

ISSN 2225-6016

# ВЕСТНИК

*Смоленской государственной  
медицинской академии*

*Том 13, №2*

2014



УДК 616-093/-098

## РОСТ НЕЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К КАРБАПЕНЕМАМ И ЧАСТОТЫ ПРОДУКЦИИ КАРБАПЕНЕМАЗ У НОЗОКОМИАЛЬНЫХ ШТАММОВ ACINETOBACTER SPP. В РОССИИ В 2002-2012 гг.

© Мартинович А.А., Эйдельштейн М.В.

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии Смоленской государственной медицинской академии, Россия, 214019, г. Смоленск, ул. Кирова, д.46А

**Резюме:** Цель исследования – определение основных тенденций в изменении уровня антибиотикорезистентности нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp., выделенных в многопрофильных стационарах России в 2002-2004 гг., 2006-2008 гг. и 2011-2012 гг., с выявлением механизмов устойчивости к карбапенемам.

Проведено исследование *in vitro* активности меропенема и имипенема и частоты продукции карбапенемаз у 1049 нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp., полученных в период с 2002 г. по 2012 г. из различных городов России. Отмечен стремительный рост нечувствительности к карбапенемам нозокомиальных *Acinetobacter* spp. в 2011-2012 гг. (91,3% для имипенема и 51,9% для меропенема) и значительное увеличение продукции ОХА-24/40-подобных карбапенемаз (38% нозокомиальных *A. baumannii*).

**Ключевые слова:** *Acinetobacter*, карбапенемы, резистентность, карбапенемазы

## INCREASE OF CARBAPENEM-NON-SUSCEPTIBILITY AND CARBAPENEMASE PRODUCTION RATE IN NOSOCOMIAL ACINETOBACTER SPP. IN RUSSIA IN 2002-2012

Martinovich A.A., Edelstein M.V.

Institute of antimicrobial chemotherapy, Smolensk State Medical Academy, Russia, 214019, Smolensk, Kirov St., 46A

**Summary:** The aim of the study was to establish the common trends in antibiotic resistance rate in nosocomial *Acinetobacter* spp. from multi-speciality hospitals, obtained in 2002-2004, 2006-2008 and 2011-2012, with the detection of carbapenem-resistance mechanisms.

The study on *in vitro* activity of meropenem and imipenem and carbapenemase production rate in 1049 nosocomial *Acinetobacter* spp. strains obtained in 2002-2012 period from various Russian cities was performed. The rapid increase in carbapenem-non-susceptibility (91.3% for imipenem and 51.9% for meropenem) of nosocomial *Acinetobacter* spp. in 2011-2012 and dramatic increase of OXA-24/40-like carbapenemases production (38% of nosocomial *A. baumannii*) were found.

**Key words:** *Acinetobacter*, carbapenems, resistance, carbapenemases

## Введение

В первые годы регистрации нозокомиальных инфекций наиболее частыми их возбудителями были грамположительные бактерии [7, 18, 22]. В наши дни, с увеличением количества активных в отношении полирезистентных грамположительных микроорганизмов препаратов, на первый план в структуре возбудителей нозокомиальных инфекций стали выступать грамотрицательные бактерии [2, 3, 17, 29]. Особого внимания, с точки зрения распространённости и антибиотикорезистентности, заслуживает группа неферментирующих грамотрицательных микроорганизмов, в частности, представители рода *Acinetobacter*, главным образом *A. baumannii* [2, 3, 27]. Частота нозокомиальных инфекций, вызванных ацинетобактерами, неуклонно растёт во всем мире. Так, если в 80-е годы прошлого столетия случаи заболеваний, вызванных *Acinetobacter* spp., были единичными [8, 14], то к настоящему времени бактерии этой группы являются причиной до 14% [25] нозокомиальных инфекций как в странах Европы, так и в РФ [15]. С первых описаний в 70-е годы *Acinetobacter* характеризовался высокой резистентностью ко многим

известным антибиотикам [8, 23, 24]. В настоящее время, распространённость резистентности приобретает всё большие масштабы [13, 22], а летальность при заболеваниях, вызванных данным родом микроорганизмов, носит высокий уровень (например, до 75% при бактериемиях) [5].

