https://doi.org/10.31631/2073-3046-2020-19-5-49-60

Распространенность генов карбапенемаз, qacE, qacEΔ1 и cepA у множественно-резистентных грамотрицательных бактерий с различной чувствительностью к хлоргексидину

К. Г. Косякова*[1, 2], Н. Б. Эсауленко[3], О. А. Каменева[2], С. П. Казаков[3, 4], А. Ю. Дубинина[1], Е. Ю. Мезина[1], А. А. Зайцев[3]

[1] ФГБОУ ВО «Северо-Западный государственный медицинский университет имени И. И. Мечникова» Минздрава России, Санкт-Петербург
[2] СПб ГБУЗ «Детская городская больница № 22», Санкт-Петербург
[3] ФГБУ «Главный военный клинический госпиталь имени академика Н. Н. Бурденко» Министерства обороны России, Москва
[4] ФГБОУ ДПО «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования», Москва

Резюме

Актуальность. *Всемирная организация здравоохранения опубликовала перечень резистентных бактерий, представляющих наибольшую угрозу для общества. Среди них наиболее важными (критически высокий уровень приоритетности) являются штаммы Pseudomonas aeruginosa и Acinetobacter baumannii, резистентные к карбапенемам, а также энтеробактерии, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра и карбапенемазы.* ***Цель.*** *Провести сравнительный анализ чувствительности к хлоргексидину множественно-резистентных грамотрицательных бактерий, возбудителей инфекционных состояний у пациентов различных медицинских организаций и изучить связь между наличием генов резистентности и минимальной ингибирующей концентрацией хлоргексидина.* ***Материалы и методы.*** *В исследование включено 138 штаммов множественно-резистентных грамотрицательных бактерий, выделенных в 2018–2019 гг. из различного клинического материала. Чувствительность изолятов к антимикробным препаратам определяли с помощью приборов Vitek-2 compact и Phoenix M50, чувствительность к хлоргексидину – методом серийных разведений. Детекцию генов резистентности проводили методом ПЦР в режиме реального времени.* ***Результаты.*** *Наименьший уровень устойчивости к хлоргексидину выявлен среди штаммов E. coli (МИК90 16 мг/л), остальные штаммы характеризовались высокой устойчивостью: МИК90 P. aeruginosa и A. baumannii 128 мг/л, K. pneumoniae, E. cloacae и P. mirabilis – 256 мг/л. Наибольшая частота обнаружения генов карбапенемаз отмечена у штаммов K. pneumoniae – 56,0% и P. aeruginosa – 48,1%. Широкое распространение получили гены cepA (энтеробактерии – 47,8%, A. baumannii – 42,9%), гены qacE, qacEΔ1 чаще выявлялись у неферментирующих грамотрицательных бактерий, чем у энтеробактерий.* ***Заключение.*** *По результатам выполненного исследования нами не выявлено значимой корреляции между наличием/отсутствием генов резистентности и МИК хлоргексидина у грамотрицательных бактерий. Однако, принимая во внимание сложный механизм адаптивной реакции бактерий на воздействие хлоргексидина и в целях исполнения концепции профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, предлагается продолжить проведение динамического мониторинга устойчивости микроорганизмов к антисептикам, дезинфектантам и антибиотикам.*

Ключевые слова: *грамотрицательные бактерии, устойчивость к антибиотикам, хлоргексидин, cepA, qacE, qacEΔ1*
Конфликт интересов не заявлен.

Для цитирования: *Косякова К. Г., Эсауленко Н. Б., Каменева О. А. и др. Распространенность генов карбапенемаз, qacE, qacEΔ1 и cepA у множественно-резистентных грамотрицательных бактерий с различной чувствительностью к хлоргексидину. Эпидемиология и Вакцинопрофилактика. 2020; 19 (5): 49– 60. https://doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-5-49-60.*

* *Для переписки: Косякова Карина Георгиевна, к. м. н., доцент кафедры медицинской микробиологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова»; врач-бактериолог Детской городской больницы № 22, Санкт-Петербург, 195067, Пискаревский пр., д. 47. +7(812) 543-01-95, karina.kosyakova@szgmu.ru.* *©Косякова К. Г. и др.*

Prevalence of Carbapenemase Genes, qacE, qacEΔ1 and cepA in Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria with Different Susceptibility to Chlorhexidine

