, а большинство были чувствительны (МПК  $\leq 16/4$  мг/л) или высококорезистентны (МПК  $\geq 128/4$  мг/л).

При тестировании с инокулюмом высокой плотности распределение МПК для всех препаратов было мономодальным. При стандартных пограничных концентрациях, все штаммы, за исключением 1 (0,4%), были резистентны к пиперациллину/тазобактаму и цефепиму. Оценка степени выраженнос-

ти инокулюм-эффекта для пиперациллина/тазобактама и цефепима была затруднительной более чем у 50% исследованных культур, поскольку МПК этих препаратов превышали максимальные концентрации (4096 мг/л) в диапазоне тестируемых разведений. Однако во всех учитываемых тестах пиперациллин/тазобактам и цефепим проявляли значительное (более чем на 3 последовательных двукратных разведения) снижение активности при повышении плотности инокулюма (табл. 6). В то же время 25,5% штаммов сохраняли чувствительность к цефоперазону/сульбактаму и 5,0% оставались чувствительными к амоксициллину/клавуланату. Для данных комбинаций беталактамов с ингибиторами инокулюм-эффект наблюдался только в 25,7 и 28,0% случаев соответственно.

Анализ лабораторных штаммов *E. coli*, продуцирующих известные  $\beta$ -лактамазы, показал, что цефепим и пиперациллин/тазобактам проявляли выраженный инокулюм-эффект в отношении продуцентов БЛРС всех типов – ТЕМ, SHV и СТХ-М (табл. 7). При использовании стандартной микробной нагрузки БЛРС SHV- и СТХ-М типов обуславливали более высокие уровни резистентности к цефоперазону/сульбактаму (диапазон МПК 4/4–32/32 мг/л), по сравнению с ферментами ТЕМ

Таблица 7. Влияние инокулюма на МПК для лабораторных штаммов, продуцирующих БЛРС известных типов

Штамм	Фермент	КОЕ/мл	МПК, мг/л*			
			Цефоперазон/ сульбактам	Амоксициллин/ клавуланат	Пиперациллин/ тазобактам	Цефепим
<i>E. coli</i> J53	TEM-3	10 <sup>5</sup>	0,25	2	2	0,5
		10 <sup>7</sup>	2	8	256	2048
<i>E. coli</i> J53	TEM-4	10 <sup>5</sup>	0,5	8	2	1
		10 <sup>7</sup>	2	16	64	2048
<i>E. coli</i> CF604	TEM-5	10 <sup>5</sup>	1	8	8	4
		10 <sup>7</sup>	8	16	2048	2048
<i>E. coli</i> J53	TEM-6	10 <sup>5</sup>	4	8	16	0,125
		10 <sup>7</sup>	512	256	≥4096	2048
<i>E. coli</i> C1A	TEM-7	10 <sup>5</sup>	1	8	2	256
		10 <sup>7</sup>	1	16	64	2048
<i>E. coli</i> J53	TEM-9	10 <sup>5</sup>	2	16	4	8
		10 <sup>7</sup>	8	16	256	2048
<i>E. coli</i> J53	TEM-10	10 <sup>5</sup>	0,5	8	4	1
		10 <sup>7</sup>	4	16	512	128
<i>E. coli</i> J53	TEM-11	10 <sup>5</sup>	2	16	4	4
		10 <sup>7</sup>	8	32	1024	≥4096
<i>E. coli</i> DH5a	TEM-12	10 <sup>5</sup>	0,25	16	1	1
		10 <sup>7</sup>	8	16	≥4096	512
<i>E. coli</i> J53	TEM-26	10 <sup>5</sup>	0,5	16	4	4
		10 <sup>7</sup>	8	16	1024	1024
<i>E. coli</i> J53	SHV-2	10 <sup>5</sup>	16	16	256	8
		10 <sup>7</sup>	16	16	512	1024
<i>E. coli</i> J53	SHV-3	10 <sup>5</sup>	4	8	2	2
		10 <sup>7</sup>	4	16	128	2048
<i>E. coli</i> J53	SHV-4	10 <sup>5</sup>	4	8	4	4
		10 <sup>7</sup>	4	16	256	1024
<i>E. coli</i> J53	SHV-5	10 <sup>5</sup>	16	16	1024	128
		10 <sup>7</sup>	32	32	≥4096	≥4096
<i>E. coli</i> J53	SHV-6	10 <sup>5</sup>	32	8	1024	1
		10 <sup>7</sup>	64	32	≥4096	16
<i>E. coli</i> AB1456	CTX-M-3	10 <sup>5</sup>	32	16	8	32
		10 <sup>7</sup>	64	32	≥4096	≥4096
<i>E. coli</i> TOP10	CTX-M-5	10 <sup>5</sup>	32	16	4	64
		10 <sup>7</sup>	32	16	1024	≥4096
<i>E. coli</i> SP9	CTX-M-9	10 <sup>5</sup>	8	8	2	8
		10 <sup>7</sup>	8	32	≥4096	≥4096
<i>E. coli</i> AB1456	CTX-M-15	10 <sup>5</sup>	32	16	16	32
		10 <sup>7</sup>	64	32	≥4096	≥4096

