

DOI: 10.17650/1818-8346-2021-16-1-54-63



Антибиотикорезистентность *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из гемокультуры от больных с опухолями системы крови, в разные периоды исследования

А.В. Фёдорова¹, Г.А. Клясова¹, И.Н. Фролова¹, С.А. Хрульнова¹, А.В. Ветехина², Т.С. Капорская², И.В. Молчанова³, Российская группа исследователей по изучению инфекций кровотока у больных с заболеваниями системы крови

¹ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России; Россия, 125167 Москва, Новый Зыковский проезд, 4;

²ГБУЗ Иркутская ордена «Знак почета» областная клиническая больница; Россия, 664049 Иркутск, микрорайон Юбилейный, 100;

³ГБУЗ «Челябинская областная клиническая больница»; Россия, 454048 Челябинск, ул. Воровского, 70

Контакты: Анастасия Владимировна Фёдорова mirnas19@yandex.ru

Цель исследования – изучить антибиотикорезистентность *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из гемокультуры от больных с опухолями системы крови, в разные периоды исследования.

Материалы и методы. Чувствительность к антибактериальным препаратам у изолятов *Enterococcus* spp., выделенных в рамках проспективного многоцентрового исследования, была изучена методом серийных микроразведений в бульоне (Институт клинических и лабораторных стандартов США (CLSI), 2018), к даптомицину – методом градиентной диффузии (bioMérieux, Франция). Скрининг для выявления высокого уровня устойчивости к аминогликозидам проводили на агаре Мюллера–Хинтона (Oxoid, Великобритания).

Результаты. Изучена чувствительность 366 *E. faecium* (157 штаммов в 2002–2009 гг. и 209 штаммов в 2010–2017 гг.) и 86 *E. faecalis* (44 штамма в 2002–2009 гг. и 42 штамма в 2010–2017 гг.). Во 2-й период исследования (2010–2017 гг.) среди *E. faecium* увеличилась доля штаммов, устойчивых к ванкомицину, – с 8,3 до 23,4 % ($p = 0,0001$), выделены 2 линезолид-устойчивых штамма. Все ванкомицин-устойчивые и линезолид-устойчивые *E. faecium* сохраняли чувствительность к даптомицину и тигециклину. В анализируемые периоды практически с одинаковой частотой были детектированы чувствительные штаммы *E. faecium* к тетрациклину (73,9 и 74,6 % соответственно) и отмечено некоторое увеличение чувствительных штаммов к хлорамфениколу (74,5 и 82,3 %). Доля *E. faecium*, чувствительных к высоким дозам аминогликозида, статистически значимо возросла в 2010–2017 гг. по сравнению с 2002–2009 гг. Минимальное число чувствительных *E. faecium* (менее 5 %) было определено к эритромицину, левофлоксацину, ампициллину, пенициллину.

Все штаммы *E. faecalis* были чувствительны к тигециклину, линезолиду и тейкопланину, выявлен только 1 штамм, умеренно резистентный к ванкомицину. У *E. faecalis* осталась неизменной высокая чувствительность к ампициллину (97,7 и 97,6 % соответственно). Во 2-й период исследования доля *E. faecalis*, чувствительных к пенициллину, статистически значимо снизилась с 97,7 до 76,2 %, к левофлоксацину – с 59,1 до 31,0 %, к высоким дозам стрептомицина – с 52,3 до 31,0 % и гентамицина – с 47,7 до 26,2 %; к хлорамфениколу – осталась неизменной (52,3 и 50,0 % соответственно); к эритромицину и тетрациклину – была минимальной, особенно во 2-й период исследования (19,0 и 14,3 % соответственно).

Заключение. Результаты исследования продемонстрировали более высокие показатели антибиотикорезистентности среди *E. faecium*, которые заключались в увеличении доли ванкомицин-резистентных *E. faecium* и появлении линезолид-резистентных штаммов. У штаммов *E. faecalis* осталась неизменной высокая чувствительность к ампициллину, но было отмечено увеличение резистентности к пенициллину и аминогликозидам.

Ключевые слова: инфекция кровотока, гемобластоз, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, антибиотикорезистентность, ванкомицин-устойчивые энтерококки

Для цитирования: Фёдорова А.В., Клясова Г.А., Фролова И.Н. и др. Антибиотикорезистентность *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из гемокультуры от больных с опухолями системы крови, в разные периоды исследования. Онкогематология 2021;16(1):54–63.

Antimicrobial resistance of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*, isolated from blood culture of patients with hematological malignancies during different study periods

A.V. Fedorova¹, G.A. Klyasova¹, I.N. Frolova¹, S.A. Khrulnova¹, A.V. Vetokhina², T.S. Kaporskaya², I.V. Molchanova³, on behalf of Russian Group for bloodstream infection in hematology

¹National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia; 4 Novyy Zykovskiy Proezd, Moscow 125167, Russia;

²Irkutsk Regional Clinical Hospital, winner of the “Mark of the Honor” award; 100 Yubileynyy Mikrorayon, Irkutsk 664003, Russia;

³Chelyabinsk Regional Clinical Hospital; 70 Vorovskogo St., Chelyabinsk 454048, Russia

Contacts: Anastasiya Vladimirovna Fedorova mirnas19@yandex.ru

Objective: to determine antimicrobial resistance of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis* isolated from blood culture of hematological patients during different study periods.

Materials and methods. Antimicrobial susceptibility of *Enterococcus* spp., collected as part of the multicenter study was tested by the broth microdilution method (USA Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI), 2018), to daptomycin by Etest (bioMérieux, France). High-level gentamicin resistance (HLGR) and high-level streptomycin resistance (HLSR) was performed by the agar dilution method (CLSI (Oxoid, UK), 2018).

Results. The susceptibility of 366 *E. faecium* (157 in 2002–2009 and 209 in 2010–2017) and 86 *E. faecalis* (44 in 2002–2009 and 42 in 2010–2017) was studied. In the second study period (2010–2017) the rise of vancomycin-resistant *E. faecium* (VREF) increased from 8.3 % to 23.4 % ($p = 0.0001$), and two linezolid-resistant (LREF) were identified. All VREF and LREF remained susceptible to daptomycin and tigecycline. The rate of susceptible to tetracycline *E. faecium* remained the same (73.9 and 74.6 %), and an increase in susceptibility to chloramphenicol (74.5 and 82.3 %) was observed. Susceptibility of *E. faecium* to tetracycline was detected with almost the same rate and in a part of isolates, the increase of susceptibility to chloramphenicol was registered during the analyzed periods. The rise of *E. faecium* susceptible to HLGR and HLSR has increased significantly in 2010–2017 compared to 2002–2009. Erythromycin, levofloxacin, ampicillin and penicillin had the least activity against *E. faecium* (less than 5 %).

