

УДК 615.779.9  
©Иванов, Егоров

**РАСПРОСТРАНЕНИЕ И МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ  
МИКРООРГАНИЗМОВ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ БЕТА-ЛАКТАМАЗЫ.  
ФЕНОТИПИРОВАНИЕ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ПРОДУЦЕНТОВ  
*AmpC*-БЕТА-ЛАКТАМАЗ СЕМЕЙСТВА *ENTEROBACTERIACEAE* И  
МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ УСТОЙЧИВОСТИ К БЕТА-ЛАКТАМНЫМ  
АНТИБИОТИКАМ ШТАММОВ *ENTEROBACTER CLOACAE*, ВЫДЕЛЕННЫХ  
ПРИ ВНУТРИБОЛЬНИЧНЫХ ИНФЕКЦИЯХ**

***Д.В. Иванов\*, А.М. Егоров***

Российская медицинская академия последипломного образования, 117105,  
Москва, ул. Нагатинская, д. 3а, тел.: (499) 611-20-20; факс: (499) 611-42-38;  
эл. почта: dmv1303@yandex.ru

Исследована антибиотикочувствительность 128 внутрибольничных штаммов - потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных у больных, находившихся на стационарном лечении в 30 медицинских центрах 15 различных регионов России. Чувствительность к антибактериальным препаратам определяли методом серийных разведений в микрообъеме. Наиболее активными антибактериальными препаратами в отношении исследованных штаммов оставались карбапенемы (имипенем и меропенем). Детектирование генов бета-лактамаз класса А (TEM, SHV, CTX) было проведено у 51 штамма *E. cloacae* методом ПЦР. В изолированном виде, либо в различных комбинациях TEM бета-лактамазы были обнаружены у 31 (60,8%) штамма, SHV – у 22 (43,1%), а CTX – тоже у 22 (43,1%) штаммов *E. cloacae*. Детекция генов бета-лактамаз TEM-, SHV- и CTX-групп у 13 (25,5%), подозрительных на их продукцию культур энтеробактера этого вида, имела отрицательный результат.

**Ключевые слова:** внутрибольничные инфекции, продуценты, *AmpC*-бета-лактамазы, антибиотикорезистентность, цефалоспорины, бета-лактамазы.

**ВВЕДЕНИЕ.** Этиология нозокомиальных инфекций, вызванных грамотрицательными микроорганизмами с множественной лекарственной устойчивостью, изучена сегодня довольно плохо. Это связано как с большим разнообразием возбудителей, так и с вариабельностью распространённости последних в зависимости от региона и даже отдельного стационара [1, 2]. Поэтому в большинстве случаев антибактериальная терапия основана на эмпирическом подходе, особенно до получения результатов микробиологического исследования. Но даже при правильно проведенном бактериологическом исследовании в лаборатории стационара не всегда удаётся выделить значимые патогены, и этиология заболевания остаётся неуточнённой.

---

\* - адресат для переписки

В последние годы актуальны проблемы устойчивости грамотрицательных микроорганизмов к антибактериальным препаратам, при которой имеются значительные сложности лечения вышеперечисленных инфекций. Сегодня в клинической практике основную проблему составляют грамотрицательные возбудители, резистентные к цефалоспорином III поколения. Именно они продуцируют так называемые бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), производство которых обуславливает неэффективность целой группы антибиотиков – бета-лактамов. БЛРС выявляются у всех представителей семейства *Enterobacteriaceae*.

Вторым механизмом устойчивости к цефалоспорином III, но не IV поколения, является гиперпродукция хромосомных бета-лактамаз класса C (*AmpC*-бета-лактамаз). Это явление чаще всего обнаруживается у представителей *Enterobacter spp.*, *Serratia spp.*, *Morganella spp.*, *Providencia spp.*, *Citrobacter spp.* Однако на практике возможны разнообразные сочетания различных механизмов устойчивости к бета-лактамам, что существенно затрудняет оптимизацию антибактериальной терапии.

С целью выяснения реальной картины резистентности к широкому спектру антибактериальных препаратов и выявления наиболее распространенных генетических детерминант устойчивости к бета-лактамам антибиотикам нами проведено исследование штаммов потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных при внутрибольничных инфекциях у больных, находившихся на стационарном лечении в ОРИТ и других отделениях медицинских центров различных городов России.