В последние годы представители рода *Acinetobacter* характеризуются высокой частотой устойчивости практически ко всем группам антибактериальных препаратов [21, 27]. Во многих случаях фактически единственной группой антибиотиков, сохраняющих активность, являются карбапенемы. Вместе с тем, имеется множество сообщений о выделении карбапенеморезистентных нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. [21]. Причины такой резистентности разнообразны и включают изменение проницаемости наружной клеточной мембраны [12], эффлюкс [16], продукцию приобретённых карбапенемаз (металло-β-лактамаз [19, 30], ОХА-карбапенемаз [4, 6, 9]), гиперпродукцию видоспецифических β-лактамаз (ОХА-51 и родственных ферментов у *A. baumannii*) [26, 30]. Наиболее значимым из известных механизмов резистентности к карбапенемам является продукция приобретённых карбапенем-гидролизующих β-лактамаз класса D: ОХА-23-, ОХА-40-подобных карбапенемаз и ОХА-58, а также металло-β-лактамаз (MBL), таких как IMP, VIM и NDM.

Современные данные о распространённости этих ферментов среди нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp. в России весьма ограничены. В связи с этим, целью данного исследования явилось определение основных тенденций в изменении уровня антибиотикорезистентности нозокомиальных штаммов *Acinetobacter* spp., выделенных в многопрофильных стационарах России в 2002–2004 гг., 2006–2008 гг. и 2011–2012 гг., с выявлением механизмов устойчивости к карбапенемам у полученных штаммов.

## Методика

*Штаммы возбудителей.* Последовательные неповторяющиеся нозокомиальные изоляты были собраны в рамках многоцентровых исследований в три временных периода: 1 января 2002 г. – 31 декабря 2004 г., 1 января 2006 г. – 20 января 2008 г. и 1 января 2011 г. – 31 декабря 2012 г. (табл. 1). Все штаммы направлялись в микробиологическую лабораторию Научно-исследовательского института антимикробной химиотерапии для видовой идентификации, определения чувствительности к антимикробным препаратам и выявления продукции карбапенемаз.

Таблица 1. Количество изолятов *Acinetobacter* spp. в каждый временной период

Микроорганизм	2002-2004 гг, 33 стационара	2006-2008 гг, 36 стационаров	2011-2012 гг, 27 стационаров
<i>Acinetobacter baumannii</i>	459	328	237
Др. <i>Acinetobacter</i> spp.	7	4	14

Для выращивания культур использовался агар Мюллер-Хинтон (Becton Dickinson, США), идентификация микроорганизмов проводилась методом времяпролётной масс-спектрометрии (MALDI-TOF-MS, Bruker Daltonics maldi biotyper, США).

*Чувствительность к карбапенемам.* Определение чувствительности проводилось в лаборатории НИИХ методом последовательных двукратных разведений в агаре Мюллера-Хинтон в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов США (CLSI). Для интерпретации результатов определения чувствительности использованы критерии CLSI [20]. Штаммы *E. coli* ATCC® 25922 и *P. aeruginosa* ATCC® 27853 были использованы в качестве контрольных.

*Выявление карбапенемаз.* Все нечувствительные к карбапенемам штаммы были изучены на продукцию карбапенемаз молекулярными методами (табл. 2). Штаммы, продуцирующие и не продуцирующие известные типы карбапенемаз (VIM-1, VIM-2, IMP-1, NDM-1, KPC-3, ОХА-48, ОХА-23, ОХА-40 и ОХА-58), были использованы в качестве контрольных. Указанные в таблице гены были охарактеризованы ПЦР-амплификацией (реагенты для ПЦР AmpliSens®, ЦНИИЭ,

Россия; термоциклер Rotor-Gene 6000, Corbett Research, Австралия) и секвенированием (секвенатор ABI PRISM® 310 Genetic Analyzer, Applied Biosystems, США).

