

**ХАРАКТЕРИСТИКА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ
ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ,
ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ ОТДЕЛЕНИЙ ГНОЙНОЙ ХИРУРГИИ**

А.Л. Бисекенова¹, Б.А. Рамазанова¹, Д.А. Адамбеков², О.А. Корох³

¹ Казахский национальный медицинский университет им. С.Д. Асфендиярова,
г. Алматы, Республика Казахстан

² Кыргызская государственная медицинская академия им. И.К. Ахунбаева,
г. Бишкек, Кыргызская Республика

³ Центральная городская клиническая больница №12 г. Алматы, Республика Казахстан

Резюме. В данной статье представлена этиологическая структура и результаты оценки антибиотикочувствительности штаммов грамотрицательных бактерий, выделенных от пациентов отделений гнойной хирургии. В этиологической структуре гнойных инфекций грамотрицательные бактерии в совокупности занимают ведущую роль (57,8%, при n=128). Общая доля представителей семейства Enterobacteriaceae составила 33,6%, неферментирующие грамотрицательные бактерии (НФГОБ) – 21,1%. Преобладающими видами были *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa* и *A.baumannii*.

Наиболее активными препаратами в отношении *E.coli* были карбапенемы и амикацин (91,7 - 100% и 75,0% чувствительных штаммов соответственно); к тобрамицину и гентамицину были чувствительными 42,7 - 62,5% штаммов. Резистентность к цефалоспорином III-IV поколений *E.coli* в 54,2% случаев была обусловлена продукцией бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) TEM1, CTX – M1 и OXA типов.

K.pneumoniae были абсолютно резистентны (100%) ко всем группам исследованных антибиотиков, кроме карбапенемов и амикацина. К эртапенему были чувствительны 40% штаммов, меропенему – 20% и амикацину – 40%. При ПЦР-детекции 60% изолятов *K.pneumoniae* были продуцентами bla_{TEM1} и bla_{OXA}.

Высокую активность в отношении выделенных штаммов *P.aeruginosa* проявляли карбапенемы: имипенем (87,5%), меропенем (75%); из аминогликозидов – амикацин (75% штаммов были чувствительными); из фторхинолонов – левофлоксацин (50%). 25% штаммов, резистентных на цефалоспорины III-IV поколений несли гены TEM1, отвечающие за продукцию БЛРС молекулярного класса A. Зарегистрирован нозокомиальный штамм *P.aeruginosa*, абсолютно резистентный на все группы антибиотиков, несущий ген МБЛ VIM-2.

Все штаммы *A.baumannii* были абсолютно резистентны (100%) ко всем группам исследованных антибиотиков, кроме карбапенемов и тобрамицина (55,6-66,7% и 77,8% чувствительных штаммов). Наряду с нечувствительностью к цефалоспорином III-IV поколений резистентность к карбапенемам (меропенему и имипенему) проявляли 3 изолята *A.baumannii* (у которых при генотипической детекции зарегистрированы гены приобретенных карбапенемаз класса D (OXA-23). 2 изолята несли гены TEM1, отвечающие за выработку БЛРС молекулярного класса A.

Ключевые слова: грамотрицательные бактерии, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, β-лактамазы расширенного спектра действия (БЛРС), карбапенемазы, металло-β-лактамазы (МБЛ), антибиотикорезистентность.

**ИРИҢ ХИРУРГИЯ БӨЛҮМҮНӨН БӨЛҮНҮП АЛЫНГАН, ГРАМТЕРС ШТАММДАРЫНЫҢ
АНТИБИОТИКЕ БОЛГОН ТУРУКТУУЛУГУНУН МҮНӨЗДӨМӨСҮ**

А.Л. Бисекенова¹, Б.А. Рамазанова¹, Д.А. Адамбеков², О.А. Корох³

¹ С.Д. Асфендияров атындагы Казак Улуттук медициналык университети
Алматы ш., Казакстан Республикасы

² И.К. Ахунбаев атындагы Кыргыз Мамлекеттик Медициналык Академиясы
Бишкек ш., Кыргыз Республикасы

³ Казакстан Республикасынын Алматы шаардык борбордук №12 клиникалык ооруканасы

Корутунду. Төмөнкү статьяда ириң хирургиясындагы бейтаптардан грамтерс бактерияларынын антибиотиктерге болгон сезгичтиги жана этиологиялык структурасы берилген. Ириң козгоочу бактериялардын көпчүлүк бөлүгү грамтерс бактериялар болуп эсептелет (57,8% n=128).