**МЕТОДИКА.** В исследование были включены штаммы потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз семейства *Enterobacteriaceae*, которые были выделены общепринятыми методами при нозокомиальных инфекциях и обладали промежуточной или высокой устойчивостью хотя бы к одному из цефалоспоринов III поколения, к защищенным пенициллинам, карбапенемам и/или имели положительный тест на продукцию БЛРС (критерии включения).

Бактериальные культуры, выделенные из клинического материала, помещали в криопробирки (“Symport”, Канада) с транспортной средой, после чего сразу замораживали. Затем бактериологический материал передавали в лабораторию “Сектора медицинской микробиологии и химиотерапии” (центральная лаборатория) Государственного научного центра по антибиотикам (ГНЦА, Москва).

Идентификацию культур проводили стандартными методами на основании морфологических, тинкториальных, культуральных свойств и по биохимическим признакам с помощью коммерческих тест-систем “BBL Crystal/NF” (“Becton Dickinson”, США).

Чувствительность штаммов к антибиотикам определяли унифицированным методом серийных разведений в микрообъеме, учитывая критерии CLSI (ранее NCCLS, США) и используя сбалансированный по катионному составу бульон Mueller–Hinton (“Becton Dickinson”). Для тестирования использовали суспензию суточной культуры бактерий, соответствующую стандарту мутности 0,5 по МакФарланду. Определяли значения минимальной подавляющей концентрации (МПК) цефотаксима, цефтазидима, цефтазидима/клавуланата, цефоперазона, цефоперазона/сульбактама, цефепима, имипенема, меропенема, гентамицина, амикацина, ципрофлоксацина, хлорамфеникола и ко-тримоксазола. Для интерпретации полученных результатов определения антибиотикочувствительности использовали критерии NCCLS [3, 4].

Распределение изученных штаммов по значениям МПК и анализ их антибиотикочувствительности в отношении антибактериальных препаратов проводили с использованием программного пакета “WHONET 5.2” (США).

Штаммы, подозрительные, согласно критериям CLSI, на продукцию БЛРС, включали в исследование методом полимеразной цепной реакции для детекции генов бета-лактамаз класса A (TEM, SHV, CTX) (табл. 1).

Таблица 1. Праймеры, использованные для детекции генов бета-лактамаз класса А.

Ген-мишень	Праймер	Последовательность нуклеотидов (5'-3')	Размерность ампликона (пн)	Позиция в гене	Номер в GeneBank	Т отжига (°C)
TEM	TEM-F	AAACGCTGGTGAAAGTA	774	280-295	AY628199	50
	TEM-R	TAATCAGTGAGGCACCTATCTC		1032-1053	AY628199	
SHV	SHV-F	TTATCTCCCTGTTAGCCACC	731	193-212	AY223863	56
	SHV-R	TGCTTTGTATTTCGGGCCAA		903-922	AY223863	
CTX-M	CTX-M-F	ATGTGCAGTACCAGTAAGGTGATGGC	538	210-235	Y14156	60
	CTX-M-R	GCGATATCGTTGGTGGTGCC		729-748	Y14156	
CTX-M1group	CTX-M1-F	AAATCACTGCGTCAGTTCACGC	864	604-625	AJ416340	54
	CTX-M1-R	CAAACCGTTGGTGACGAT		1450-1467	AJ416340	
CTX-M2group	CTX-M2-F	ATGATGACTCAGAGCATTCG	869	1-20	AB176535	55
	CTX-M2-R	CCGTGGGTACGATTTTCGC		850-869	AB176535	
CTX-M8group	CTX-M8-F	ATGATGAGACATCGCGTTAA	870	274-293	AF189721	56
	CTX-M8-R	TCCGTCGGTGACGATTTTCGCG		1122-1143	AF189721	
CTX-M9group	CTX-M9-F	ATGGTGACAAAGAGAGTGC	869	6336-6354	AF174129	56
	CTX-M9-R	CCTTCGGCGATGATTCCTCGC		7185-7204	AF174129	
CTX-M25group	CTX-M25-F	ATGATGAGAAAAAGCGTAAG	869	2321-2340	AF518567	58
	CTX-M25-R	CCGTCGGTGACAATTCTGGC		3170-3189	AF518567	