Таблица 2. Молекулярные методы выявления ОХА-карбапенемаз

Микроорганизм	AmpliSens® мультиплекс ПЦР в реальном времени.	
	Гены-мишени	
	MBL-FL	Ab-OXA-FL
<i>Acinetobacter</i> spp.	<i>bla</i> <sub>VIM</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-23-like</sub>
	<i>bla</i> <sub>IMP</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-24/40-like</sub>
	<i>bla</i> <sub>NDM</sub>	<i>bla</i> <sub>OXA-58-like</sub>
	-	<i>bla</i> <sub>OXA-143-like</sub>

### Результаты исследования

Из всех полученных штаммов подавляющее большинство составили представители вида *A. baumannii* – 459 (98,5%), 328 (98,8%) и 237 (94,4%) в 2002-2004 гг., 2006-2008 гг. и в 2011-2012 гг. соответственно. Другими видами были *A. calcoaceticus*, *A. lwoffii*, *A. haemolyticus*, *A. junii* и *A. pittii*.

Наиболее частой локализацией ацинетобактеров являлись дыхательные пути, откуда была получена практически половина всех штаммов, и раневое отделяемое – четверть штаммов. Остальные штаммы были получены из брюшной полости, крови, мочи, костных биоптатов, суставного выпота и др.

Полученные данные свидетельствуют о повышении частоты нечувствительности к карбапенемам за исследуемый период. Особенно значимый и резкий рост отмечен в 2011-2012 гг.: с 2,3% в 2006-2008 гг. до 91,3% для имипенема; с 14,5% в 2006-2008 гг. до 51,9% для меропенема. Характерно, что и продукция карбапенемаз в этот период так же значительно выросла. Так, если до 2008 г. данные ферменты определялись у 2,3-2,4% изученных штаммов, то в 2011-2012 гг. частота их продукции выросла до 44,5%.

Суммарные данные о чувствительности штаммов *Acinetobacter* spp. к карбапенемам и продукции карбапенемаз за каждый временной период представлены в табл. 3. География выявления продуцентов карбапенемаз представлена на рис. 1.

Таблица 3. Чувствительность к карбапенемам и продукция карбапенемаз штаммами *Acinetobacter* spp. в различные временные периоды.

Антибиотик, карбапенемаза	Количество изолятов, %			МПК, мг/л	
	Ч	У	Р	50%	90%
Имипенем					
2002-2004 гг.	455 (97,6%)	1 (0,2%)	10 (2,1%)	1	2
2006-2008 гг.	321 (96,7%)	2 (0,6%)	9 (2,7%)	1	2
2011-2012 гг.	22 (8,7%)	41 (16,3%)	189 (75,0%)	32	128
Меропенем					
2002-2004 гг.	449 (96,4%)	6 (1,3%)	11 (2,4%)	1	4
2006-2008 гг.	284 (85,5%)	44 (13,3%)	4 (1,2%)	2	8
2011-2012 гг.	121 (48,0%)	17 (6,7%)	114 (45,2%)	8	128
Карбапенемаза	ОХА-23-подобные	ОХА-24/40-подобные	ОХА-58-подобные	NDM-1	
2002-2004 гг.	3 (0,6%)	-	8 (1,7%)	-	-
2006-2008 гг.	-	-	8 (2,4%)	-	-
2011-2012 гг.	11 (4,4%)	90 (35,7%)	10 (4,0%)	1 (0,4%)	



Рис. 1. География выделения штаммов *Acinetobacter* spp., продуцирующих карбапенемазы

### Обсуждение результатов исследования

Карбапенемы долгие годы оставались «последней надеждой» врачей всех специальностей [11]. Высокий уровень неэффективности данных препаратов вынуждает прибегать к назначению комбинированной антибактериальной терапии, что, учитывая и без того тяжёлое состояние пациентов, не всегда является оправданным и несёт определённые трудности [28]. Известно, что резистентность к карбапенемам, вызванная продукцией приобретенных карбапенемаз, может быстро распространяться в нозокомиальной среде и приводить к вспышкам инфекционных осложнений в стационарах [10]. Столь высокая резистентность к карбапенемам и частота продукции карбапенемаз в России является особенно тревожным фактом на фоне крайне низкой эффективности антибактериальных препаратов других классов [1]. Для сохранения активности антибактериальных препаратов в целом, и карбапенемов в частности, требуется строгое соблюдение мер инфекционного контроля и рациональное назначение антибиотиков всех групп.