Enterobacteriaceae 33,6% ферменттебеген грамтерс (НФГОБ)-21,1%. Алардын арасынан *E.coli*, *K.pneumoniae*, *P.aeruginosa*, *A.baumannii* көп кездешкен.

Алардын арасынан *E.coli*ге таасир болгон карбопенема жана амикацин (91,7-100% жана 75,0% штамм сезгичтиги) ал эми тобрамицин жан гентамицинге 42,7%-62,5% түздү. II-III катардагы цефалоспоринге 54,2% туруктуулугу алардын беталактамаз бөлүп чыгаруусу менен түшүндүрүлгөн (TEM1, CTX-M жана OXA) түрлөрү.

K.pneumoniae бактериясы карбопенема жана амикацинден башкасынан, бардык антибиотиктерге туруктуу болгон. Эртапенемага – 40% сезгичтиги аныкталды, меропенемага-20% жана амикацинге – 40%. 60% *K.pneumoniae* изоляттарын ПЧреакциясында bla тем1 жана bla oxa бөлүп чыгаргандыгы аныкталган.

P.aeruginosa бактериялары жогорку активдуулукту карбапенемаларга көрсөттү: имипинемге (87,5%), меропинемге (75%), аминогликозиддерден амикацинге (75% штаммдар сезгичтиги болду), фторхинолондон левофлоксацин(50%). 25% III-IV катардагы цефалоспоринге туруктуу штаммдар, TEM1 генин алып жургондугу аныкталды. *P.aeruginosa*нын МБЛ VIM-2 гени табылган түрлөрү антибиотиктендин бардык түрүнө туруктуу экендиги билинди.

A.baumannii бактериялары карбопенем жана тобрамицин (55,6-66,7% жана 77,8%) башка антибиотиктерге 100% туруктуулугун көрсөткөн. *A.baumannii* 3 изоляты (D класстагы карбопенемаз гени табылган) III-IV катардагы цефалоспоринге каршы туруктуулугу аныкталган, 2 изолятта TEM1 генин алып жүрүшү аныкталган.

Негизги сөздөр: грамтерс бактериялар, *E.coli*, *K.pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, бета-лактамаза кеңири таасир, карбопенемаза, темир-бета-лактамаза, антибиотикке туруктуулук.

CHARACTERISTIC OF ANTIBIOTIC-RESISTANT STRAINS OF GRAM-NEGATIVE BACTERIA ISOLATED FROM PATIENTS OF THE PURULENT SURGERY DEPARTMENTS

A.L. Bissekenova¹, B.A. Ramazanova¹, D.A. Adambekov², O.A. Korokh³

¹ Kazakh National Medical University named after S.D. Asfendiyarov, Almaty, Republic of Kazakhstan

² Kyrgyz State Medical Academy named after I.K. Akhunbaev, Bishkek, Kyrgyz Republic

³ Central municipal clinical hospital №12 Almaty, Republic of Kazakhstan

Resume. This article presents the etiologic structure and the results of the evaluation of antibiotic susceptibility of strains of gram-negative bacteria isolated from patients of the purulent surgery departments. In the etiologic structure of purulent infections, gram-negative bacteria collectively take a leading role (57,8%, n=128). The overall percentage of members of the Enterobacteriaceae family was 33.6%, PGOB - 21.1%. The predominant species were *E. coli*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* and *A. baumannii*.

The most active drugs against *E. coli* were carbapenems and amikacin (91.7 - 100% and 75,0% of sensitive strains, respectively); 42,7 - 62.5% of strains were sensitive to tobramycin and gentamicin. Resistance of III – IV generations of *E. coli* to cephalosporins in 54,2% of cases were due to production of beta-lactamase extended spectrum (ESBL) TEM1, CTX – M1 and OXA types.

K. pneumoniae was totally resistant (100%) to all groups of the studied antibiotics, except carbapenems and amikacin. 40% of strains were sensitive to ertapenem, 20% to meropenem and 40% to amikacin. During PCR detection, 60% of the *K. pneumoniae* isolates were producers of blaTEM1 and blaOXA.