Полимеразную цепную реакцию проводили в ПЦР-пробирках на 0,6 мл ("QSP", США) в объеме 25 мкл. В состав реакционной смеси входили: 2,5 мкл 1×Taq ДНК полимеразного буфера, содержащего  $MgCl_2$ , 0,2 мкл 1 ед. Taq ДНК-полимеразы ("СибЭнзим", Россия), 200 мкмоль дезоксинуклеотидов трифосфатов ("Хеликон", Россия) – 2,5 мкл, по 15 пмоль прямого и обратного праймеров ("Литех", Россия) – 2 мкл, 13 мкл деионизованной воды ("Литех") и 5 мкл раствора матрицы ДНК. Амплификацию проводили в термоциклере "Терцик" ("ДНК Технология", Россия), согласно стандартному протоколу реакции: денатурация в течение 2 минут при 94°C, затем 30 циклов амплификации (45 секунд денатурация при 94°C, 1 минута отжиг праймеров, 1 минута элонгация при 72°C), затем 10 минут финальная элонгация при 72°C. Продукты реакции разделяли с помощью электрофореза в горизонтальном аппарате SE-1 ("Хеликон") при напряжении 100 В от постоянного источника тока ("LKB", Германия) в течение 25 минут, варьируя плотность геля агарозы в пределах 1,2–1,7% в зависимости от размерности ампликонов. Агарозный гель готовили на трис-ацетатном буфере ("Хеликон"). Визуализацию полос осуществляли после окрашивания геля бромидом этидия (0,5 мкг/мл) с помощью ультрафиолетового транслюминатора и системы документации Gel Analyse ("ДНК Технология"). Длина продукта амплификации оценивалась с помощью маркера молекулярной массы – 100 bp ("СибЭнзим").

**РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ.** В ходе исследования было получено 128 бактериальных культур потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных при внутрибольничных инфекциях у больных, находившихся на стационарном лечении в 30 медицинских центрах 15 различных регионов России. После проведения фенотипирования 117 (91,4%) штаммов удовлетворяли оговоренным заранее критериям включения микроба в исследование (табл. 2).

## РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ $\beta$ -ЛАКТАМАЗЫ

Таблица 2. Распределение бактериальных культур потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных от больных с госпитальной инфекцией, в соответствии с критериями включения штаммов в исследование.

Микроорганизмы	Получено всего (абс./%)	Соответствовали критериям (абс./%)
<i>Citrobacter spp.</i>	13 (100)	12 (92,3)
<i>Enterobacter spp.</i>	73 (100)	68 (93,2)
<i>Morganella spp.</i>	11 (100)	9 (81,8)
<i>Pantoea agglomerans</i>	6 (100)	6 (100)
<i>Providencia spp.</i>	7 (100)	6 (85,7)
<i>Serratia spp.</i>	18 (100)	16 (88,9)
<b><i>AmpC</i> продуценты всего</b>	<b>128 (100)</b>	<b>117 (91,4)</b>

Из приведенной таблицы следует, что около 10% штаммов, относившихся к потенциальным продуцентам *AmpC*-бета-лактамаз, не соответствовали критериям включения. Наибольшее количество разногласий в оценке антибиотикочувствительности бактерий было выявлено у клинических штаммов родов *Morganella* и *Providencia*, 81,8% и 85,7% соответственно.

Наиболее часто резистентные к бета-лактамам энтеробактерии - потенциальные продуценты *AmpC*-бета-лактамаз - как возбудители нозокомиальной инфекции высеивались у больных с госпитальной инфекцией мочевыводящих путей (в 39,8% случаев). Частота случаев госпитальной пневмонии и нозокомиальной хирургической инфекции, этиологическим фактором которых являлись бактерии данной группы, была практически одинаковой и составляла 28,1% и 27,3% соответственно. Нозокомиальный сепсис, вызванный штаммами энтеробактерий потенциальными продуцентами *AmpC*-бета-лактамаз, был диагностирован в 6 (4,7%) случаях (рис. 1).

