

Таблица 1 — Серологическая характеристика пациентов с АФС

Показатель	Пациенты с АФС, n = 69, (%)
Условно серонегативные пациенты	10/69 (14,5)
Моно-положительные пациенты:	28/69 (40,6)
— наличие ВА	5/28 (17,9)
— наличие анти-КЛ	7/28 (25)
— наличие анти-β2-ГП I	16/28 (57,1)
Ди-положительные пациенты:	15/69 (21,7)
— наличие анти-КЛ и ВА	2/15 (13,3)
— наличие анти-КЛ и α-β2-ГП I	10/15 (66,7)
— наличие анти-β2-ГП I и ВА	3/15 (20)
Три-положительные пациенты	16/69 (23,2)

Условно серонегативные, моно-положительные, ди- и три-положительные пациенты отличались между собой по доле пациентов с наличием некритериальных проявлений АФС ( $N = 15,43$ ;  $p = 0,002$ ). Парный анализ выявил статистически значимые различия между моно- и три-положительными лицами ( $z = 3,23$ ;  $p = 0,007$ ). Установлено, что вероятность наличия некритериальных проявлений АФС в 17 раз выше у три-положительных пациентов по сравнению с моно-положительными пациентами:  $ОШ = 17,5$  (95 % ДИ 3,22–95,16);  $F = 0,32$ ;  $p = 0,001$ .

С целью дополнительной проверки различий между моно- и три-положительными пациентами в группе исследования были выделены моно-положительные пациенты с наличием антител только к β2-гликопротеину I ( $n = 16$ ) и проведено их сравнение с три-положительными пациентами. Полученный результат соответствовал выявленному ранее: удельный вес лиц с наличием некритериальных проявлений АФС был значимо выше среди три-положительных лиц по сравнению с лицами с наличием антител лишь к β2-гликопротеину I ( $F = 0,40$ ;  $p = 0,001$ ).

#### **Выводы**

1. Среди некритериальных проявлений на начало исследования у пациентов с АФС преобладали поражения кожи (53,5 % случаев) и гематологические проявления (27,9 % случаев).
2. Наличие двух и более видов АФЛА одновременно оказывает статистически значимое влияние на вероятность обнаружения у пациента с АФС некритериальных проявлений:  $ОШ = 3,43$  (95 % ДИ 1,26–9,28);  $\chi^2 = 6,09$ ;  $p = 0,014$ .
3. Серологическая три-положительность значительно повышает вероятность наличия некритериальных проявлений АФС по сравнению с моно-положительностью ( $ОШ = 17,5$  (95 % ДИ 3,22–95,16);  $F = 0,32$ ;  $p = 0,001$ ).

#### **ЛИТЕРАТУРА**

1. Antiphospholipid antibodies and the antiphospholipid syndrome: pathogenic mechanisms / S. S. Pierangeli [et al.] // Semin. Thromb. Hemost. — 2008. — Vol. 34. — P. 236–250.
2. Clinical course of high-risk patients diagnosed with antiphospholipid syndrome / V. Pengo [et al.] // J. Thromb. Hemost. — 2010. — Vol. 8, № 2. — P. 237–242.
3. Devreese, K. M. Antiphospholipid antibodies: evaluation of the thrombotic Risk / K. M. Devreese // Thromb. Res. — 2012. — Vol. 130, Suppl. 1. — P. 37–40.