Примечание: \* – концентрация бета-лактама.

типа (диапазон МПК 0,25/0,25–4/4 мг/л). Однако для всех продуцентов SHV и CTX-M β-лактамаз МПК цефоперазона/сульбактама оставались неизменными или повышались не более, чем на одно разведение при увеличении микробной нагрузки в 100 раз. Существенное снижение активности цефоперазона/сульбактама при повышении плотности инокулюма было отмечено только для продуцентов TEM-3, TEM-5, TEM-6, TEM-10, TEM-12 и TEM-26. При этом только в случае TEM-6 значение МПК цефоперазона/сульбактама превысило уровень резистентности. Более чем 8-кратное повышение МПК амоксициллина/клавуланата было обнаружено только у 1 штамма, экспрессирующего TEM-6.

Полученные нами результаты полностью подтверждают вывод K.S.Thomson и E.S.Moland [8] о том, что активность цефепима и пиперациллина/тазобактама в отношении продуцентов БЛРС существенно снижается при повышении микробной нагрузки и что следовательно данные препараты не могут быть рекомендованы для терапии тяжелых инфекций, вызванных БЛРС-положительными штаммами. Потенциально цефоперазон/сульбактам может обладать наибольшей эффективностью из всех протестированных ингибиторозащищенных бета-лактамов, поскольку при увеличении инокулюма сохраняет активность в отношении подавляющего большинства штаммов и характеризуется наименее выраженным инокулюм-эффектом.

## Выводы

1. Продукция БЛРС является одним из наиболее частых и значимых механизмов резистентности нозокомиальных штаммов семейства *Enterobacteriaceae*, особенно *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. mirabilis*, в ОРИТ стационаров России. В 2003 г. частота продукции БЛРС у этих видов достигла рекордно высоких значений: 54,7, 84,3 и 60,9% соответственно.

2. В последнее время рост встречаемости БЛРС связан в основном с распространением СТХ-М ферментов, которые по сравнению с «классическими» БЛРС TEM и SHV типов обладают большей гидролитической активностью в отношении многих беталактамовых антибиотиков, включая цефотаксим, цефтриаксон и цефепим.

3. Карбапенемы характеризуются наиболее высокой активностью в отношении практически всех продуцентов БЛРС. Среди других исследован-

ных беталактамовых препаратов только комбинация цефоперазона с сульбактамом (1:1) может рассматриваться как возможная альтернатива карбапенемам. Однако следует отметить тенденцию нарастания устойчивости продуцентов БЛРС к цефоперазону/сульбактаму в период с конца 1990-х по 2003 г. – от 4,9 до 29,7%.

4. Цефепим и ингибиторозащищенные пенициллины обладают низкой активностью в отношении БЛРС-продуцирующих штаммов *E. coli*, *K. pneumoniae* и *P. mirabilis*, выделенных в стационарах различных регионов России.

5. У исследованных штаммов наблюдался также высокий уровень резистентности к небеталактамовым препаратам: у 91,8% – к гентамицину, 38,0% – к амикацину и у 56,7% – к ципрофлоксацину, в связи с чем эти препараты не могут быть рекомендованы для эмпирической монотерапии нозокомиальных инфекций, вызванных представителями семейства *Enterobacteriaceae*.