All *E. faecalis* were susceptible to tigecycline, linezolid, and teicoplanin. Only one of *E. faecalis* had intermediate resistance to vancomycin. High susceptibility to ampicillin in *E. faecalis* remained unchanged (97.7 and 97.6 %, respectively). In the second period of the study the rise of susceptible *E. faecalis* decreased significantly to penicillin (from 97.7 % to 76.2 %), to levofloxacin (from 59.1 % to 31 %), to HLSR (from 52.3 % до 31 %), and to HLGR (from 47.7 % to 26.2 %), remained unchanged to chloramphenicol (52.3 % and 50 %) and was minimal to erythromycin and tetracycline.

Conclusion. The study demonstrated higher rates of antibiotic resistance among *E. faecium*, which consisted of an increase in VREF and the appearance of linezolid-resistant strains. High susceptibility to ampicillin remained in *E. faecalis*, but there was an increase in resistance to penicillin and aminoglycosides.

Key words: bloodstream infection, hemoblastosis, *Enterococcus faecium*, *Enterococcus faecalis*, resistance to antibiotics, vancomycin-resistant *Enterococcus* spp.

For citation: Fedorova A.V., Klyasova G.A., Frolova I.N. et al. Antimicrobial resistance of *Enterococcus faecium* and *Enterococcus faecalis*, isolated from blood culture in patients with hematological malignancies during different periods of the study. *Onkogematologiya = Oncohematology* 2021;16(1):54–63. (In Russ.).

Введение

Энтерококки занимают одну из лидирующих позиций среди возбудителей инфекций кровотока у больных с опухолями системы крови. По данным литературы, частота детекции *Enterococcus* spp. из гемокультуры варьирует от 6 до 16 % в клиниках разных стран [1, 2], а у реципиентов гемопоэтических стволовых клеток достигает 38 % в отдельных исследованиях [3, 4]. В России у больных с опухолями системы крови среди всех возбудителей инфекций кровотока доля *Enterococcus* spp., выделенных в рамках многоцентровых исследований в 2003–2005 и 2003–2008 гг., составила 10,5 и 10,3 % соответственно. В этиологической структуре *Enterococcus faecium* преобладали над *Enterococcus faecalis* и составляли 78 % против 20 % [5, 6]. *Enterococcus* spp. занимали 3-е место среди микроорганизмов, выделенных из гемокультуры, после *Escherichia coli* (18,5 и 17,8 % соответственно) и коагулазонегативного стафилококка (18,4 и 17,4 % соответственно) [5–7].

Чувствительность к антибиотикам у разных видов *Enterococcus* spp. различается. Штаммы *E. faecium* в сравнении с *E. faecalis* проявляют более высокие показатели антибиотикорезистентности к большинству антимикробных препаратов. В последнее время наблюдается увеличение доли нечувствительных к ванкомицину *Enterococcus* spp.

Цель исследования – изучение антибиотикорезистентности *E. faecium* и *E. faecalis*, выделенных из гемокультуры от больных с опухолями системы крови, в разные периоды исследования.

Материалы и методы

Источники бактериальных изолятов. В исследование были включены клинические штаммы *E. faecium* и *E. faecalis*, выделенные из гемокультуры от больных с опухолями системы крови и симптомами инфекции, находившихся на лечении в гематологических отделениях 10 лечебных учреждений 8 городов (Москва,

Новосибирск, Иркутск, Челябинск, Барнаул, Самара, Сургут, Ростов-на-Дону) в рамках проспективного многоцентрового исследования. Выделение и первичную идентификацию *Enterococcus* spp. проводили в локальных микробиологических лабораториях. Окончательную видовую идентификацию микроорганизмов и определение их чувствительности к антимикробным препаратам выполняли в лаборатории клинической бактериологии, микологии и антибиотической терапии НМИЦ гематологии.

Видовая идентификация и хранение изолятов. В НМИЦ гематологии идентификацию *Enterococcus* spp. до вида с 2002 по 2011 г. проводили на идентификационной системе BBL Crystal Gram-positive ID Kit (Becton Dickinson, США), с 2012 по 2017 г. – методом матричной лазерной десорбционной ионизационной времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) на анализаторе Microflex LT (Bruker Daltonics, Германия). Для идентификации полученных изолятов до вида брали изолированные колонии бактерий. Ионизацию бактериальных белков осуществляли с помощью специального реагента – матрицы (α -циано-4-гидроксикоричная кислота и раствор, содержащий 50 % ацетонитрила и 2,5 % трифторуксусной кислоты). Идентификацию проводили в автоматическом режиме с использованием программы MALDI Biotyper Real Time Classification, версия 3.1 (Bruker Daltonics, Германия). В качестве критерия надежной видовой идентификации использовали рекомендуемые значения коэффициента совпадения (Score) от 2,0 и выше. Изоляты хранили при температуре -70°C в триптиказо-соевом бульоне (Oxoid, Великобритания) с добавлением 20 % глицерина (Sigma-Aldrich, США).

Определение чувствительности к антимикробным препаратам. Чувствительность *Enterococcus* spp. ко всем антимикробным препаратам, кроме аминогликозидов и даптомицина, определяли методом серийных микро-разведений в бульоне Мюллера–Хинтон (Oxoid, Великобритания) с использованием 96-луночных планшетов в соответствии с рекомендациями Института клинических и лабораторных стандартов США (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) [8]. Скрининг для выявления высокого уровня устойчивости к аминогликозидам проводили на агаре Мюллера–Хинтон (Oxoid, Великобритания), содержащем гентамицин 500 мкг/мл и стрептомицин 2000 мкг/мл (CLSI, 2018). Чувствительность ванкомицин-устойчивых *Enterococcus* spp. к даптомицину исследовали методом градиентной диффузии (E-тест, bioMérieux, Франция). Интерпретацию результатов определения чувствительности *Enterococcus* spp. к ванкомицину, линезолиду, даптомицину, левофлоксацину, тетрациклину, хлорамфениколу, ампициллину, пенициллину и эритромицину проводили на основании пограничных значений минимальных подавляющих концентраций (МПК) в соответствии с критериями CLSI (2018), к тигециклину – согласно критериям Европейского комитета по определению

чувствительности к антимикробным препаратам (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST), version 8.1, 2018). Критерии интерпретации результатов определения чувствительности *Enterococcus* spp. к антимикробным препаратам представлены в табл. 1 [8, 9].