УДК 615.33

### **ДЕТЕКЦИЯ ГЕНОВ КАРБАПЕНЕМАЗ У ЭКСТРЕМАЛЬНО-АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ**

*Тапальский Д. В.<sup>1</sup>, Козлова А. И.<sup>1</sup>, Бонда Н. А.<sup>2</sup>, Петровская Т. А.<sup>2</sup>, Лагун Л. В.<sup>1</sup>*

<sup>1</sup>Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,

<sup>2</sup>Государственное учреждение

«Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья»

г. Гомель, Республика Беларусь

#### **Введение**

Формирование устойчивости к карбапенемам среди энтеробактерий и грамотрицательных неферментирующих бактерий у них может быть связано с различными механизмами,

однако наибольшее клиническое и эпидемиологическое значение имеет продукция приобретенных карбапенемаз. Опасность этих ферментов обусловлена их широким спектром каталитической активности и способностью к быстрому горизонтальному распространению в бактериальных популяциях. Отдельные эпидемиологически значимые клоны полиантибиотикорезистентных продуцентов карбапенемаз способны быстро распространяться на обширных территориях и вызывать серьезные инфекции, с трудом поддающиеся терапии. Продукция карбапенемаз (метало- $\beta$ -лактамаз у *Pseudomonas aeruginosa* и *Klebsiella pneumoniae*, сериновых ОХА-карбапенемаз у *K. pneumoniae* и *Acinetobacter baumannii*) является важным маркером экстремальной антибиотикорезистентности грамотрицательных бактерий, поскольку в большинстве случаев она ассоциирована с устойчивостью ко многим не  $\beta$ -лактамным препаратам [1, 2].

Важной проблемой здравоохранения последнего десятилетия стало формирование экстремальной антибиотикорезистентности среди энтеробактерий, связанное с продукцией метало- $\beta$ -лактамазы NDM-1. К настоящему времени энтеробактерии (преимущественно *K. pneumoniae* и *Escherichia coli*), продуцирующие NDM-1, обнаружены во многих странах мира, в том числе в Российской Федерации и Республике Беларусь. Энтеробактерии, продуцирующие NDM-1, устойчивы практически ко всем антибиотикам, за исключением полимиксинов [3].

### **Цель**

Определение генов карбапенемаз у экстремально-антибиотикорезистентных грамотрицательных бактерий.

### **Материал и методы исследования**

При проведении рутинных микробиологических исследований в микробиологической лаборатории Гомельского областного центра гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья в 2016–2017 гг. были отобраны 172 клинических изолята *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii* с множественной и экстремальной устойчивостью к антибактериальным препаратам.

Все изоляты были выделены из различных видов клинического материала — мокроты, крови, раневого отделяемого, экссудатов, интраоперационного материала, мочи в диагностически значимых количествах. Реидентификация изолятов была выполнена с использованием автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact на идентификационных картах VITEK 2 GN (bioMérieux, Франция).

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам автоматизированным методом к 17 антибактериальным препаратам (ампициллин/сульбактаму, пиперациллину, цефуроксиму, цефуроксим аксетилу, цефиксиму, цефтриаксону, цефепиму, азтреонаму, меропенему, левофлоксацину, моксифлоксацину, миноциклину, тетрациклину, тигециклину, хлорамфениколу, колистину, триметоприму) выполнено на анализаторе VITEK 2 Compact с использованием диагностических карт AST-XN-05 в соответствии с инструкциями производителя. Для определения различных уровней антибиотикорезистентности использовались международные согласительные критерии: мультирезистентность (MDR — multidrug resistance) — нечувствительность по крайней мере к одному антибиотику в трех и более категориях антимикробных препаратов, экстремальная резистентность (XDR — extensively drug resistance) — нечувствительность по крайней мере к 1 антибиотику во всех категориях антимикробных препаратов, за исключением 1–2 категорий, панрезистентность (PDR — pandrug resistance) — нечувствительность ко всем антибиотикам во всех категориях антимикробных препаратов.

Определение чувствительности микроорганизмов к антибиотикам проводили методом серийных разведений в бульоне Мюллера-Хинтона (BD, Франция). Наименования антибактериальных препаратов для *K. pneumoniae* — меропенем, тигециклин, фосфомицин, колистин, для *P. aeruginosa* — меропенем, имипенем, цефтазидим, колистин, для *A. baumannii* — меропенем, тигециклин, колистин, сульбактам. Тестирование проводили в стерильных 96-луночных полистироловых планшетах (Sarstedt, Германия) в соответствии с ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010. При учете и интерпретации результатов руководствовались стандартами EUCAST или CLSI. Качество исследований контролировали штаммами *E. coli* ATCC 25922 и *P. aeruginosa* ATCC 27853.