### Выводы

1. Из микроорганизмов рода *Acinetobacter* spp. наибольшую клиническую значимость в России, по-прежнему, представляет *Acinetobacter baumannii*.
2. Резистентность к карбапенемам *Acinetobacter* spp. резко выросла в 2011-2012 г. и составила 91,3% для имипенема; и 51,9% для меропенема.
3. Выявленная высокая частота продукции карбапенемаз в стационарах России свидетельствует о возможности быстрого распространения устойчивости к карбапенемам и утраты эффективности данной группы антибактериальных препаратов.
4. Необходимо рациональное использование антибиотиков в стационарах для сдерживания дальнейшего роста резистентности.

### Литература

1. Козлов Р.С., Стецюк О.У., Андреева И.В. Современные тенденции антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ России: что нас ждет дальше? // Ж. «Интенсивн. терапия». – 2007. – №4. – С. 22-25.
2. Aly N.Y., Al-Mousa H.H., Al Asar el S.M. Nosocomial infections in a medical-surgical intensive care unit. // Med Princ Pract – 2008. – V17. – N5. – P373-377.
3. Bartoszko-Tyczkowska A., Gaszyński W., Baranowska A., Tyczkowska-Sieroń E. Nosocomial infection control in intensive therapy // Anesthesiol. Intens. Ter. – 2008. – V.40. – P232-236.