*KG Kosyakova**[1,2], NB Esaulenko[3], OA Kameneva[2], SP Kazakov[3], AY Dubinina[1], EY Mezina[1], AA Zaitsev[3]*

[1] North-Western State Medical University named after I. I. Mechnikov, Saint-Petersburg

[2] Children's Municipal Hospital № 22, Saint-Petersburg

[3] Main military clinical hospital named after academician N.N. Burdenko, Moscow

[4] Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow

Abstract

Relevance *The World Health Organization has provided a list of resistant bacteria that pose the greatest threat to society. Among them, the most important (critically high priority level) are Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii strains resistant to carbapenems, as well as enterobacteriaceae producing extended spectrum beta-lactamases and carbapenemases.* ***Aim.*** *To conduct a comparative analysis of the sensitivity to chlorhexidine of multiply-resistant gram-negative bacteria, the causative agents of infectious conditions in patients of various medical organizations, and to study the relationship between the presence of resistance genes and the minimum inhibitory concentration of chlorhexidine.* ***Materials & methods.*** *The study included 138 Gram-negative multidrug-resistant strains isolated during 2018–2019 from various clinical specimens. Susceptibility of the isolates to antibiotics were determined using Vitek-2 compact and Phoenix M50, susceptibility to chlorhexidine were determined by agar dilution method. The resistance genes were detected by the real-time PCR method.* ***Results.*** *The lowest level of resistance to chlorhexidine was determined in E. coli strains (MIC90 16 mg/l), other strains were highly resistant: MIC90 of P. aeruginosa and A. baumannii – 128 mg/l, K. pneumoniae, E. cloacae и P. mirabilis – 256 mg/l. The highest frequency of detection of carbapenemase genes observed in K. pneumoniae strains – 56.0% and P. aeruginosa – 48.1%. High prevalence of cepA gene was found out (the strains of enterobacteria – 47.8%, A. baumannii – 42.9%), genes qacE, qacEΔ1 were more often detected in non-fermenting Gram-negative bacteria then in enterobacteria.* ***Conclusion.*** *According to the results of our study, we did not reveal a significant correlation between the presence or absence of resistance genes and MIC of chlorhexidine in Gram-negative bacteria. However, taking into account complex mechanism of the adaptive response of bacteria to the effects of chlorhexidine, and to implement the concept of preventing health care-associated infections, it is proposed to continue dynamic monitoring of the resistance of microorganisms to antiseptics, disinfectants and antibiotics.*

Key words: *Gram-negative bacteria, resistance to antibiotics, chlorhexidine, cepA, qacE, qacEΔ1*

No conflict of interest to declare.

For citation: *Kosyakova KG, Esaulenko NB, Kameneva OA et al. Prevalence of Carbapenemase Genes, qacE, qacEΔ1 and cepA in Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacteria with Different Susceptibility to Chlorhexidine Epidemiology and Vaccinal Prevention. 2020; 19 (5): 49–60 (In Russ.). https://doi: 10.31631/2073-3046-2020-19-5-49-60.*

Введение

Инфекции, связанные с оказанием медицинской помощи (ИСМП), – одна из наиболее актуальных в мире современных проблем, возникающих при создании безопасной больничной среды в многопрофильных стационарах [1,2]. Так, в России, по данным официальной статистики, ежегодно регистрируется около 25–30 тыс. случаев внутрибольничных инфекций (ВБИ), однако реальное их количество составляет не менее 2–2,5 млн [1]. В случае развития внутрибольничной инфекции риск летального исхода возрастает в 5–7 раз, стоимость лечения в 3–4 раза [3], а общий экономический ущерб при этом, по мнению ряда экспертов, может достигать 300 млрд рублей в год [4]. Эти данные соотносятся с данными по Европейскому союзу и Европейскому экономическому пространству, где ежегодно происходит от 2,6 до 4 млн новых случаев ИСМП среди госпитализированных больных, а число смертей в ЕС, обусловленное устойчивостью к антимикробным препаратам, по оценкам экспертов, составляет около 33–37 тыс. в год [5,6].

Причем, несмотря на значительную роль в этиологическом процессе ВБИ грамположительных микроорганизмов, особую опасность представляют штаммы грамотрицательных бактерий с множественной резистентностью к антимикробным препаратам (АМП), способные длительное время сохраняться на объектах больничной среды [7–12].