Carbapenems showed high activity against isolated strains of *P. aeruginosa*: imipenem (87,5%), meropenem (75%); of the aminoglycoside - amikacin (75% of strains were sensitive); of the quinolones – levofloxacin (50%). 25% of strains resistant to cephalosporins of III-IV generations carried TEM1 genes responsible for the ESBL production of molecular class A. A nosocomial *P. aeruginosa* strain was registered, that is absolutely resistant to all groups of antibiotics that carries the gene MBL VIM-2.

All *A. baumannii* strains were completely resistant (100%) to all groups of the studied antibiotics, except carbapenems and tobramycin (from 55.6 – 66.7% and 77,8% of sensitive strains). Along with insensitivity to cephalosporins of III – IV generations, 3 isolates of *A. baumannii* (genotypic detection of which, found genes of acquired carbapenemase class D (OXA-23) showed resistance to carbapenems (Meropenem and imipenem). 2 isolates carried genes TEM1 responsible for the production of ESBL molecular class A.

Key words: gram-negative bacteria, *E. coli*, *K. pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii*, β -lactamase extended spectrum (ESBL), carbapenemase, metallo- β -lactamase (MBL), antibiotic resistance.

Введение

Грамотрицательные микроорганизмы в совокупности (энтеробактерии и неферментирующие грамотрицательные бактерии) являются наиболее частыми возбудителями нозокомиальных и внебольничных инфекций.

Доля изолятов Enterobacteriaceae (n=573) среди всех бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций (n=1700), выделенных в рамках исследования МАРАФОН в 2011-2012 гг., составила 33,7%. Доля изолятов рода Acinetobacter (n=252) составила 14,8%, P.aeruginosa – 20,2%, что превышает соответствующие показатели, полученные в более ранних исследованиях, проведенных в РФ [1, 2, 3].

Наиболее клинически значимой является проблема резистентности грамотрицательных бактерий к современным цефалоспорином и карбапенемам вследствие эпидемического распространения штаммов, продуцирующих β-лактамазы расширенного спектра действия [4-9].

Для проведения эффективной антибактериальной терапии необходимо знание структуры возбудителей, информации о локальной распространенности антибиотикорезистентности и ее основных механизмов.

Целью настоящего исследования было изучение видовой структуры и антибиотикочувствительности грамотрицательных бактерий, выделенных от пациентов отделений гнойной хирургии ГКБ №4, ЦГКБ №12 г. Алматы; анализ молекулярных механизмов их резистентности к цефалоспорином III-IV поколений и карбапенемам.

Материал и методы

За период с 14.07.2015 по 09.12.2016 от пациентов отделений гнойной хирургии ГКБ №4, ЦГКБ №12 г. Алматы в рамках внутривузовского научного проекта: «Мониторинг резистентности возбудителей внебольничных и нозокомиальных инфекций к антимикробным препаратам и изучение его молекулярных механизмов» всего было набрано 248 проб. Материалом для микробиологических исследований служили: отделяемое раневых поверхностей – 225 (при инфекциях кожи и мягких тканей); экссудат из брюшной полости – 19 (при интраабдоминальных инфекциях); мокрота – 4 (при пневмонии).

В данное исследование были включены 128 клинически значимых бактериальных изолятов. Из них 74 изолята грамотрицательных бактерий, были изучены на предмет продукции БЛРС и карбапенемаз. Выделение и первичная идентификация бактериальных изолятов проводилась в лаборатории кафедры микробиологии КазНМУ им. С.Д. Асфендиярова. Окончательная видовая идентификация и определение их чувствительности к антимикробным препаратам проводились в НКДЛ НИИ им. Атчабарова. Все исследованные изоляты были идентифицированы до вида и определена их антибиотикочувствительность на бактериологическом автоматизированном анализаторе "VITEK-2 Compact", дополнительно использовали классический диско-диффузионный метод определения антибиотикочувствительности на агаре Мюллера-Хинтона, согласно рекомендациям EUCAST [10].