Для изолятов *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* и *A. baumannii* с выявленной автоматизированным методом экстремальной антибиотикорезистентностью методом ПЦР в реальном времени выполнена детекция генов карбапенемаз. Для проведения ПЦР использовали диагностические наборы производства ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, Российская Федерация. Информация о выявляемых генах и используемых тест-системах представлена в таблице 1.

Таблица 1 — Гены карбапенемаз и используемые диагностические наборы для их выявления

Микроорганизм	Выявляемые гены карбапенемаз	Диагностические наборы
<i>K. pneumoniae</i>	bla <sub>KPC</sub> , bla <sub>OXA-48</sub>	АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL
	bla <sub>VIM</sub> , bla <sub>IMP</sub> , bla <sub>NDM</sub>	АмплиСенс MDR MBL-FL
<i>P. aeruginosa</i>	bla <sub>VIM</sub> , bla <sub>IMP</sub> , bla <sub>NDM</sub>	АмплиСенс MDR MBL-FL
<i>A. baumannii</i>	bla <sub>OXA-23</sub> , bla <sub>OXA-40</sub> , bla <sub>OXA-58</sub>	АмплиСенс MDR Ab-OXA-FL

Экстракцию ДНК бактериальных культур, амплификацию с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» на амплификаторе RotorGene 3000 (Corbett Research, Австралия), анализ и интерпретацию полученных результатов выполняли в соответствии с инструкциями производителя диагностических наборов.

#### Результаты исследования и их обсуждение

Из 36 клинических изолятов *K. pneumoniae*, включенных в исследование, экстремальная антибиотикорезистентность выявлена у 11 изолятов. Все они сохраняли чувствительность только к колистину и тигециклину и являлись продуцентами карбапенемаз (МБЛ NDM — 2 изолята, OXA-48 — 9 изолятов). Значения минимальных подавляющих концентраций МПК<sub>50</sub> и МПК<sub>90</sub> для экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *K. pneumoniae* представлены в таблице 2.

Из 92 клинических изолятов *P. aeruginosa*, включенных в исследование, экстремальная антибиотикорезистентность выявлена у 82 изолятов. Из них 74 изолята сохраняли чувствительность только к колистину, 8 изолятов были устойчивы ко всем антибиотикам, включая колистин (состояние панрезистентности). Продукция карбапенемаз (метало-бета-лактамаза VIM) выявлена у 9 (11 %) изолятов, у остальных 73 экстремально-антибиотикорезистентных и панрезистентных изолятов *P. aeruginosa* устойчивость к β-лактамам не была связана с продукцией карбапенем-гидролизующих ферментов.

Значения минимальных подавляющих концентраций МПК<sub>50</sub> и МПК<sub>90</sub> для экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *P. aeruginosa* представлены в таблице 3.

Таблица 2 — Значения МПК<sub>50</sub> и МПК<sub>90</sub> экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *K. pneumoniae*

Антибиотик	МПК <sub>50</sub> , мкг/мл	МПК <sub>90</sub> , мкг/мл
Меропенем	64	256
Тигециклин	1	1
Фосфомицин	256	1024
Колистин	0,5	2

Таблица 3 — Значения МПК<sub>50</sub> и МПК<sub>90</sub> экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *P. aeruginosa*

Антибиотик	МПК <sub>50</sub> , мкг/мл	МПК <sub>90</sub> , мкг/мл
Меропенем	64	512
Импипенем	16	256
Цефтазидим	64	128
Колистин	4	8

Из 44 клинических изолятов *A. baumannii*, включенных в исследование, экстремальная антибиотикорезистентность выявлена у 37 изолятов. Все они были чувствительны к тигециклину, 35 изолятов сохраняли чувствительность к колистину, 4 изолята были чувствительны к

сульбактаму. Все экстремально-антибиотикорезистентные изоляты являлись продуцентами ОХА-карбапенемаз: ОХА-23 — 1 (2,7 %) изолят, ОХА-40 — 36 (97,3 %) изолятов. Значения МПК<sub>50</sub> и МПК<sub>90</sub> для экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *A. baumannii* представлены в таблице 4.