Таблица 1. Критерии интерпретации определения чувствительности *Enterococcus* spp. к антимикробным препаратам [8, 9]

Table 1. Interpretive criteria of antimicrobial susceptibility test for *Enterococcus* spp. [8, 9]

Антимикробный препарат Antimicrobial agent	Значения минимальных подавляющих концентраций, мкг/мл Minimum inhibitory concentrations, $\mu\text{g/ml}$		
	Чувствительные Susceptible	Умеренно резистентные Intermediate	Резистентные Resistant
Даптомицин Daptomycin	≤ 4	–	–
Тигециклин* Tigecycline*	$\leq 0,25$	–	$> 0,5$
Линезолид Linezolid	≤ 2	4	≥ 8
Тейкопланин Teicoplanin	≤ 8	16	≥ 32
Ванкомицин Vancomycin	≤ 4	8–16	≥ 32
Хлорамфеникол Chloramphenicol	≤ 8	16	≥ 32
Тетрациклин Tetracycline	≤ 4	8	≥ 16
Стрептомицин Streptomycin	≤ 2000	–	> 2000
Гентамицин Gentamicin	≤ 500	–	> 500
Эритромицин Erythromycin	$\leq 0,5$	1–4	≥ 8
Левифлоксацин Levofloxacin	≤ 2	4	≥ 8
Ампициллин Ampicillin	≤ 8	–	≥ 16
Пенициллин Penicillin	≤ 8	–	≥ 16

*Критерии Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST), 2018.

*European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) criteria, 2018.

При интерпретации результатов чувствительности *Enterococcus* spp. использовали следующие показатели: чувствительные, умеренно резистентные, резистентные, МПК – минимальная концентрация антибиотика, способная подавить видимый рост микроорганизма

in vitro, МПК₉₀ (МПК антибиотика для 90 % исследованных штаммов). Для внутреннего контроля качества определения чувствительности использовали референтные штаммы *E. faecalis* ATCC® 29212 и *E. faecalis* ATCC® 51299.

Статистическую обработку и анализ данных проводили с помощью программы WHONET, версия 5.6. Для сравнения признаков применяли двусторонний точный критерий Фишера.

Результаты

Чувствительность *E. faecium* к антимикробным препаратам. Всего было исследовано 366 *E. faecium*, из них 157 штаммов были выделены в 2002–2009 гг. и 209 штаммов – в 2010–2017 гг. Результаты оценки чувствительности представлены в табл. 2 и на рис. 1. При сравнении 2 периодов исследования доля ванкомицин-резистентных *E. faecium* (VREF) статистически значимо увеличилась с 8,3 % (2002–2009 гг.) до 23,4 % (2010–2017 гг.)

($p = 0,0001$), а значения МПК₉₀ ванкомицина возросли с 2 до 1024 мкг/мл. Доля резистентных к тейкопланину *E. faecium* возросла в меньшей степени (с 7,6 до 12,9 %; $p = 0,12$), значения МПК₉₀ увеличились с 0,5 до 64 мкг/мл.

Все VREF были чувствительными к даптомицину, значения МПК₉₀ были идентичными в исследуемые периоды и составили 3 мкг/мл. Доля VREF, имевших МПК даптомицина от 3 до 4 мкг/мл, также была сопоставимой и определена для 2 (15,4 %) из 13 VREF в 2002–2009 гг. и для 5 (10,2 %) из 49 VREF в 2010–2017 гг.

К тигециклину все *E. faecium* были чувствительны в оба периода исследования. В более поздний период наблюдалось увеличение МПК₉₀ до 0,125 мкг/мл в сравнении с МПК₉₀ 0,064 мкг/мл, регистрируемое в 2002–2009 гг.

Линезолид сохранял высокую активность среди исследуемых *E. faecium*. В 1-й анализируемый период исследования к линезолиду были чувствительны все

Таблица 2. Чувствительность *Enterococcus faecium* к антимикробным препаратам в разные периоды исследования

Table 2. The susceptibility of *Enterococcus faecium* to antimicrobial agents during different study periods

Антимикробный препарат Antimicrobial agent	Чувствительность <i>E. faecium</i> к антимикробным препаратам, n (%) Antimicrobial susceptibility of <i>E. faecium</i> , n (%)						p
	2002–2009 (n = 157)			2010–2017 (n = 209)			
	Чувствительные Susceptible	Умеренно резистентные Intermediate	Резистентные Resistant	Чувствительные Susceptible	Умеренно резистентные Intermediate	Резистентные Resistant	
Тигециклин Tigecycline	157 (100)	0	0	209 (100)	0	0	1,0
Линезолид Linezolid	157 (100)	0	0	207 (99)	0	2 (1)	0,51
Тейкопланин Teicoplanin	145 (92,4)	0	12 (7,6)	182 (87,1)	0	27 (12,9)	0,12
Ванкомицин Vancomycin	144 (91,7)*	0	13 (8,3)	160 (76,6)*	0	49 (23,4)	0,0001
Хлорамфеникол Chloramphenicol	117 (74,5)	23 (14,7)	17 (10,8)	172 (82,3)	28 (13,4)	9 (4,3)	0,09
Тетрациклин Tetracycline	116 (73,9)	3 (1,9)	38 (24,2)	156 (74,6)	2 (1)	51 (24,4)	0,9
Стрептомицин Streptomycin	42 (26,8)*	–	115 (73,2)	111 (53,1)*	–	98 (46,9)	<0,0001
Гентамицин Gentamicin	11 (7)*	–	143 (93)	48 (23)*	–	161 (77)	<0,0001
Эритромицин Erythromycin	8 (5,1)	11 (7,0)	138 (87,9)	12 (5,7)	19 (9,1)	178 (85,2)	0,82
Левифлоксацин Levofloxacin	8 (5,1)	1 (0,6)	148 (94,3)	8 (3,8)	1 (0,5)	200 (95,7)	0,61
Ампициллин Ampicillin	0	0	157 (100)	5 (2,4)	0	204 (97,6)	0,07
Пенициллин Penicillin	0	0	157 (100)	4 (1,9)	0	205 (98,1)	0,14

* $p < 0,05$.