В 2017 г. Всемирная организация здравоохранения составила перечень резистентных бактерий, представляющих наибольшую угрозу для общества. Среди них наиболее важными (критически высокий уровень приоритетности) являются штаммы *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*, резистентные к карбапенемам, а также энтеробактерии, продуцирующие бета-лактамазы расширенного спектра и карбапенемазы [13,14]. И в последние годы именно проблема появления грамотрицательных бактерий, резистентных к целому ряду АМП, а также к действию дезинфицирующих средств, является ключевой для многопрофильных лечебных учреждений нашей страны [9].

** *For correspondence: Kosyakova Karina G, Cand. Sci. (Med.), associate professor of Medical Microbiology Department of I. I. Mechnikov North-Western State Medical University; Bacteriologist of Children's Municipal Hospital № 22., 47 Piskarevskii pr., Saint-Petersburg, 195067, Russia.+7(812) 543-01-95, karina.kosyakova@szgmu.ru. ©Kosyakova KG et al.*

Рисунок 1. Распределение изолятов грамотрицательных бактерий в зависимости от исследованного клинического материала, % (n = 138)
Figure 1. Allocation of isolates of the Gram negative bacteria depending of specimen

Так, наряду с объектами больничной среды важным звеном эпидемической цепи являются пациенты и персонал медицинских организаций, выступающие в роли своеобразной экологической ниши не только для передачи, но и для сохранения и селекции инфекционных агентов. В целях профилактики возникновения и распространения ВБИ в медицинских организациях, обеспечения биобезопасности пациентов и персонала осуществляется комплекс санитарно-противоэпидемических мероприятий, один из наиболее действенных методов которого – применение различных дезинфектантов и антисептиков. [1, 3, 15, 16]. Однако широкое бесконтрольное использование дезсредств вызывает возникновение резистентности к ним микроорганизмов, которая в сочетании с устойчивостью к АМП может привести к эпидемическому распространению опасных штаммов.

Одним из механизмов устойчивости бактерий к дезинфектантам и антисептикам является экспрессия системы эффлюкса, которая кодируется генами qacE, qacEΔ1, cepA, широко распространенными среди грамотрицательных бактерий [17–20]. Описано, что гены группы qac (quaternary ammonium compound – четвертичное аммониевое соединение) часто выявляются в ассоциации с генами, кодирующими устойчивость к АМП разных групп, в том числе к β-лактамам (карбапенемазы), так как обе группы генов локализуются в плазмид-опосредованных интегронах класса 1. Принимая во внимание данный факт, следует учитывать возможность неспецифической селекции антибиотикорезистентных штаммов грамотрицательных бактерий при нерациональном применении дезинфектантов и антисептиков.

В литературе описана способность к адаптации микроорганизмов к субингибирующим концентрациям антимикробных препаратов разных групп, сниженная чувствительность и/или устойчивость к ним возбудителей ИСМП вследствие мутаций или передачи генов резистентности [21–24]. Однако, несмотря на высокую этиологическую значимость грамотрицательных бактерий в структуре возбудителей ИСМП, сведения о распространении устойчивости к антисептическим средствам и механизмах резистентности у штаммов, выделенных в медицинских организациях, разрозненны и немногочисленны, в том числе в отношении широко применяемого препарата хлоргексидин [25, 26].

Цель работы – провести сравнительный анализ чувствительности к хлоргексидину множественно-резистентных грамотрицательных бактерий, возбудителей инфекционных состояний у пациентов различных медицинских организаций и изучить связь между наличием генов резистентности и минимальной ингибирующей концентрацией хлоргексидина.

Материалы и методы

Источники бактериальных изолятов. В исследование включено 138 множественно-резистентных штаммов грамотрицательных бактерий, в том числе 51 штамм (37,0%), у которого были выявлены гены наиболее распространенных металло-β-лактамаз (VIM, IMP, NDM) и сериновых карбапенемаз (KPC, OXA-48). Все изоляты были выделены в период с 01.07.2018 г. по 01.07.2019 г. от взрослых пациентов военного клинического госпиталя Москвы – 83 изолята, от взрослых пациентов многопрофильного стационара и поликлинических отделений – 45 изолятов,

Таблица 1. Видовой состав исследованных изолятов грамотрицательных бактерий
Table 1. Species composition of the studied isolates of the Gram negative bacteria