Для фенотипического выявления продукции БЛРС использовали метод двойных дисков [11]. По наличию расширенной зоны подавления роста между дисками с цефтазидимом (CAZ, 30 мкг), цефепимом (CPM, 30 мкг) и диском, содержащим комбинацию амоксициллина с клавулановой кислотой (AMC 20/10 мкг). Для контроля качества определения чувствительности использовали штаммы E.coli ATCC 25922, K.pneumoniae ATCC 700603 (ESBL+).

Детекцию наиболее распространенных и клинически значимых генов класса A (TEM1, STX-M1, SHV, OXA) для культур с подтвержденным ESBL-фенотипом проводили методом ПЦР [12]. Выделение геномной и плазмидной ДНК грамотрицательных бактерий проводили по стандартной методике с помощью набора Easy Pure Bacteria Genomic DNA Kit (выделение геномной ДНК) и Easy Pure Plasmid MiniPrep Kit (выделение плазмидной ДНК) (TransGenBiotech, Китай). Использовались по 5 мл 18-20-часовой культуры бактерий.

Использованные праймеры для проведения полимеразной цепной реакции на 4 пары генов БЛРС (TEM1, STX-M1, SHV, OXA) приведены в таблице 1.

Таблица 1

Использованные праймеры

Ген	Направление праймера	Последовательность	Длина продукта (п.н.)
OXA	f	ACACAATACATATCAACTTCGC	814
	r	AGTGTGTTTAGAATGGTGATC	
TEM1	f	TCAACATTTTCGTGTCGCCCT	765
	r	ACTACGATACGGGAGGGCTT	
SHV	f	GGTTATGCGTTATATTCGCC	865
	r	TTAGCGTTGCCAGTGCTC	
CTX-M1	f	ATGTGCAGYACCAGTAARGT	593
	r	TGGGTRAARTARGTSACCAGA	

Для ПЦР использовалось по 10 пмоль каждого праймера и 20 нг геномной и плазмидной ДНК бактерий, таким образом, проводилось 2 реакции на 1 образец. Использовался готовый мастер микс Platinum® PCR Super Mix (LifeTechnologies, CAUSA), объем реакции составлял 25 мкл, амплификацию проводили с использованием термоциклера BioRadIQ5 (Bio-Rad Laboratories, Inc., CAUSA) по следующему протоколу: 95°C – 5 мин, 95°C – 45 сек, 53.5° (60°, 54°, 55°C) – 45 сек 35 циклов соответственно, 72°C – 45 сек, и окончательный отжиг 72°C – 10 мин. Последующая детекция генов осуществлялась на 1% агарозном геле с добавлением этидиум бромид. По образованию продукта амплификации делали заключение о наличии или отсутствии гена, характеризующегося определенной длиной, что давало нам качественные результаты.

Детекция генов карбапенемаз класса D (OXA-23), а также карбапенемаз класса B-металло-β-лактамаз (VIM-2) у выделенных и идентифицированных нами бактериальных изолятов *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* проводилась методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов «АмплиСенс®.MDR *Acinetobacter*-OXA-FL» и «АмплиСенс®.MDR MBL-FL» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) и системы Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) в НИИ антимикробной химиотерапии г. Смоленск в рамках участия в многоцентровом проекте APEX.

Результаты исследования

В 128 случаях выделены и идентифицированы клинически значимые изоляты бактерий. Состав возбудителей гнойных инфекций представлен на рисунке.

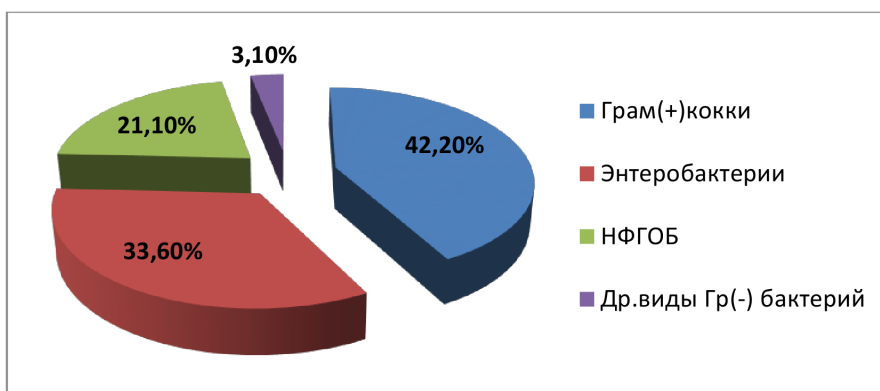


Рисунок. Этиологическая структура гнойных хирургических инфекций (n=128).