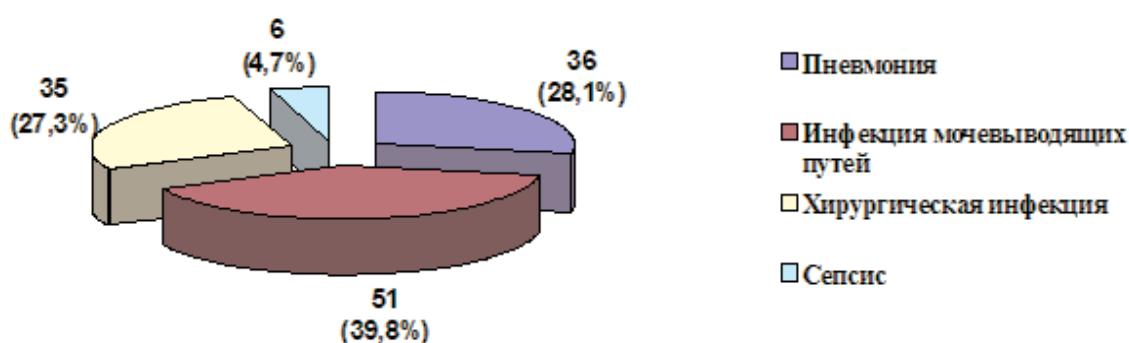


Рисунок 1.

Структура госпитальной инфекции, этиологическим фактором которой были устойчивые к бета-лактамам штаммы энтеробактерий потенциальных продуцентов  $\beta$ -бета-лактамаз.

Распределение изученных штаммов энтеробактерий потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз по МПК антибиотиков (с учётом критериев включения штаммов в исследование) представлено в таблице 3.

Таблица 3. Распределение 116 штаммов энтеробактерий потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз по значениям МПК и уровням антибиотикочувствительности, выделенных от больных с госпитальной инфекцией, с учётом критериев включения.

% ШТАММОВ																		МПК, мкг/мл		
Концентрация антибиотика	<0,125	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	512	*R	*I	*S	МПК <sub>50</sub>	МПК <sub>90</sub>	МПК <sub>99</sub>
<i>Citrobacter</i> spp. (n=12); <i>Enterobacter</i> spp. (n=68); <i>Morganella</i> spp. (n=9); <i>Pantoea agglomerans</i> (n=5); <i>Providencia</i> spp. (n=6); <i>Serratia</i> spp. (n=16);																				
Антибиотик																				
Цефалосп				0,8		9,9	5,8	8,9	6,7	14,2	10	10	11,7	29,2	60,8	20,8	18,3	128	512	74,8
Цефалосп					0,8	0,8	0,8	1,7	0,8	5,8	12,5	8,9	10	58,9	89,2	5,8	5	512	512	220,3
Цефалосп/ сульфам				0,8	9,9	5,8	19,9	14,2	21,7	16,7	12,5	8,9	1,7	1,7	-	-	-	16	128	16,66
Цефалосп			4,2	2,5	10,8	4,2	6,7	2,5	4,2	8,9	14,2	14,2	10	18,9	65	4,2	30,8	64	512	32,37
Цефалосп/ клавулан	6,7		14,2	10	9,2	1,7	0,8	2,5	9,9	10,8	11,7	14,2	5,8	9,2	-	-	-	32	256	8,65
Цефал	0,8		0,8	7,5	14,2	10	10	19,9	8,9	5,8	7,5	4,2	2,5	15	35	8,9	56,7	8	512	11,25
Имипен	18,9		28,9	22,5	14,2	6,7	6,7	2,5	0,8						0,8	2,5	96,7	0,5	2	0,43
Меропен	68,9		15,8	7,5	9,9	1,7	9,9								0	0	100	0,064	0,5	0,12
Гентами	5		7,5	2,5	0,8	0,8	2,5	6,7	12,5	9,2	9,2	19,2	5,8	18,9	74,2	6,7	19,2	64	512	28,78
Амика	2,5		10,8	10,8	6,7	7,5	11,7	11,7	8,9	1,7	0,8	1,7	1,7	25,8	28,9	1,7	70	4	512	8,92
Ципрофлокс	40,8		9,2	4,2	5,8	4,2	5	4,2	7,5	5,8	7,5	1,7		4,2	35,8	4,2	60	0,25	64	0,94
Хлорамфени	0,8						11,7	11,7	5,8	4,2	0,8	9,2	15	40,8	70	5,8	24,2	256	512	94,21
Ко-тримокс	2,5	1,7	5,8	2,5	5		5	1,7	5,8	70					82,5	0	17,5	32	32	11,97

Примечание: R - резистентные штаммы, I - штаммы с промежуточной чувствительностью, S - чувствительные штаммы.