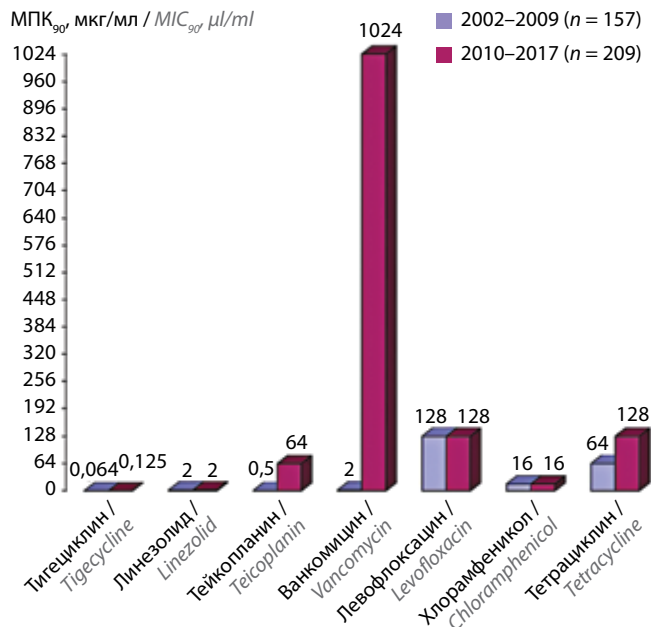


Рис. 1. Распределение значений МПК₉₀ *Enterococcus faecium* (n = 366) в разные периоды исследования. Здесь и на рис. 2: МПК – минимальная подавляющая концентрация; МПК₉₀ – МПК антибиотика для 90 % исследованных штаммов

Fig. 1. Distribution of *Enterococcus faecium* (n = 366) MIC₉₀ values during different study periods. Here and in fig. 2: MIC – minimum inhibitory concentrations; MIC₉₀ – antimicrobial agent MIC for 90 % of the studied strains

штаммы, но во 2-й период было выявлено 2 (1 %) устойчивых *E. faecium*.

В анализируемые периоды было отмечено некоторое увеличение чувствительных штаммов к хлорамфениколу с 74,5 % (2002–2009 гг.) до 82,3 % (2010–2017 гг.) при сохранении прежних показателей МПК₉₀. Доля чувствительных штаммов *E. faecium* к тетрациклину осталась неизменной (73,9 и 74,6 % соответственно), в то время как значения МПК возросли в 2 раза (с 64 до 128 мкг/мл).

Число штаммов *E. faecium*, чувствительных к высоким дозам аминогликозидов, было невелико, но в более поздний анализируемый период наблюдалось статистически значимое их увеличение. Чувствительность к высоким дозам стрептомицина увеличилась с 26,8 до 53,1 % ($p < 0,0001$), к высоким дозам гентамицина – с 7 до 23 % ($p < 0,0001$).

Наиболее низкие показатели чувствительности у *E. faecium* были определены к пенициллину, ампициллину, левофлоксацину и эритромицину. В течение 2 периодов исследования было выделено менее 6 % чувствительных штаммов, а к пенициллинам все *E. faecium*, выделенные в 2002–2009 гг., были устойчивыми.

Чувствительность *E. faecalis* к антимикробным препаратам. Всего было исследовано 86 *E. faecalis* (44 изолята в 2002–2009 гг. и 42 изолята в 2010–2017 гг.). Результаты оценки чувствительности *E. faecalis* и значения МПК₉₀ представлены в табл. 3 и на рис. 2. Все исследуемые *E. faecalis* были чувствительны к тигециклину, линезолиду и тейкопланину. Значения МПК₉₀ линезо-

лида были идентичными в анализируемые периоды (2 мкг/мл). В более поздний период исследования выявлено некоторое повышение МПК₉₀ тигециклина (с 0,064 до 0,125 мкг/мл) и тейкопланина (с 0,125 до 0,5 мкг/мл).

Ванкомицин проявлял высокую активность *in vitro* в отношении *E. faecalis*. За весь период исследования был выделен только 1 умеренно резистентный к ванкомицину штамм (МПК 16 мкг/мл) в 2009 г.

Штаммы *E. faecalis*, в отличие от *E. faecium*, были чувствительными к ампициллину, и этот показатель остался неизменным в исследуемые периоды (97,7 и 97,6 % соответственно), в то время как к пенициллину статистически значимо снизился с 97,7 до 76,2 % ($p = 0,003$) одновременно с увеличением МПК₉₀ с 4 до 64 мкг/мл.

Доля *E. faecalis*, чувствительных к хлорамфениколу, осталась неизменной (52,3 и 50,0 % соответственно), как и значения МПК₉₀, а к левофлоксацину статистически значимо снизилась с 59,1 до 31,0 % ($p = 0,01$) одновременно с увеличением МПК₉₀ с 64 до 128 мкг/мл.

Число штаммов *E. faecalis*, чувствительных к тетрациклину, было меньше по сравнению с *E. faecium*. В анализируемые периоды этот показатель стал несколько меньше и составил 20,5 % против 14,3 %.

Среди *E. faecalis*, в отличие от *E. faecium*, было выявлено снижение детекции чувствительных штаммов к высоким дозам аминогликозидов, как к гентамицину (с 47,7 до 26,2 %; $p = 0,046$), так и к стрептомицину (с 52,3 до 31,0 %; $p = 0,052$). Наиболее низкие параметры чувствительности среди *E. faecalis* были определены

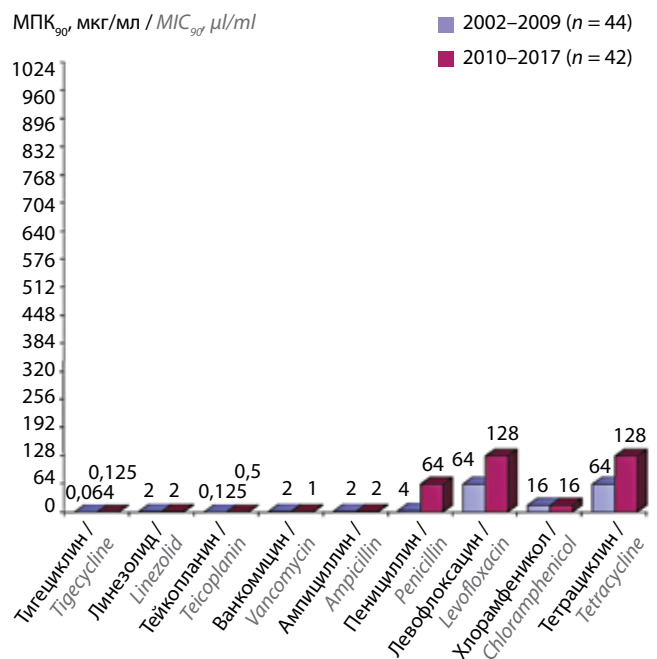


Рис. 2. Распределение значений МПК₉₀ *Enterococcus faecalis* (n = 86) в разные периоды исследования