## Литература

1. Finegold, S. M. *In vitro* efficacy of beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations against bacteria involved in mixed infections. *Int.J.Antimicrob.Agents* 1999;12 Suppl 1:S9-14.
2. Kimura, K., Y. Arakawa, S. Ohsuka, H. Ito, K. Suzuki, H. Kurokawa, N. Kato, and M. Ohta. Molecular aspects of high-level resistance to sulbactam-cefoperazone in *Klebsiella oxytoca* clinical isolates. *Antimicrob.Agents Chemother.* 1996; 40:1988-1994.
3. McLaughlin, J. C., A. L. Barry, P. C. Fuchs, E. H. Gerlach, D. J. Hardy, and M. A. Pfaller. *In-vitro* activity of five beta-lactam/beta-lactamase inhibitor combinations against consecutive isolates of the *Enterobacteriaceae* and *Pseudomonas aeruginosa*. *J.Antimicrob.Chemother.* 1994; 33:223-230.
4. Nomura, S., H. Hanaki, and A. Nagayama. Tazobactam-piperacillin compared with sulbactam-ampicillin, clavulanic acid-ticarcillin, sulbactam-cefoperazone, and piperacillin for activity against beta-lactamase-producing bacteria isolated from patients with complicated urinary tract infections. *J.Chemother.* 1997; 9:89-94.
5. Rice, L. B., L. L. Carias, L. Etter, and D. M. Shlaes. Resistance to cefoperazone-sulbactam in *Klebsiella pneumoniae*: evidence for enhanced resistance resulting from the coexistence of two different resistance mechanisms. *Antimicrob.Agents Chemother.* 1993; 37:1061-1064.
6. Burgess, D. S. and R. G. Hall. *In vitro* killing of parenteral beta-lactams against standard and high inocula of extended-spectrum beta-lactamase and non-ESBL producing *Klebsiella pneumoniae*. *Diagn.Microbiol.Infect. Dis.* 2004; 49:41-46.
7. Kang, C.I., H. Pai, S.H. Kim, H.B. Kim, E.C. Kim, M.D. Oh, and K.W. Choe. Cefepime and the inoculum effect in tests with *Klebsiella pneumoniae* producing plasmid-mediated AmpC-type beta-lactamase. *J.Antimicrob.Chemother.* 2004; 54:1130-1133.
8. Thomson, K. S. and E. S. Moland. Cefepime, piperacillin-tazobactam, and the inoculum effect in tests with extended-spectrum beta-lactamase-producing *Enterobacteriaceae*. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2001; 45:3548-3554.
9. Queenan, A. M., B. Foleno, C. Gownley, E. Wira, and K. Bush. Effects of inoculum and beta-lactamase activity in AmpC- and extended-spectrum beta-lactamase (ESBL)-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates tested by using NCCLS ESBL methodology. *J.Clin.Microbiol.* 2004; 42:269-275.
10. Edelstein, M., Edelstein, I., Semchenkova, D., and Stratchounski, L. The effect of large inoculum in vitro activities of penicillin-inhibitor combinations and cefoperazone-sulbactam against ESBL-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains. (14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), P1723. 2004. Prague. 2004.
11. Procop, G. W., M. J. Tuohy, D. A. Wilson, D. Williams, E. Hadziyannis, and G. S. Hall. Cross-class resistance to non-beta-lactam antimicrobials in extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Am.J.Clin.Pathol.* 2003; 120:265-267.
12. Spanu, T., F. Luzzaro, M. Perilli, G. Amicosante, A. Toniolo, and G. Fadda. Occurrence of extended-spectrum beta-lactamases in members of the family *Enterobacteriaceae* in Italy: implications for resistance to beta-lactams and other antimicrobial drugs. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2002; 46:196-202.
13. Winokur, P. L., M. V. Eidelstain, O. Stetsiouk, L. Stratchounski, J. Blahova, G. K. Reshedko, M. A. et al.