## РЕЗИСТЕНТНОСТЬ МИКРООРГАНИЗМОВ, ПРОДУЦИРУЮЩИХ $\beta$ -ЛАКТАМАЗЫ

Как видно из таблицы 3, наиболее активными антибактериальными препаратами в отношении исследованных штаммов, устойчивых к бета-лактамам, оставались карбапенемы (имипенем – 96,7% и меропенем – 100% чувствительных штаммов). Однако, среди изолятов энтеробактерий потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз выявлены 3 штамма с промежуточной чувствительностью к имипенему и 1 – устойчивый к имипенему, которые принадлежали следующим видам: *Pr. rustigianii*, *S. marcescens* и *E. cloacae*.

Среди цефалоспоринов III поколения самые низкие значения МПК наблюдались у ингибиторозащищенных препаратов, таких как цефтазидим/клавуланат (МПК<sub>50</sub> - 32 мкг/мл, МПК<sub>90</sub> – 256 мкг/мл) и цефоперазон/сульбактам (МПК<sub>50</sub> - 16 мкг/мл, МПК<sub>90</sub> – 128 мкг/мл). К цефтазидиму были чувствительными 30,8% штаммов-продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз, к цефотаксиму – 18,3%, а к цефоперазону – всего лишь 5%. Более половины (56,7%) всех штаммов из данной группы энтеробактерий оставались чувствительными к цефалоспорино IV поколения цефепиму, а значения его МПК<sub>50</sub> и МПК<sub>90</sub> составляли 8 мкг/мл и 512 мкг/мл соответственно.

Из аминогликозидов самые низкие значения МПК наблюдались у амикацина (МПК<sub>сред</sub> - 8,92 мкг/мл). При этом 70% штаммов-продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз были чувствительными к амикацину, а 1,7% - имели промежуточный уровень резистентности к нему. Для гентамицина значение МПК<sub>сред</sub> было в 3 раза выше, чем таковое для амикацина, и, соответственно, доля чувствительных к нему изолятов энтеробактерий составила всего лишь 19,2%.

Ципрофлоксацин обладал недостаточной активностью в отношении устойчивых к бета-лактамам энтеробактерий данной группы: 35,8% штаммов были резистентными, 4,2% обладали промежуточным уровнем устойчивости, а чувствительными были 60% штаммов.

Активность хлорамфеникола и ко-тримоксазола в отношении штаммов-продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз была очень низкой (24,2% и 17,5% чувствительных бактериальных культур соответственно).

В ходе исследования было детально изучено разнообразие фенотипов антибиотикорезистентности устойчивых к бета-лактамам штаммов *E. cloacae*, как самого распространенного патогена из группы потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз. Результатами этого стало выявление у данного вида энтеробактера 24 различных фенотипов антибиотикорезистентности, среди которых доминировали фенотипы с множественной лекарственной устойчивостью: к 5-ти антимикробным препаратам – 15,7% штаммов; 6-ти – 23,5%; 7-и – 15,7%. Из всего множества фенотипов антибиотикорезистентности 21,6% изолятов *E. cloacae* были одновременно устойчивы к цефотаксиму, цефоперазону, цефтазидиму, гентамицину, хлорамфениколу и ко-тримоксазолу. Данный фенотип лекарственной устойчивости являлся самым распространенным.

Результаты детекции методом ПЦР генов наиболее распространенных бета-лактамаз класса А (TEM, SHV, CTX) у 51 штамма *E. cloacae*, подозрительных на их продукцию после фенотипирования, представлены на рисунке 2.

Как следует из представленных данных, у 38 (74,5%) изолятов энтеробактера, являвшихся подозрительными на продукцию бета-лактамаз, по данным фенотипического анализа, были выявлены гены TEM, SHV и CTX, либо их комбинации. В изолированном виде гены этих ферментов были обнаружены у 7 (13,7%) бактериальных культур, а различные их комбинации – у 31 (60,8%) штамма *E. cloacae*, при этом у 6 (11,8%) изолятов была выявлена комбинация трёх генетических детерминант устойчивости к бета-лактамам одновременно. Таким образом, в изолированном виде, либо в различных комбинациях TEM бета-лактамазы были обнаружены у 31 (60,8%) штамма, SHV – у 22 (43,1%), а CTX – тоже у 22 (43,1%) штаммов *E. cloacae*. Детекция генов бета-лактамаз TEM-, SHV- и CTX-групп у 13 (25,5%) подозрительных на их продукцию культур энтеробактера этого вида имела отрицательный результат.