Fig. 2. Distribution of *Enterococcus faecalis* (n = 86) MIC₉₀ values during different study periods

Таблица 3. Чувствительность *Enterococcus faecalis* к антимикробным препаратам в разные периоды исследованияTable 3. The susceptibility of *Enterococcus faecalis* to antimicrobial agents during different study periods

Антимикробный препарат Antimicrobial agent	Чувствительность <i>E. faecalis</i> к антимикробным препаратам, n (%) Antimicrobial susceptibility of <i>E. faecalis</i> , n (%)						p
	2002–2009 (n = 44)			2010–2017 (n = 42)			
	Чувствительные Susceptible	Умеренно резистентные Intermediate	Резистентные Resistant	Чувствительные Susceptible	Умеренно резистентные Intermediate	Резистентные Resistant	
Тигециклин Tigecycline	44 (100)	0	0	42 (100)	0	0	1,0
Линезолид Linezolid	44 (100)	0	0	42 (100)	0	0	1,0
Тейкопланин Teicoplanin	44 (100)	0	0	42 (100)	0	0	1,0
Ванкомицин Vancomycin	43 (97,7)	1 (2,3)	0	42 (100)	0	0	1,0
Ампициллин Ampicillin	43 (97,7)	1 (2,3)	0	41 (97,6)	0	1 (2,4)	1,0
Пенициллин Penicillin	43 (97,7)*	0	1 (2,3)	32 (76,2)*	0	10 (23,8)	0,003
Левифлоксацин Levofloxacin	26 (59,1)*	0	18 (40,9)	13 (31,0)*	0	29 (69,0)	0,01
Хлорамфеникол Хлорамфеникол	23 (52,3)	1 (2,3)	20 (45,4)	21 (50,0)	0	21 (50,0)	1,0
Стрептомицин Streptomycin	23 (52,3)*	–	21 (47,7)	13 (31,0)*	–	29 (69,0)	0,05
Гентамицин Gentamicin	21 (47,7)*	–	23 (52,3)	11 (26,2)*	–	31 (73,8)	0,046
Эритромицин Erythromycin	12 (27,3)	3 (6,8)	29 (65,9)	8 (19,0)	3 (7,2)	31 (73,8)	0,45
Тетрациклин Tetracycline	9 (20,5)	1 (2,3)	34 (77,2)	6 (14,3)	2 (4,7)	34 (81,0)	0,57

*p < 0,05.

к тетрациклину и эритромицину в оба периода исследования.

Обсуждение

За последние десятилетия наблюдается увеличение устойчивости *Enterococcus* spp., как и большинства других микроорганизмов, к противомикробным препаратам. Особую тревогу вызывает резистентность к ванкомицину и антибиотикам последующих поколений. В США доля VREF, выделенных из гемокультур, увеличивалась с 0,3 % (1989 г.) до 83,0 % (2013 г.) [10, 11]. По данным Европейской сети по надзору над резистентностью к антимикробным препаратам (European Antimicrobial Resistance Surveillance Network, EARS-Net), частота инфекций кровотока, вызванных VREF, в среднем увеличилась с 5,6 % (2010 г.) до 14,9 % (2017 г.) [12, 13]. Частота детекции VREF из гемокультуры была неоднородной в разных странах Европы. Наиболее значительное увеличение доли VREF было зарегистрировано в таких странах, как Румыния (с 0 до 34,4 %), Польша (с 7,8 до 31,5 %), Венгрия (с 1,9 до

28,3 %) и Англия (с 10,4 до 25,8 %). При этом в Финляндии, Нидерландах, Испании, Франции и Словении резистентность к ванкомицину среди *E. faecium* была низкой, составила менее 2 %, не изменилась при сравнении 2010 и 2017 гг. В Австралии устойчивость к ванкомицину *E. faecium*, выделенных из крови, возросла с 10,4 % (2014 г.) до 14,9 % (2017 г.).

В России распространение VREF сильно варьирует в зависимости от профиля и диагностических возможностей стационара [14]. В ранее опубликованном нами многоцентровом исследовании частота детекции VREF, выделенных из гемокультуры больных с опухолями системы крови в период с 2002 по 2016 г., составила 15 % (2002–2016 гг.) [15]. В настоящей работе при исследовании чувствительности к антибиотикам в разные временные периоды отмечено достоверное увеличение доли VREF, выделенных из гемокультуры иммунокомпрометированных больных при инфекциях кровотока, с 8,3 % (2002–2009 гг.) до 23,4 % (2010–2017 гг.) (p = 0,0001). В НИИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина частота детекции VREF при инфекциях у онкологических

больных в течение 3 лет (с 2014 по 2016 г.) существенно не увеличилась и варьировала от 4,8 до 7,7 % [16]. Доля VREF, выделенных из гемокультуры от больных гемобластозами в областной больнице г. Иркутска в течение 3 лет, также не изменилась, составила 13,2–13,6 % (2013–2015 гг.) [17]. У больных хирургического профиля, находящихся на стационарном лечении в Национальном медико-хирургическом центре им. Н.И. Пирогова (г. Москва), частота детекции VREF при инфекциях кровотока уменьшилась с 3 % (январь 2011 г. – июнь 2013 г.) до полного отсутствия в последующий анализируемый период (июль 2013 г. – декабрь 2015 г.) ($p = 0,0008$) [18]. В клинике трансплантации костного мозга Санкт-Петербурга в 2014 г. ванкомицин-резистентные *Enterococcus* spp. из гемокультуры не были выявлены [19].

Среди *E. faecalis* за 16 лет исследования (2002–2017 гг.) был детектирован только 1 (2,3 %) изолят, который проявлял умеренную резистентность к ванкомицину (МПК 16 мкг/мл) и был охарактеризован нами ранее [15]. Устойчивость к ванкомицину у других видов энтерококков, исключая *E. faecium*, регистрируется в мире достаточно редко. Согласно последним данным международной программы эпидемиологического надзора над антибиотикорезистентностью (SENTRY, 2019) резистентность к ванкомицину у *E. faecalis* в мире не увеличилась и составила в среднем 2,5 %, из них в США – 3,4 %, в Латинской Америке – 3,2 %, в Европе – 1,4 %, в Азии – 0,5 % [20].