В этиологической структуре гнойных инфекций грамотрицательные бактерии в совокупности занимают ведущую роль (57,8%, при n=128). Общая доля представителей семейства Enterobacteriaceae составила 33,6%, НФГОБ – 21,1%. В

42,2% случаев возбудителями гнойных инфекций были грамположительные кокки.

Распределение всех видов выделенных изолятов грамотрицательных бактерий представлено в таблице 2.

Таблица 2

Видовая характеристика выделенных грамотрицательных бактерий (n=74)

Семейство, группа	Вид	Абс.кол-во	%
Enterobacteriaceae (всего – 43)	<i>Escherichia coli</i>	24	32,4%
	<i>Klebsiella pneumoniae</i>	5	6,8%
	<i>Proteus mirabilis</i>	2	2,7%
	<i>Proteus vulgaris</i>	2	2,7%
	<i>Pantoea</i> spp.	2	2,7%
	<i>Salmonella enterica</i> Enterobacter cloacae	2	2,7%
	<i>Shigella</i> group	1	1,4%
	<i>Serratia liquefaciens</i>	1	1,4%
	<i>Citrobacter koseri</i>	1	1,4%
	<i>Cedeceal lapagei</i>	1	1,4%
	<i>Providencia stuartii</i>	1	1,4%
Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НФГОб) (всего – 27)	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8	10,8%
	<i>Pseudomonas luteola</i>	3	4,1%
	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	1	1,4%
	<i>Acinetobacter baumannii</i>	9	12,2%
	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	3	4,1%
	<i>Burkholderia cepacia</i>	2	2,7%
	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	1	1,4%
Другие виды грамотрицатель- ных бактерий (всего – 4)	<i>Pasteurella pneumotropica</i>	2	2,7%
	<i>Aeromonas salmonicida</i>	1	1,4%
	<i>Sphingobacterium thalophilum</i>	1	1,4%

Данные по чувствительности/устойчивости к антибиотикам наиболее часто встречающихся в этиологической структуре видов грамотрицательных бактерий приведены в таблице 3.

Таблица 3

Распределение грамотрицательных микроорганизмов - возбудителей гнойных инфекций (в %) по степени чувствительности к антибиотикам

Антибиотики	S %	МИК мкг/мл	I %	МИК мкг/мл	R %	МИК мкг/мл
Escherichia coli (n=24)						
Ампициллин	4,2	≤ 2	-	-	95,8	≥ 32
Пиперацillin	-	-	-	-	100	≥ 64-128
Цефокситин	91,7	4-8	8,3	16-32	-	-
Цефтазидим	25,0	≤ 1	-	-	75,0	16-64
Цефтриаксон	29,2	≤ 1	-	-	70,8	≥ 64
Цефепим	41,7	≤ 1	16,7	2	41,7	≥ 64
Эртапенем	100	≤ 0,5	-	-	-	-
Мерапенем	91,7	≤ 0,25	8,3	4-8	-	-
Амикацин	75,0	2-4	20,8	4-16	4,2	≥ 64
Гентамицин	62,5	≤ 1	4,2	4	33,3	≥ 16
Тобрамицин	41,7	≤ 1	4,2	4	54,2	8-16
Ципрофлоксацин	20,8	≤ 0,25	4,2	1	75,0	2-4
Левифлоксацин	20,8	0,12-1	-	-	79,2	1-8
Триметоприм/сульфаметоксазол	33,3	≤ 20	-	-	66,7	≥ 320
Нитрофурантоин	100	16-64	-	-	-	-
Klebsiella pneumoniae (n=5)						
Ампициллин	-	-	-	-	100	≥ 32
Пиперацillin	-	-	-	-	100	≥ 128
Цефтазидим	-	-	-	-	100	≥ 64
Цефтриаксон	-	-	-	-	100	≥ 64