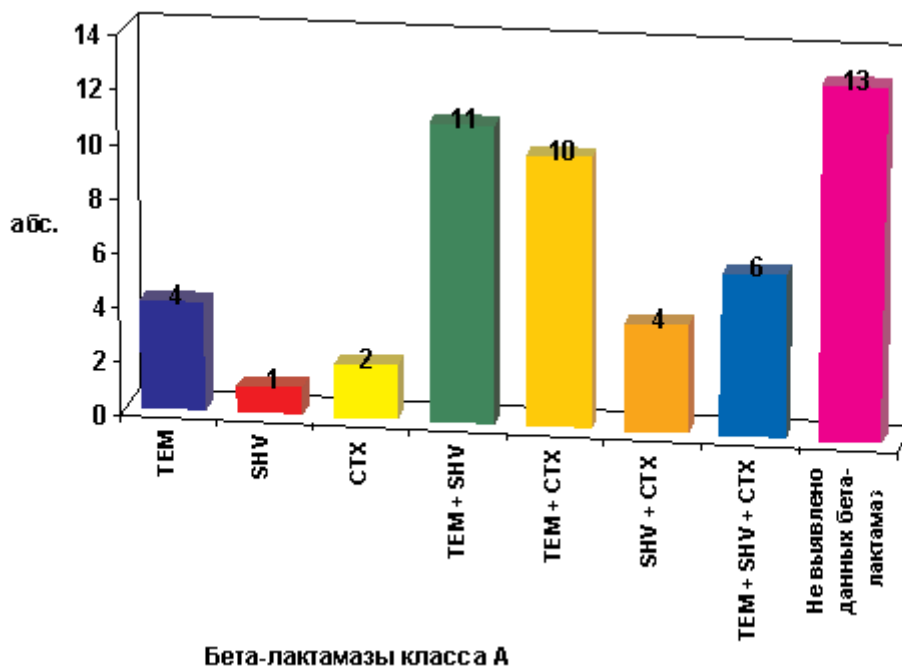


Рисунок 2.

Распределение генов наиболее распространенных бета-лактамаз класса А (TEM, SHV, CTX) среди 51 штамма *Enterobacter cloacae*, включенных в исследование методом ПЦР.

Методом ПЦР у бета-лактамаз типа CTX была определена генетическая подгруппа. Среди 22 штаммов *E. cloacae*, у которых детектированы CTX гены, все (100%) ферменты принадлежали подгруппе CTX-M1. Гены ферментов CTX других подгрупп (CTX-M2, CTX-M8, CTX-M9 и CTX-M25) у резистентных к бета-лактамам штаммов *E. cloacae*, включенных в исследование, не обнаружены.

Распределение устойчивых к бета-лактамам штаммов *E. cloacae*, продуцирующих различные типы бета-лактамаз класса А или их комбинации и не продуцирующих бета-лактамазы, по чувствительности к бета-лактамам антибиотикам представлено в таблице 4.

Вне зависимости от типа продуцируемых бета-лактамаз класса А, практически все изученные методом ПЦР штаммы энтеробактера были чувствительны к карбапенемам (имипенему и меропенему). Однако, среди изолятов *E. cloacae* с генотипом TEM + SHV + CTX выявлена 1 культура бактерий с промежуточной чувствительностью к имипенему.

Все (100%) штаммы *E. cloacae*, продуцирующие исключительно бета-лактамазы типа TEM, были устойчивы к цефотаксиму, цефтазидиму и цефепиму.

Штаммы *E. cloacae* с генотипами TEM + SHV, TEM + CTX и SHV + CTX отличались друг от друга по чувствительности к бета-лактамам антибиотикам. Например, генотип TEM + SHV был существенно чаще устойчивым к цефтазидиму, а генотипы TEM + CTX и SHV + CTX – в равной степени чаще резистентными к цефотаксиму, цефоперазону и цефепиму.

Штаммы *E. cloacae*, продуцирующие одновременно все три бета-лактамазы класса А (TEM, SHV, CTX), отличались высокими уровнями устойчивости к цефоперазону (83,3%) и цефтазидиму (66,7%).