К линезолиду в 1-й период исследования (2002–2009 гг.) все *E. faecium* были чувствительны, во 2-й период (2010–2017 гг.) выявлено 2 устойчивых штамма, чувствительность составила 99 %. В настоящее время резистентность к линезолиду у *Enterococcus* spp. регистрируется редко. Так, при сравнении 2 периодов исследования (1997–2000 и 2013–2016 гг.) доля чувствительных штаммов к линезолиду среди *Enterococcus* spp., выделенных из гемокультуры, не изменилась, и составила в США 96,6 и 99,4 %, в Европе – 98,8 и 99,7 %, в Латинской Америке – 95,7 и 99,6 %, в Азиатско-Тихоокеанском регионе – 97,0 и 99,5 % соответственно [20].

К даптомицину в нашем исследовании все VREF были чувствительны. В мире резистентность к даптомицину у *Enterococcus* spp. крайне низкая. По данным многоцентрового исследования SENTRY (1997–2016 гг.), она составляла в США 0,4 %, в Азиатско-Тихоокеанском регионе – 0,3 %, а в Европе и Латинской Америке даптомицин-резистентные VREF не были выявлены [20]. Однако в отдельных работах сообщается о возрастании устойчивости к даптомицину. Так, в университетской клинике Нью-Йорка у больных с инфекцией кровотока, вызванной VREF, было зарегистрировано значительное увеличение резистентности к даптомицину с 3,4 % (2007 г.) до 15,2 % (2009 г.) [21].

Все *E. faecalis* и *E. faecium* были чувствительны к тигециклину. Тигециклин в нашем исследовании проявлял наибольшую активность среди всех тестируемых

антибиотиков в отношении как *E. faecium* (МПК₉₀ 0,06 мкг/мл), так и *E. faecalis* (МПК₉₀ 0,12 мкг/мл). Аналогичные результаты были получены в других работах. В исследовании Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (TEST), проведенном в 2004–2016 гг. в 33 клиниках Франции, активность тигециклина среди *E. faecium* и *E. faecalis* была одинаковой, значения МПК₉₀ варьировали от 0,125 до 0,25 мкг/мл. В этом исследовании не было выявлено различий в значениях МПК₉₀ тигециклина как для ванкомицин-чувствительных, так и для ванкомицин-устойчивых *Enterococcus* spp. [22]. В других странах также отмечен высокий уровень чувствительности *Enterococcus* spp. к тигециклину (99,7 %) без тенденции к увеличению резистентности [23]. В Польше, Норвегии и Дании, как и в нашем исследовании, не было выделено тигециклин-резистентных *Enterococcus* spp., в большинстве других стран – единичные случаи. В то же время учеными Германии с 2007 по 2015 г. было выделено 73 штамма *E. faecalis* и *E. faecium*, устойчивых к тигециклину [24].

Штаммы энтерококков имеют межвидовые различия в параметрах чувствительности к препаратам пенициллинового ряда. Резистентность к ампициллину в нашем исследовании среди *E. faecalis* была невысокой и осталась неизменной в анализируемые периоды (2,3–2,4 %), в то время как практически все штаммы *E. faecium* были устойчивы к этому препарату. Согласно международным исследованиям устойчивость у *E. faecalis* к аминопенициллинам регистрируется редко и в большинстве стран не превышает 5 % [25], поэтому ампициллин остается препаратом выбора в лечении инфекций, вызванных *E. faecalis*. В то же время в сообщениях из отдельных стран появляется информация об увеличении процента устойчивых штаммов [25]. Так, в Англии доля *E. faecalis*, нечувствительных к аминопенициллинам, увеличилась с 5,7 до 14,1 %, в Латвии – с 5,3 до 16,0 %, в Литве – с 12,5 до 16,3 % при сравнении данных за 2010 и 2016 гг. [25]. Необходимо отметить, что при сохранении чувствительности к ампициллину нами выявлено статистически значимое увеличение резистентности к пенициллину у *E. faecalis* с 2,3 % (2002–2009 гг.) до 23,8 % (2010–2017 гг.) ($p = 0,006$). Сообщения о сохранении доли штаммов, чувствительных к ампициллину, но резистентных к пенициллину, среди *E. faecalis* были представлены и в других странах, таких как Греция, Дания и Бразилия. Так, в проспективном многоцентровом исследовании, проведенном в течение 2 лет (2016–2018 гг.) в 6 клиниках Южной Кореи, доля ампициллин-чувствительных, но пенициллин-резистентных изолятов составила 22,7 % ($n = 67$) при изучении 295 *E. faecalis*, выделенных из гемокультур [26]. Все *E. faecium*, выделенные в нашем исследовании в 2002–2009 гг., были устойчивы к ампициллину и пенициллину, а в 2010–2017 гг. только соответственно 2,4 и 1,9 % штаммов были чувствительны. Изоляты *E. faecium*, в отличие от *E. faecalis*, имеют природный низкий уровень чувствительности к β-лактамам антибиотикам,

связанный с повышенной продукцией пенициллин-связывающего белка, обладающего низкой аффинностью к β -лактамам.

Неодинаковые временные параметры чувствительности к аминогликозидам были определены для *E. faecalis* и *E. faecium*. Во 2-й анализируемый период резистентность среди *E. faecalis* достоверно возросла к гентамицину с 52,3 до 73,8 % ($p = 0,054$) и стрептомицину с 47,7 до 69,0 ($p = 0,39$), а среди *E. faecium* она достоверно снизилась к гентамицину с 93 до 77 % ($p = 0,0002$) и стрептомицину с 72,0 до 46,9 % ($p < 0,0001$). Уровень резистентности к аминогликозидам у *Enterococcus* spp. является неоднородным в разных странах Европы. В одних странах было зарегистрировано увеличение резистентности к аминогликозидам, в других – снижение у обоих видов *Enterococcus* spp. Как и в нашем исследовании, при сравнении данных за 2010 и 2016 гг. доля нечувствительных к гентамицину *E. faecalis* возросла в Словении (с 32,2 до 43,4 %) и на Мальте (с 29,0 до 39,4 %), снизилась среди *E. faecium* в Греции (с 53,2 до 19,0), Германии (с 44,9 до 18,2 %) и Португалии (с 53,3 до 30,9 %) [25].