- Russian *Klebsiella pneumoniae* isolates that express extended-spectrum beta-lactamases. *Clin.Microbiol. Infect.* 2000; 6:103-108.
14. Paterson, D. L., L. Mulazimoglu, J. M. Casellas, W. C. Ko, H. Goossens, A. Von Gottberg, et al. Epidemiology of ciprofloxacin resistance and its relationship to extended-spectrum beta-lactamase production in *Klebsiella pneumoniae* isolates causing bacteremia. *Clin. Infect.Dis.* 2000; 30:473-478.
  15. Yu, W. L., R. N. Jones, R. J. Hollis, S. A. Messer, D. J. Biedenbach, L. M. Deshpande, and M. A. Pfaller. Molecular epidemiology of extended-spectrum beta-lactamase-producing, fluoroquinolone-resistant isolates of *Klebsiella pneumoniae* in Taiwan. *J.Clin.Microbiol.* 2002; 40:4666-4669.
  16. Graffunder, E. M., K. E. Preston, A. M. Evans, and R. A. Venezia. Risk factors associated with extended-spectrum {beta}-lactamase-producing organisms at a tertiary care hospital. *J.Antimicrob.Chemother.* 2005.
  17. Sirot, D., C. De Champs, C. Chanal, R. Labia, A. Darfeuille-Michaud, R. Perroux, and J. Sirot. Translocation of antibiotic resistance determinants including an extended-spectrum beta-lactamase between conjugative plasmids of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli*. *Antimicrob.Agents Chemother.* 1991; 35:1576-1581.
  18. Araque, M. and I. Rivera. Simultaneous presence of blaTEM and blaSHV genes on a large conjugative plasmid carried by extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Am. J. Med. Sci.* 2004; 327:118-122.
  19. Mammeri, H., L. M. Van De, L. Poirel, L. Martinez-Martinez, and P. Nordmann. Emergence of plasmid-mediated quinolone resistance in *Escherichia coli* in Europe. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2005; 49:71-76.
  20. Wang, M., D. F. Sahn, G. A. Jacoby, and D. C. Hooper. Emerging plasmid-mediated quinolone resistance associated with the qnr gene in *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates in the United States. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2004; 48:1295-1299.
  21. Jones, R. N. and M. A. Pfaller. Antimicrobial activity against strains of *Escherichia coli* and *Klebsiella* spp. with resistance phenotypes consistent with an extended-spectrum beta-lactamase in Europe. *Clin. Microbiol.Infect.* 2003; 9:708-712.
  22. Bouchillon, S. K., B. M. Johnson, D. J. Hoban, J. L. Johnson, M. J. Dowzicky, D. H. Wu, et al. Determining incidence of extended spectrum beta-lactamase producing *Enterobacteriaceae*, vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* and methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* in 38 centres from 17 countries: the PEARLS study 2001-2002. *Int.J.Antimicrob.Agents* 2004; 24:119-124.
  23. Nijssen, S., A. Florijn, M. J. Bonten, F. J. Schmitz, J. Verhoef, and A. C. Fluit. Beta-lactam susceptibilities and prevalence of ESBL-producing isolates among more than 5000 European *Enterobacteriaceae* isolates. *Int. J.Antimicrob.Agents* 2004; 24:585-591.
  24. Edelstein, M., M. Pimkin, I. Palagin, I. Edelstein, and L. Stratchounski. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2003; 47:3724-3732.
  25. Методические указания МУК 4.2.1890-04. 2004. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам.
  26. National Committee for Clinical Laboratory Standards. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing: 14th informational supplement. NCCLS document M100-S14. 2004. National Committee for Clinical Laboratory Standards, Wayne, PA.
  27. Mabilat, C. and S. Goussard. 1993. PCR detection and identification of genes for extended-spectrum b-lactamases, p. 553-562. *In:* D. H. Persing, T. F. Smith, F. C. Tenover, and T. J. White (eds.), *Diagnostic molecular microbiology. Principles and Applications.* American Society for Microbiology, Washington, DC.
  28. Edelstein, M., M. Pimkin, T. Dmitrachenko, V. Semenov, N. Kozlova, D. Gladin, et al.. Multiple outbreaks of nosocomial salmonellosis in Russia and Belarus caused by a single clone of *Salmonella enterica* serovar Typhimurium producing an extended-spectrum beta-lactamase. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2004; 48:2808-2815.
  29. Ekimov, A., Edelstein, M., and Belousov, E. A single-tube PCR with MGB Eclipse probes for detection of SHV-type extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs). (14th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), 2004; P944. Prague.
  30. Edelstein, M., Ekimov, A., and Stratchounski, L. Prevalence of mutations conferring extended-spectrum activity on SHV beta-lactamases produced by nosocomial isolates of *Enterobacteriaceae* from Russian nationwide survey. (44th Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy), 2004; C2-1331. Washington, DC.
  31. Livermore, D. M. beta-Lactamases in laboratory and clinical resistance. *Clin.Microbiol.Rev.* 1995; 8:557-584.
  32. Paterson, D. L. Recommendation for treatment of severe infections caused by *Enterobacteriaceae* producing extended-spectrum beta-lactamases (ESBLs). *Clin. Microbiol.Infect.* 2000; 6:460-463.
  33. Paterson, D. L., W. C. Ko, A. Von Gottberg, J. M. Casellas, L. Mulazimoglu, K. P. Klugman, et al. Outcome of cephalosporin treatment for serious infections due to apparently susceptible organisms producing extended-spectrum beta-lactamases: implications for the clinical microbiology laboratory. *J.Clin.Microbiol.* 2001; 39:2206-2212.
  34. Paterson, D. L., W. C. Ko, A. Von Gottberg, S. Mohapatra, J. M. Casellas, H. Goossens, et al. 2004. Antibiotic therapy for *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of production of extended-spectrum beta-lactamases. *Clin. Infect.Dis.* 39:31-37.
  35. Szabo, D., A. Mathe, Z. Filetoth, P. Anderlik, L. Rokusz, and F. Rozgonyi. *In vitro* and *in vivo* activities of amikacin, cefepime, amikacin plus cefepime, and imipenem against an SHV-5 extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* strain. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2001; 45:1287-1291.