Таблица 4. Антибиотикочувствительность (в %) устойчивых к бета-лактамам штаммов *Enterobacter cloacae*, продуцирующих различные типы бета-лактамаз класса А (TEM, SHV, CTX) или их комбинации

Бета- лактамы антибиотик	% ШТАММОВ																	
	TEM (n=9)			TEM + SHV (n=10)			TEM + CTX (n=20)			SHV + CTX (n=9)			TEM + SHV + CTX (n=9)			Нет данных бета- лактамаз (n=13)		
	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S	R	I	S
	100	0	0	36,7	45,5	18,2	70	20	10	75	0	25	33,3	33,3	33,3	69,2	15,4	15,4
Цефотаксим	75	25	0	72,7	18,2	9,1	100	0	0	100	0	0	83,3	0	16,7	84,6	7,7	7,7
Цефоперазон	100	0	0	90,9	0	9,1	70	20	10	50	25	25	16,7	16,7	16,7	76,9	7,7	15,4
Цефтазидим	100	0	0	9,1	27,3	63,6	70	10	20	75	0	25	16,7	16,7	50	30,8	15,4	53,8
Унасин	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	16,7	83,3	0	0	100
Меропенем	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100	0	0	100



Антимикробная активность цефотаксима, цефоперазона и цефтазидима в отношении штаммов энтеробактера, у которых не выявлены гены бета-лактамаз типов TEM, SHV и CTX, оставалась крайне низкой, сопоставимой с таковой для штаммов-продуцентов этих ферментов.

Появление в клинической практике цефалоспоринов III поколения, обладавших высокой активностью в отношении большинства грамотрицательных бактерий, давало определенные надежды на прогресс в лечении серьезных инфекций в стационаре. Однако в последнее десятилетие в антимикробной химиотерапии стали отчетливо прослеживаться две тенденции. Первая из них связана с существенным повышением резистентности грамотрицательных микроорганизмов к цефалоспорином III поколения за счет продукции ими хромосомных бета-лактамаз класса C (*AmpC*-бета-лактамаз). Вторым важным механизмом резистентности энтеробактерий к цефалоспорином является продукция плазмидных БЛРС, гидролизующих все цефалоспорины, что определяет их клиническую неэффективность в этих случаях.

В 2002 году были опубликованы “Рекомендации по оптимизации антимикробной терапии нозокомиальных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями в отделениях реанимации и интенсивной терапии” [5]. В основу этого пособия были положены результаты обследования 2187 пациентов с нозокомиальными грамотрицательными инфекциями в ОРИТ стационаров различных регионов России в 1997-1999 гг. Был отмечен высокий уровень резистентности штаммов рода *Enterobacter* к пиперациллину (44,8%), амоксициллин/клавуланату (89,7%), цефуроксиму (63,1%). В то же время, показатели устойчивости бактериальных культур энтеробактеров к цефалоспорином III поколения оставались на среднем уровне: к цефтриаксону – 30,5%; цефотаксиму – 29,1%; цефтазидиму – 24,6% резистентных штаммов. Наиболее активным (чувствительность – 100%) в отношении *Enterobacter spp.* являлся имипенем [5].

С января по декабрь 2003 года в четырех ОРИТ крупных скорпомощных стационаров Москвы осуществлялся сбор штаммов микроорганизмов – возбудителей госпитальных инфекций. Бактерии из группы потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз составили 8,3% от всех представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Практически все штаммы были устойчивы к ампициллину и ампициллин/сульбактаму. Чувствительность к цефалоспорином III поколения сохраняли 36–45% штаммов, цефоперазон/сульбактаму – 72,7%, цефепиму – 63,6%. Среди включенных в исследование штаммов частота устойчивости к гентамицину и нетилмицину была на уровне 70–80%, устойчивости к амикацину выявлено не было [6].

Полученные в ходе настоящего исследования данные по антибиотикочувствительности штаммов потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз семейства *Enterobacteriaceae*, выделенных при внутрибольничных инфекциях, соответствуют неблагоприятным тенденциям. Продукция БЛРС является одним из наиболее частых и значимых механизмов резистентности нозокомиальных штаммов семейства *Enterobacteriaceae* в ОРИТ стационаров России. Кроме того, рост встречаемости БЛРС связан в основном с распространением CTX-M ферментов, которые по сравнению с “классическими” БЛРС TEM и SHV типов обладают большей гидролитической активностью в отношении многих бета-лактамов антибиотиков, включая цефотаксим, цефтриаксон и цефепим [7].