Заключение

Результаты данного исследования еще раз продемонстрировали, что у *E. faecium* и *E. faecalis* определяется резистентность к разным группам противомикробных

препаратов. Во 2-й период исследования (2010–2017 гг.) среди *E. faecium* увеличилась доля штаммов, устойчивых к ванкомицину, с 8,3 до 23,4 % ($p = 0,0001$), выделены 2 линезолид-устойчивых штамма. Все ванкомицин-устойчивые и линезолид-устойчивые *E. faecium* сохраняли чувствительность к даптомицину и тигециклину. В анализируемые периоды практически с одинаковой частотой были детектированы чувствительные штаммы *E. faecium* к тетрациклину и отмечено некоторое увеличение чувствительных штаммов к хлорамфениколу. Доля *E. faecium*, чувствительных к высоким дозам аминогликозидов, статистически значимо возросла в 2010–2017 гг. по сравнению с 2002–2009 гг. Минимальное число чувствительных *E. faecium* было определено к эритромицину, левофлоксацину, ампициллину, пенициллину.

Активность ряда antimicrobных препаратов была выше для *E. faecalis*. Все штаммы *E. faecalis* были чувствительны к тигециклину, линезолиду и тейкопланину, выявлен только 1 штамм, умеренно резистентный к ванкомицину. У *E. faecalis* осталась неизменной высокая чувствительность к ампициллину. Во 2-й период исследования доля чувствительных *E. faecalis* к пенициллину, левофлоксацину, высоким дозам стрептомицина и гентамицина статистически значимо снизилась, к хлорамфениколу осталась неизменной, к эритромицину и тетрациклину – была минимальной.

ЛИТЕРАТУРА / REFERENCES

- Souhail B., Le Maréchal M., Manuella R. et al. Antibiotic therapy for *Enterococcus bacteraemia*: warning for the antimicrobial stewardship team. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 2019;38(11):2087–9. DOI: 10.1007/s10096-019-03645-5.
- Pinholt M., Ostergaard C., Arpi M. et al. Incidence, clinical characteristics and 30-day mortality of enterococcal bacteraemia in Denmark 2006–2009: a population-based cohort study. Clin Microbiol Infect 2014;20(2):145–7. DOI: 10.1111/1469-0691.12236.
- Mikulska M., Viscoli C., Orasch C. et al. Fourth European Conference on Infections in Leukemia Group (ECIL-4), a joint venture of EBMT, EORTC, ICHS, ELN and ESGICH/ESCMID. Aetiology and resistance in bacteraemias among adult and paediatric haematology and cancer patients. J Infect 2013;68:321–31. DOI: 10.1016/j.jinf.2013.12.006.
- Satlin M.J., Walsh T.J. Multidrug-resistant *Enterobacteriaceae*, *Pseudomonas aeruginosa*, and vancomycin-resistant enterococci: three major threats to hematopoietic stem cell transplant recipients. Transpl Infect Dis 2017;19(6):10.1111/tid.12762. DOI: 10.1111/tid.12762.
- Клясова Г.А. Антимикробная терапия. В кн.: Программное лечение заболеваний системы крови: сборник алгоритмов диагностики и протоколов лечения заболеваний системы крови. Под ред. В.Г. Савченко. М.: Практика, 2012. С. 827–854. [Klyasova G.A. Antimicrobial therapy. In: Program treatment of blood system diseases. Ed.: V.G. Savchenko. Moscow: Praktika, 2012. Pp. 827–854. (In Russ.).]
- Клясова Г.А., Сперанская Л.Л., Миронова А.В. и др. Возбудители сепсиса у иммунокомпрометированных больных: структура и проблемы антибиотико-резистентности (результаты многоцентрового исследования). Гематология и трансфузиология 2007;1:1–8. [Klyasova G.A., Speranskaya L.L., Mironova A.V. et al. The pathogens causing sepsis in immunocompromized patients: structure and problems of antibiotic resistance. Results of a multicenter cooperative study. Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology 2007;1:1–8. (In Russ.).]
- Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Eight Informational Supplement. CLSI document M100. Wayne, P.A.: Clinical and Laboratory Standards Institute, 2018.
- The European Committee in Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 8.1, 2018. Available at: <http://www.eucast.org>.
- Centers for Disease Control. Nosocomial enterococci resistant to vancomycin. United States, 1989–1993. MMWR Morb Mortal Wkly Rep 1993;42:597–1.
- Weiner L.M., Webb A.K., Limbago B. et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with healthcare-associated infections: summary of data reported to the national healthcare safety network at the centers for disease control and prevention, 2011–2014. Infect Control Hosp Epidemiol 2016;37(11):1288–301. DOI: 10.1017/ice.2016.174.
- European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe – Annual report of the European Antimicrobial Resistance