Цефепим	-	-	-	-	100	≥64
Эртапенем	40	≤0,5	20	≤0,5	40	4
Мерапенем	80	0,25-2	-	-	20	≥16
Амикацин	40	4	20	16	40	≥64
Гентамицин	-	-	-	-	100	≥16
Тобрамицин	-	-	-	-	100	≥16
Ципрофлоксацин	-	-	-	-	100	≥4
Левифлоксацин	-	-	-	-	100	≥8
Триметоприм/сульфаметоксазол	-	-	-	-	100	≥320
<i>Pseudomonas aeruginosa</i> (n=8)						
Пиперациллин	12,5	≤4	-	-	87,5	≥128
Цефтазидим	50	2-8	-	-	50	16-64
Цефепим	75	1-4	-	-	25	≥64
Мерапенем	75	0,25-2	-	-	25	≥16
Имипенем	87,5	≤0,25	-	-	12,5	≥16
Амикацин	75	≤2	-	-	25	16-64
Гентамицин	62,5	1-2	-	-	37,5	≥16
Тобрамицин	25	≤1	-	-	75	8-16
Ципрофлоксацин	-	-	25	1	75	2-4
Левифлоксацин	50	0,5-1	12,5	2	37,5	≥8
<i>Acinetobacter baumannii</i> (n=9)						
Пиперациллин	-	-	-	-	100	≥128
Цефтазидим	-	-	-	-	100	≥64
Цефепим	-	-	-	-	100	32-64
Меропенем	55,6	0,25-1	-	-	44,4	≥16
Имипенем	66,7	≤0,25	-	-	33,3	≥16
Гентамицин	-	-	-	-	100	8-16
Тобрамицин	77,8	≤1	-	-	22,2	8
Ципрофлоксацин	-	-	-	-	100	≥4
Левифлоксацин	-	-	-	-	100	4-8
Триметоприм/сульфаметоксазол	44,4	≤20	-	-	55,6	≥320

Escherichia coli. По результатам исследования, выделенные штаммы были абсолютно резистентны к пиперациллину (100%); регистрировалась высокая частота выделения штаммов *E.coli*, резистентных к ампициллину (95,8%), к фторхинолонам: ципрофлоксацину (75,0%) и левифлоксацину (79,2%), а также к триметоприму/сульфаметоксазолу (66,7%). Наиболее активными препаратами в отношении *E.coli* были карбапенемы и амикацин (91,7 – 100% и 75,0% чувствительных штаммов соответственно). Чувствительностью к тобрамицину и гентамицину обладали 42,7 – 62,5% штаммов *E.coli*. К цефалоспорином III-IV поколений: цефтазидиму были резистентны 75,0%, цефтриаксону – 70,8 и цефепиму – 41,7% штаммов. При этом обращает на себя внимание тот факт, что 91,7% штаммов были чувствительны к цефокситину, что доказывает резистентность данного препарата к бета-лактамазам. У 13 штаммов из 24 штаммов *E.coli* – возбудителей гнойных инфекций (54,2%) были зарегистрированы гены БЛРС изолированно или в комбинациях: TEM1- 5 штаммов (20,8%); CTX-

M1 – 2 штамма (8,3%); OXA – 1 штамм (4,2%); 3 изолята (12,5%) несли одновременно гены двух групп β-лактамаз TEM1 + CTX-M1; 1 изолят (4,2%) – TEM1 + OXA; и 1 штамм (4,2%) одновременно комбинацию генов TEM1 + CTX-M1 + OXA. Таким образом, продукция БЛРС, которые разрушают все β-лактамы антибиотики, за исключением цефамицинов (цефокситин) и карбапенемов, как основной механизм устойчивости к оксиминоцефалоспорином была выявлена у 13(54,2%) штаммов *E.coli* (по фенотипическим признакам и генетической детекции – bla_{TEM1}, bla_{CTX-M1}, bla_{OXA}, bla_{TEM1+CTX-M1}; bla_{TEM1+CTX-M1+OXA}).