Вообще, антибиотикочувствительность бактерий не является стабильным показателем. Она может изменяться в зависимости от частоты использования антибактериальных препаратов и варьировать в зависимости от изучаемого региона и даже стационара. Поэтому подобные работы необходимо продолжать постоянно и повсеместно.

### ВЫВОДЫ.

1. Наиболее часто резистентные к бета-лактамам энтеробактерии - потенциальные продуценты *AmpC*-бета-лактамаз - как возбудители нозокомиальной инфекции высевалась у больных с госпитальной инфекцией мочевыводящих путей.
2. Определение чувствительности энтеробактерий - потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз практически всех родов к антибактериальным препаратам в условиях бактериологических лабораторий при лечебно-профилактических учреждениях сопровождалось ошибочными результатами.
3. Отмечается высокий уровень резистентности нозокомиальных штаммов потенциальных продуцентов *AmpC*-бета-лактамаз семейства *Enterobacteriaceae* ко всем антибактериальным препаратам, имеющим широкое практическое значение в терапии, за исключением карбапенемов.
4. У большинства нозокомиальных штаммов *Enterobacter cloacae*, являвшихся подозрительными на продукцию БЛРС по данным фенотипического анализа, были выявлены гены ферментов бета-лактамаз класса А (TEM, SHV, CTX), либо их комбинации.
5. Энзимы подгруппы CTX-M1 выявлены у всех внутрибольничных штаммов *Enterobacter cloacae*, несущих CTX-гены.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Hayner C., Baughman R. (1995) Infect. Med., **12**(7), 322-330.
2. Mayer J., Campbell G. (1996) Infect. Med., **13**, 1027-1029, 1033-1036, 1044.
3. NCCLS. (1999) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighth Informational Supplement. NCCLS document M100-S9. NCCLS, Wayne, PA.
4. NCCLS. (1998) Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Eighth Informational Supplement. NCCLS document M100-S8. NCCLS, Wayne, PA.
5. Страчунский Л.С., Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Стецюк О.У., Кречикова О.И. (2002) Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, **4**, 379-390.
6. Сидоренко С.В., Резван С.П., Еремина Л.В., Поликарпова С.В., Карабак В.И., Меньшикова Е.Д., Тишков В.И., Черкашин Е.А., Белобородов В.Б. (2005) Антибиотики и химиотерапия, **50**(2-3), 33-41.
7. Эйдельштейн М.В., Страчунский Л.С., исследовательская группа "РОСНЕТ" (2005) Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, **7**, 323-336

Поступила: 26. 11. 2007.

**SPREADING AND MECHANISMS OF ANTIMICROBIAL RESISTANCE OF  
MICROORGANISMS, PRODUCING BETA-LACTAMASES.  
PHENOTYPING OF POTENTIAL *AmpC*-BETA-LACTAMASES PRODUCERS OF  
*ENTEROBACTERIACEAE* AND MOLECULAR MECHANISMS OF RESISTANCE TO  
BETA-LACTAMS OF *ENTEROBACTER CLOACAE* STRAINS,  
ISOLATED IN CASES OF NOSOCOMIAL INFECTIONS**

***D.V. Ivanov, A.M. Egorov***

Russian Medical Academy of Postgraduate Training, Nagatinskaya ul., 3a, Moscow, 117105 Russia;  
tel.: (499) 611-20-20; fax: (499) 611-42-38; e-mail: dmv1303@yandex.ru

Susceptibility of nosocomial potential *AmpC*-beta-lactamases producers strains (n=128), isolated from patients admitted to 30 medical centers of 15 various regions of Russia has been investigated. The susceptibility testing was performed by the broth microdilution method. The most active antibacterial agents acting to the investigated strains remained carbapenems (imipenem and meropenem). PCR-based detection of beta-lactamase genes (TEM, SHV, CTX) was investigated in 51 *E. cloacae* strains. Alone or in various combinations TEM type beta-lactamases have been found in 31 (60,8%) isolates, SHV - in 22 (43,1%), and CTX – in 22 (43,1%). There were negative results of TEM, SHV, CTX beta-lactamases genotyping in 13 (25,5%) *E. cloacae* suspect strains.

**Key words:** nosocomial infections, producents, *AmpC*-beta-lactamases, antimicrobial resistance, cephalosporines, beta-lactamases.