Таблица 4 — Значения МПК<sub>50</sub> и МПК<sub>90</sub> экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *A. baumannii*

Антибиотик	МПК <sub>50</sub> , мкг/мл	МПК <sub>90</sub> , мкг/мл
Меропенем	128	256
Тигециклин	0,5	1
Колистин	0,5	2
Сульбактам	32	128

### Заключение

Показано, что экстремальная антибиотикорезистентность *A. baumannii* и *K. pneumoniae* ассоциирована с продукцией карбапенемаз — ферментов, способных эффективно гидролизовать большинство β-лактамных антибиотиков, включая карбапенемы. Штаммы *A. baumannii* и *K. pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы, отличались высокими значениями МПК карбапенемов, многократно превышающими пороговые ФК/ФД концентрации.

Продукция карбапенемаз (метало-β-лактамазы VIM) была выявлена только у 11 % экстремально-антибиотикорезистентных изолятов *P. aeruginosa*. Таким образом, устойчивость к карбапенемам большинства экстремально-резистентных *P. aeruginosa* не связана с ферментативной инактивацией антибиотика, а вызвана другими механизмами (например, нарушением проницаемости клеточной стенки или активным выведением антибиотика из периплазмы).

### ЛИТЕРАТУРА

1. Тапальский, Д. В. Карбапенемазы грамотрицательных бактерий: распространение и методы детекции / Д. В. Тапальский, В. А. Осипов, С. В. Жаворонок // Медицинский журнал. — 2012. — № 2. — С. 10–15.
2. Woodford, N. Multiresistant Gram-negative bacteria: the role of high-risk clones in the dissemination of antibiotic resistance / N. Woodford, J. F. Turton, D. M. Livermore // FEMS Microbiology Reviews. — 2011. — Vol. 35. — P. 736–755.
3. Штаммы энтеробактерий, продуцирующие β-лактамазы расширенного спектра и металло-β-лактамазу NDM-1, выделенные в стационарах в странах балтийского региона / С. А. Егорова [и др.] // Инфекция и иммунитет. — 2013. — Т. 3, № 1. — С. 29–36.

УДК 615.33

## МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ТЕСТИРОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К КОМБИНАЦИЯМ АНТИБИОТИКОВ ЭКСТРЕМАЛЬНО-АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНЫХ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАКТЕРИАЛЬНЫХ ИНФЕКЦИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ В ГОМЕЛЬСКОЙ ОБЛАСТИ

Тапальский Д. В.<sup>1</sup>, Лагун Л. В.<sup>1</sup>, Бонда Н. А.<sup>2</sup>, Козлова А. И.<sup>1</sup>, Осипов В. А.<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Учреждение образования

«Гомельский государственный медицинский университет»,

<sup>2</sup>Государственное учреждение

«Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья»

г. Гомель, Республика Беларусь

### Введение

В многочисленных исследованиях установлено, что для подбора эффективных комбинаций антибиотиков целесообразно проводить микробиологическое тестирование бактериальных изолятов, выделенных от конкретного пациента [1–3]. В Беларуси и странах СНГ тестирование эффективности комбинаций антибиотиков не проводится, что связано с отсутствием доступных методик и подготовленных кадров. С исследовательской целью для определения антимикробного эффекта комбинаций антибиотиков в мире используются различные мето-