Выделенные штаммы *K.pneumoniae* являлись в 3,9% (n=128) случаев возбудителями гнойных инфекций и отличались абсолютной резистентностью к всем исследованным антибиотикам: ампициллину (100%), пиперациллину (100%), цефтазидиму (100%), цефтриаксону (100%), цефепиму (100%), гентамицину (100%), тобрамицину (100%), ципрофлоксацину (100%), левифлоксацину (100%), триметоприму/сульфаметоксазолу

(100%); кроме карбапенемов и амикацина. К эртапенему были чувствительны 40% штаммов, меропенему – 20% и амикацину – 40%. При ПЦР-детекции 60% изолятов *K.pneumoniae* были продуцентами bla_{TEM1} и bla_{OXA}.

Pseudomonas aeruginosa. В ходе исследования от пациентов отделений гнойной хирургии было выделено 8 штаммов *P.aeruginosa*, 7 из них (87,5%) были нечувствительны (резистентны) к пиперациллину. К цефтазидиму резистентны были 4 штамма (50%), к цефепиму и меропенему резистентность проявляли 2 (25%) штамма. Наиболее высокую активность в отношении выделенных штаммов *P.aeruginosa* проявляли карбапенемы: имипенем (87,5%), меропенем (75%); из аминогликозидов – амикацин (75% штаммов были чувствительными); из фторхинолонов – левофлоксацин (50%). При ПЦР-детекции у 2 штаммов (25%), резистентных на цефалоспорины III-IV поколений определены гены TEM1, отвечающие за продукцию БЛРС молекулярного класса A. У нозокомиального штамма *P.aeruginosa* №374, абсолютно резистентного на все группы антибиотиков, при ПЦР-детекции выявлен ген VIM-2, кодирующий выработку карбапенемаз молекулярного класса B: металло-β-лактамаз.

Acinetobacter baumannii. Все выделенные 9 штаммов *A.baumannii* проявляли абсолютную устойчивость к антибиотикам разных групп: пиперациллину (100%), цефтазидиму (100%), цефепиму (100%), гентамицину (100%), ципрофлоксацину (100%), левофлоксацину (100%). Наиболее активными препаратами в их отношении были карбапенемы: имипенем (66,7% чувствительных изолятов) и меропенем (55,6%); из аминогликозидов – тобрамицин (77,8%). Наряду с нечувствительностью к цефалоспоринам III-IV поколений резистентность к карбапенемам (меропенему и имипенему) проявляли 3 изолята *A.baumannii* (33,3%), у которых при генотипической детекции зарегистрированы гены приобретенных карбапенемаз класса D (OXA-23). 2 изолята несли гены TEM1, отвечающие за выработку БЛРС молекулярного класса A.

Заключение

Результаты данного исследования свидетельствуют о ведущей роли грамотрицательных микроорганизмов этиологической структуре гнойных хирургических инфекций (57,8%).

Среди изученных антибактериальных препаратов карбапенемы обладают наибольшей активностью по отношению к энтеробактериям (91,7 – 100% чувствительных штаммов *E.coli* и 20-40% штаммов *K.pneumoniae*) и НФГОБ (75 – 87,5%

чувствительных штаммов *P.aeruginosa* и 55,6 – 66,7% штаммов *A.baumannii*).

Высокая частота резистентности к цефалоспорином III-IV поколений у 54,2% штаммов *E.coli* была обусловлена продукцией бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) TEM1, CTX – M1 и OXA типов.

В ходе исследования выделен МБЛ VIM-2 продуцирующий штамм *P.aeruginosa*, OXA-23 карбапенемазы продуцирующие штаммы *A.baumannii* (33,3%) в отделениях гнойной хирургии многопрофильных стационаров г.Алматы, что свидетельствует о распространении и вероятной эпидемиологической связи с ранее описанными нозокомиальными штаммами на территории России, Беларуси и Центрального Казахстана [13, 14].

Таким образом, зарегистрированная высокая частота резистентности к современным цефалоспоринам у изолятов семейства Enterobacteriaceae и прежде всего, у *E.coli* (54,2%) и *K.pneumoniae* (60%), обусловленная распространением БЛРС исключает возможность их эмпирического применения для лечения гнойных инфекций, вызванных энтеробактериями. Ассоциированная резистентность НФГОБ, продуцирующих карбапенемазы к антибиотикам всех классов, за исключением полимиксинов, крайне ограничивает возможности терапии инфекций, вызванных такими штаммами и определяет необходимость осуществления регулярного мониторинга чувствительности возбудителей инфекций в стационарах, и при необходимости коррекции стратегии антибиотикотерапии.