4. Carvalho K.R., Carvalho-Assef A.P., Peirano G., Santos L.C., Pereira M.J., Asensi M.D. Dissemination of multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii* genotypes carrying bla(OXA-23) collected from hospitals in Rio de Janeiro, Brazil. // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2009. – V.34. – P. 25-28.
5. Chastre J. Infections due to *Acinetobacter baumannii* in the ICU // *Semin Respir Crit Care Med* – 2003. – V24. – N1. – P69-78.
6. Coelho J., Woodford N., Afzal-Shah M., Livermore D. Occurrence of OXA-58-like carbapenemases in *Acinetobacter* spp. collected over 10 years in three continents // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2006. – V50. – P. 756-758.
7. Cormican M.G., Jones R.N. Emerging resistance to antimicrobial agents in gram-positive bacteria. Enterococci, staphylococci and nonpneumococcal streptococci // *Drugs.* – 1996. – V.51. – Supp.1. – P. 6-12.
8. Crues J.V., Murray B.E., Moellering R.C. In vitro activity of three tetracycline antibiotics against *Acinetobacter calcoaceticus* subsp. *anitratus*. // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1979. – V.16, N5. – P. 690-692.
9. Da Silva G.J., Quinteira S., Birtolo E., et al. Long-term dissemination of an OXA-40 carbapenemase-producing *Acinetobacter baumannii* clone in the Iberian Peninsula // *J Antimicrob. Chemother.* – 2004. – V.54, N1. – P. 255-258.
10. Durante-Mangoni E., Zarrilli R. Global spread of drug-resistant *Acinetobacter baumannii*: molecular epidemiology and management of antimicrobial resistance // *Future Microbiol.* – 2011. – V.6, N4. – P. 407-422.
11. Evans B.A., Hamouda A., Amyes S.G. The rise of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii*. // *Curr. Pharm. Des.* – 2013. – V.19, N2. – P. 223-238.
12. Fernandez-Cuenca F.L., Martinez-Martinez M.C., Conejo J.A. et al. Relationship between beta-lactamase production, outer membrane protein and penicillin-binding protein profiles on the activity of carbapenems against clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. // *J. Antimicrob. Chemother.* – 2003. – V.51. – P. 565-574.
13. Giamarellou H., Antoniadou A., Kanellakopoulou K. *Acinetobacter baumannii*: a universal threat to public health? // *Int. J. Antimicrob. Agents.* – 2008. – V32, N2. – P. 106-119.
14. Glew R.H., Moellering R.C. Jr., Kunz L.J. Infections with *Acinetobacter calcoaceticus* (*Herellea vaginicola*): clinical and laboratory studies // *Medicine (Baltimore).* – 1977. – V56, N2. – P. 79-97.
15. Hanberger H., Garcia Rodriguez J.A., Gobernado M. et al. Antibiotic susceptibility among aerobic gram-negative bacilli in intensive care units in 5 European countries. French and Portuguese ICU Study Groups // *JAMA.* – 1999. – V. 281. – P. 67-71.
16. Huang L., Sun L., Xu G., Xia T. Differential susceptibility to carbapenems due to the AdeABC efflux pump among nosocomial outbreak isolates of *Acinetobacter baumannii* in a Chinese hospital // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* – 2008. – V.62, N3. – P. 326-332.
17. Jones R.N., Kirby J.T., Rhomberg P.R. Comparative activity of meropenem in US medical centers (2007): initiating the 2nd decade of MYSTIC program surveillance // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* – 2008. – V.61, N2. – P. 203-213.
18. Jones R.N., Low D.E., Pfaller M.A. Epidemiologic trends in nosocomial and community-acquired infections due to antibiotic-resistant gram-positive bacteria: the role of streptogramins and other newer compounds // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* – 1999 – V.33, N2. – P. 101-112.
19. Mostachio A.K., van der Heidjen I.M., Rossi F. et al. Multiplex PCR for rapid detection of genes encoding Oxa and metallo-beta-lactamases in carbapenem resistant *Acinetobacter* spp. // *J. Med. Microbiol.* – 2009. – V.58, Pt.11. – P. 1522-1524.
20. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing // CLSI. – 2013. – M100. – V.29, N3. – S. 19.
21. Pournaras S., Iosifidis E., Roilides E. Advances in antibacterial therapy against emerging bacterial pathogens // *Semin. Hematol.* – 2009. – V.46, N3. – P. 198-211.
22. Reacher M.H., Shah A., Livermore D.M. et al. Bacteremia and antibiotic resistance of its pathogens reported in England and Wales between 1990 and 1998: trend analysis // *BMJ.* – 2000. – V. 320. – P. 213-216.
23. Seifert H., Baginski R., Schulze A., Pulverer G. Antimicrobial susceptibility of *Acinetobacter* species. // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 1993. – V.37. – P. 750-753.
24. Shi Z.Y., Liu P.Y., Lau Y. et al. Antimicrobial susceptibility of clinical isolates of *Acinetobacter baumannii*. // *Diagn. Microbiol. Infect. Dis.* – 1996. – V.24. – P. 81-85.
25. Skleenova E., Sukhorukova M., Timokhova A. et al. Sharp Increase in Carbapenem-Non-Susceptibility and Carbapenemase Production Rates in Nosocomial Gram-Negative Bacteria in Russia over the Last Decade // *ICAAC.* – США, Денвер Колорадо, 2013. – С. 2-1092.
26. Turton J.F., Ward M.E., Woodford N. et al. The role of ISAbal in expression of OXA carbapenemase genes in *Acinetobacter baumannii*. // *FEMS Microbiol. Lett.* – 2006. – V.258, N1. – P. 72-77.
27. Van Looveren M., Goossens H. and the ARPAC Steering Group. Antimicrobial resistance of *Acinetobacter* spp. in Europe // *Clin. Microbiol Infect* – 2004. – V10. – P. 684-704.
28. Viehman JA1, Nguyen MH, Doi Y. Treatment Options for Carbapenem-Resistant and Extensively Drug-Resistant *Acinetobacter baumannii* Infections // *Drugs.* – 2014. – V.74, N12. – P. 1315-1333

29. Willemsen I., Mooij M., van der Wiel M., et al. Highly resistant microorganisms in a teaching hospital: the role of horizontal spread in a setting of endemicity. // *Infect. Control. Hosp. Epidemiol.* – 2008. – V.29, N12. – P. 1110-1117.
30. Wroblewska M.M., Towner K.J., Marchel H., Luczak M. Emergence and spread of carbapenem-resistant strains of *Acinetobacter baumannii* in a tertiary-care hospital in Poland // *Clin. Microbiol. Infect.* – 2007. – V.13, N5. – P. 490-496.

### **Информация об авторах**

*Мартинович Алексей Александрович* – кандидат медицинских наук, младший научный сотрудник Научно-исследовательского института антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России. E-mail: Alex.Martinovich@antibiotic.ru

*Эйдельштейн Михаил Владимирович* – кандидат биологических наук, заведующий лабораторией Научно-исследовательского института антимикробной химиотерапии ГБОУ ВПО «Смоленская государственная медицинская академия» Минздрава России. E-mail: ME@antibiotic.ru