- Surveillance Network (EARS-Net) 2013. Stockholm: ECDC, 2014.
13. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe – Annual report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net) 2017. Stockholm: ECDC, 2018.
 14. Brilliantova A.N., Kliasova G.A., Mironova A.V. et al. Spread of vancomycin-resistant *Enterococcus faecium* in two haematological centres in Russia. Intern J Antimicrob Agents 2010;35(2):177–4. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2009.10.006.
 15. Клясова Г.А., Федорова А.В., Фролова И.Н. и др. Антибиотикорезистентность госпитальных штаммов *Enterococcus* spp., выделенных из гемокультуры больных опухолями системы крови: результаты многоцентрового исследования. Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия 2018;20(2):142–7. [Klyasova G.A., Fedorova A.V., Frolova I.N. et al. Antimicrobial resistance nosocomial *Enterococcus* spp., isolated from blood culture in patients with hematological malignancies. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya = Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy 2018;20(2):142–7. (In Russ.)].
 16. Агинова В.В., Дмитриева Н.В., Григорьевская З.В. и др. Рациональные подходы к терапии нозокомиальных инфекций, вызванных грамположительными микроорганизмами, у онкологических больных. Сибирский онкологический журнал 2017;16(5):12–6. [Aginova V.V., Dmitrieva N.V., Grigorievskaya Z.V. et al. Rational approaches to the therapy of nosocomial infections caused by gram-positive microorganisms in cancer patients. Sibirskiy onkologicheskij zurnal = Siberian Journal of Oncology 2017;16(5):12–6. (In Russ.)]. DOI: 10.21294/1814-4861-2017-16-5-12-17.
 17. Ветохина А.В., Фадеева Т.В., Сараева Н.О. и др. К проблеме антибиотикорезистентности *E. faecium* – возбудителей сепсиса у онкогематологических больных. Гематология и трансфузиология 2016;61(1):34. [Vetokhina A.V., Fadeeva T.V., Saraeva N.O. et al. To the problem of antibiotic resistance of *E. faecium* – pathogens of sepsis in oncohematological patients. Gematologiya i transfuziologiya = Hematology and Transfusiology 2016;61(1):34. (In Russ.)].
 18. Гусаров В.Г., Карпов О.Э., Деметиенко М.В. и др. Изменение этиологической структуры и клинических исходов бактериемий у хирургических больных как результат мониторинга и управления антибиотикорезистентностью в многопрофильном стационаре. Медицинский вестник Юга России 2017; (1):51–9. [Gusarov V.G., Karpov O.E., Dementienko M.V. et al. Changing etiological structure and clinical outcomes of bacteremia in surgical patients as a result of monitoring and management of antibiotic resistance in multidisciplinary hospital. Meditsinskiy vestnik Uga Rossii = Medical Herald of the South of Russia 2017;(1):51–9. (In Russ.)]. DOI: 10.21886/2219-8075-2017-1-51-59.
 19. Любимова А.В., Ряховских С.А., Шалыпина Н.А. и др. Эпидемиологические особенности бактериальных инфекций в отделении трансплантации костного мозга. Инфекция и иммунитет 2017;7(4):350–8. [Lyubimova A.V., Ryakhovskikh S.A., Shalyapina N.A. et al. Epidemiological features of bacterial infections in bone marrow transplant units. Infektsiya i immunitet = Russian Journal of Infection and Immunity 2017;7(4):350–8. (In Russ.)]. DOI: 10.15789/2220-7619-2017-4-350-358.
 20. Pfäller M.A., Cormican M., Flamm R.K. et al. Temporal and geographic variation in antimicrobial susceptibility and resistance patterns of enterococci: results from the SENTRY antimicrobial surveillance program, 1997–2016. Open Forum Infect Dis 2019;6(Suppl 1):S54–62. DOI: 10.1093/ofid/ofy344.
 21. Kamboj M., Cohen N., Gilhuley K. et al. Emergence of daptomycin-resistant VRE: experience of a single institution. Infect Control Hosp Epidemiol 2011;32(4):391–4. DOI: 10.1086/659152.
 22. Decousser J.W., Woerther P.L., Soussy C.J. et al. The tigecycline evaluation and surveillance trial; assessment of the activity of tigecycline and other selected antibiotics against gram-positive and gram-negative pathogens from France collected between 2004 and 2016. Antimicrob Resist Infect Control 2018;7:68. DOI: 10.1186/s13756-018-0360-y.
 23. Hoban D.J., Reinert R.R., Bouchillon S.K. et al. Global *in vitro* activity of tigecycline and comparator agents: Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial 2004–2013. Ann Clin Microbiol Antimicrob 2015;14:27. DOI: 10.1186/s12941-015-0085-1.
 24. Fiedler S., Bender J.K., Klare I. et al. Tigecycline resistance in clinical isolates of *Enterococcus faecium* is mediated by an upregulation of plasmid-encoded tetracycline determinants *tet(L)* and *tet(M)*. J Antimicrob Chemother 2016;71(4):871–10. DOI: 10.1093/jac/dkv420.
 25. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance Atlas of Infectious Diseases Stockholm: ECDC, 2017. Available at: <https://ecdc.europa.eu/en/surveillance-atlas-infectious-diseases>. Accessed: 21.06.2018.
 26. Kim D., Lee H., Yoon E.J. et al. Prospective observational study of the clinical prognoses of patients with bloodstream infections caused by ampicillin-susceptible but penicillin-resistant *Enterococcus faecalis*. Antimicrob Agents Chemother 2019;63(7):e00291–19. DOI: 10.1128/AAC.00291-19.

Вклад авторов

А.В. Фёдорова: разработка концепции исследования, сбор и обработка данных, анализ и интерпретация результатов, дизайн и написание текста статьи;

Г.А. Клясова: разработка концепции исследования, разработка дизайна исследования, написание текста статьи, анализ и интерпретация результатов, окончательное одобрение рукописи;

И.Н. Фролова, С.А. Хрульнова: сбор и обработка данных;

А.В. Ветохина, Т.С. Капорская, И.В. Молчанова: предоставление материалов исследования.

Authors' contributions

A.V. Fedorova: concept, data collection, analysis and interpretation of results, design and article writing;

G.A. Klyasova: concept, design and article writing, analysis and interpretation of results, final approval of the article;

I.N. Frolova, S.A. Khrulnova: data collection;

A.V. Vetokhina, T.S. Kaporskaya, I.V. Molchanova: providing research materials.

ORCID авторов / ORCID of authors

А.В. Фёдорова / A.V. Fedorova: <https://orcid.org/0000-0003-3919-1150>

Г.А. Клясова / G.A. Klyasova: <https://orcid.org/0000-0001-5973-5763>

И.Н. Фролова / I.N. Frolova: <https://orcid.org/0000-0001-9308-9259>

С.А. Хрульнова / S.A. Khrulnova: <https://orcid.org/0000-0002-1127-3333>

Т.С. Капорская / T.S. Kaporskaya: <https://orcid.org/0000-0002-4059-8209>

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.
Conflict of interest. The authors declare no conflict of interest.

Финансирование. Результаты исследования были представлены на 29-м Европейском конгрессе по клинической микробиологии и инфекционным заболеваниям, Амстердам, Нидерланды (постерный доклад № 2328).

Работа выполнена в рамках государственного задания Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (тема № АААА-А18-118012490209-7).

Financing. Part of this study was presented at the 29th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Amsterdam, Netherlands, 2019 (Poster No. 2328).

The research was carried out within the state assignment of Ministry of Science and Higher Education of the Russian Federation (theme No. АААА-А18-118012490209-7).

Соблюдение прав пациентов и правил биоэтики

Протокол исследования одобрен комитетом по биомедицинской этике ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр гематологии» Минздрава России.

Все пациенты подписали информированное согласие на участие в исследовании.

Compliance with patient rights and principles of bioethics

The study protocol was approved by the biomedical ethics committee of National Medical Research Center for Hematology, Ministry of Health of Russia.

All patients gave written informed consent to participate in the study.