Литература.

1. Сухорукова М. В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., Козлов Р. С. и исследовательская группа «Марафон». Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011-2012 гг.// *Клин микробиол антимикроб химиотер.* - 2014. - №16 (4). – С.254-265.
2. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Шек Е.А., Дехнич А.В., Козлов Р.С. и исследовательская группа «Марафон». Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Acinetobacter spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011-2012 гг.// *Клин микробиол антимикроб химиотер.* - 2014.- №16 (4). – С.266-272.
3. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Шек Е.А., Дехнич А.В., Козлов Р.С. и исследовательская группа

- «Марафон». Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРА-ФОН в 2011-2012 гг. // *Клин микробиол антимикроб химиотер.* - 2014.- №16 (4). – С. 273-279.
4. Сидоренко С.В., Березин А.Г., Иванов Д.В. Молекулярные механизмы устойчивости грамотрицательных бактерий семейства *Enterobacteriaceae* к цефалоспориновым антибиотикам. *Антибиотики и химиотерапия* – 2011; 49(3):6-16.
 5. Ильина В.Н., Субботовская А.И., Козырева В.С., Сергеевичев Д.С., Шилова А.Н. Характеристика штаммов *Enterobacteriaceae*, продуцирующих БЛРС СТХ-М типа, выделенных в кардиохирургическом стационаре. *Клин микробиол антимикроб химиотер.* -2013; 15(4). – С.309-314.
 6. Мудрак Д.Е. Молекулярно-генетические особенности устойчивости к бета-лактамным антибиотикам грамотрицательных микроорганизмов-возбудителей нозокомиальных инфекций. Автореф. уч. ст. канд. биол. наук. – 2010. – С.22.
 7. Степанова М.Н. Мутационная изменчивость СТХ-М β-лактамаз и формирование устойчивости к цефтазидиму у клинических и лабораторных штаммов *Escherichia coli*. Автореф. уч. ст. канд. биол. наук. – 2011. – С.23.
 8. Coque T.M., Novais A., Carattoli A. et al. Dissemination of clonally related *Escherichia coli* strains expressing extended-spectrum β-lactamase CTX-M-15. *Emerging Infectious Diseases* 2008; 14: 2:195-200.
 9. Козлов Р.С., Голуб А.В., Дехнич А.В., Сухорукова М. В., исследовательская группа SMART. Антибиотикорезистентность грамотрицательных возбудителей осложненных интраабдоминальных инфекций в России. *Клин микробиол антимикроб химиотер.* - 2015; 17(3). – С.227-234.
 10. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. *Breakpoint Tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0, 2014.* (<http://www.eucast.org>).
 11. Эйдельштейн М.В. Выявление бета-лактамаз расширенного спектра у грамотрицательных бактерий с помощью фенотипических методов. *Клин микробиол антимикроб химиотер.* - 2001; 3(2)183-189.
 12. Monstein HJ, O stholm-Balkhed A, Nilsson MV, Nilsson M, Dornbusch K & Nilsson LE (2007) Multiplex PCR amplification assay for the detection of *blaSHV*, *blaTEM* and *blaCTX-M* genes in *Enterobacteriaceae*. *APMIS* 115:1400-1408.
 13. Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Шевченко О.В., Тапальский Д.В., Азизов И.С., Дсоуза Д.В., Тимохова А.В., Сухорукова М.В., Козырева В.К., Сафронова Е.В., Астахова М.В., Карпов И.А., Шамаева С.Х., Абрамова Н.В., Гординская Н.А., Козлов Р.С. Распространенность и молекулярная эпидемиология грамотрицательных бактерий, продуцирующих метало-бета-лактамазы, в России, Беларуси и Казахстане. // *Клин микробиол антимикроб химиотер.* – 2012. - №14(2). – С.132-152.
 14. Азизов И.С., Захарова Е.А., Лавриненко А.В. и др. Многолетний мониторинг распространения штаммов НГОБ при госпитальных интраабдоминальных инфекциях в Центральном Казахстане. // *Клин микробиол антимикроб химиотер.* - 2015. - Том 17, №2, Приложение 1. – С. 12-13.