36. Paterson, D. L., W. C. Ko, A. Von Gottberg, S. Mohapatra, J. M. Casellas, H. Goossens, et al. International prospective study of *Klebsiella pneumoniae* bacteremia: implications of extended-spectrum beta-lactamase production in nosocomial Infections. *Ann.Intern.Med.* 2004; 140:26-32.
37. Ambrose, P. G., S. M. Bhavnani, and R. N. Jones. Pharmacokinetics-pharmacodynamics of cefepime and piperacillin-tazobactam against *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* strains producing extended-spectrum beta-lactamases: report from the ARREST program. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2003; 47:1643-1646.
38. Maglio, D., C. Ong, M. A. Banevicius, Q. Geng, C. H. Nightingale, and D. P. Nicolau. Determination of the *in vivo* pharmacodynamic profile of cefepime against extended-spectrum-beta-lactamase-producing *Escherichia coli* at various inocula. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2004; 48:1941-1947.
39. Ромашов О. М., Яковлев С.В., Сидоренко С.В., и Березин А.Г. Эффективность цефепима при лечении нозокомиальных инфекций, вызванных энтеробактериями-продуцентами бета-лактамаз расширенного спектра. *Инфекции и антимикробная терапия* 2003; 5.
40. Yakovlev, S., Romashov, O., Sidorenko, S. V., and Eryomina, L. Impact of extended-spectrum beta-lactamases produced by Gram-negative bacteria on efficacy of cephalosporins and quinolones. (15th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases), 2005; P437. Copenhagen.
41. Yu, W. L., M. A. Pfaller, P. L. Winokur, and R. N. Jones. Cefepime MIC as a predictor of the extended-spectrum beta-lactamase type in *Klebsiella pneumoniae*. *Taiwan. Emerg.Infect.Dis.* 2002; 8:522-524.
42. Bonnet, R., J. L. Sampaio, R. Labia, C. De Champs, D. Sirot, C. Chanal, and J. Sirot. A novel CTX-M beta-lactamase (CTX-M-8) in cefotaxime-resistant Enterobacteriaceae isolated in Brazil. *Antimicrob.Agents Chemother.* 2000; 44:1936-1942.
43. Bonnet, R. Growing group of extended-spectrum beta-lactamases: the CTX-M enzymes. *Antimicrob. Agents Chemother.* 2004; 48:1-14.
44. Perilli M., D. Ettorre, B. Segatore, B. Caporale, F. De Santis, G. Pochetti, et al. Overexpression system and biochemical profile of CTX-M-3 extended-spectrum beta-lactamase expressed in *Escherichia coli*. *FEMS Microbiol.Lett.* 2004; 241:229-232.