Вид микроорганизма Pathogens	Количество изолятов No. of isolates	
	Абс. No	%
Escherichia coli	24	17,4
Klebsiella pneumoniae	50	36,3
Klebsiella ozaenae	1	0,7
Enterobacter cloacae	5	3,6
Proteus mirabilis	5	3,6
Morganella morganii	1	0,7
Citrobacter braakii	1	0,7
Citrobacter freundii	1	0,7
Providencia rettgeri	1	0,7
Serratia marcescens	1	0,7
Pseudomonas aeruginosa	27	19,6
Acinetobacter baumannii	21	15,3
Всего: Total:	138	100,0%

а также от детей многопрофильного стационара и детской поликлинической сети двух районов Санкт-Петербурга – 10 изолятов. Распределение изолятов в соответствии с источниками их выделения представлено на рисунке 1, видовой состав протестированных штаммов – в таблице 1.

Выделение, идентификация и хранение изолятов. Посев материала и выделение чистых культур выполняли традиционными микробиологическими методами с использованием стандартных питательных сред. Идентификацию изолятов проводили с помощью анализаторов Vitek-2 compact (bioMerieux, Франция) и Phoenix M50 (BectonDickinson, США). Изоляты тестировали сразу после их выделения и идентификации, далее хранили в полужидком агаре при 4–8 °С с восполнением запаса рабочей культуры через 3, 6 и 9 месяцев.

Определение чувствительности к антимикробным препаратам. Определение чувствительности к антимикробным препаратам проводили также с помощью приборов Vitek-2 compact (bioMerieux, Франция), Phoenix M50 (Becton Dickinson, США) и интерпретировали в соответствии с критериями, обозначенными в Клинических рекомендациях «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам», версия 2018-03 [27]. Для контроля качества определения чувствительности к АМП использовали штаммы *E. coli* АТСС 25922, *E. coli* АТСС 35218, *P. aeruginosa* АТСС 27853.

Определение чувствительности к хлоргексидину. МИК хлоргексидина определяли методом серийных разведений в агаре. Разведения препарата с шагом 2 готовили из 20% водного раствора хлоргексидина биглюконата – Дезин (Дезиндустрия, Россия) и добавляли в агар Мюллера-Хинтон (Oxoid, Великобритания) в концентрациях от 1 до 256 мг/л. Готовили суспензии суточных культур грамотрицательных бактерий плотностью 0,5

Таблица 2. Характеристика используемых в работе праймеров
Table 2. List of primers used in the study

Наименование гена Gene name	Олигонуклеотидные последовательности (5'–3') Sequence 5'–3'	Ссылка Reference	Температура отжига Annealing temperature
qacE	F-CCCGAATTCATGAAAGGCTGGCTT R-TAAGCTTTCACCATGGCGTCGG	[18]	55 °C
qacEΔ1	F-TAGCGAGGGCTTTACTAAGC R-ATTCAGAATGCCGAACACCG	[26]	55 °C
cepA	F-CAACTCCTTCGCCTATCCCG R-TCAGGTCAGACCAAACGGCG	[25]	66 °C

по McFarland, разводили в стерильном физиологическом растворе до 10^7 КОЕ/мл и наносили на поверхность агара с разными концентрациями препарата по 5 мкл, включая контрольные чашки без хлоргексидина. После высыхания капель посевы инкубировали при 35 °С 48 ч и проводили учет через 24 и 48 ч, принимая за МИК минимальную концентрацию хлоргексидина, подавляющую рост бактерий. Для контроля качества определения чувствительности к хлоргексидину использовали штамм *E. coli* ATCC 25922.

Выявление генов резистентности. Выделение тотальной ДНК проводили из суточных культур исследуемых штаммов, выращенных на среде Мюллера-Хинтона (Oxoid, Великобритания) при 37 °С. Далее материал, полученный в результате

Таблица 3. Доля устойчивых к антимикробным препаратам изолятов (%) среди протестированных грамотрицательных бактерий
Table 3. Part of antibiotic-resistant isolates (%) among the studied strains of the Gram negative bacteria

Антимикробный препарат Antimicrobial agent	Группы природной устойчивости Intrinsic resistance groups					
	Группа 1 Group 1		Группа 2 Group 2	Группа 3 Group 3	Группа 4 Group 4	Группа 5 Group 5
	E. coli (n=24)	*P. mirabilis (n=5)*	*Klebsiella spp. (n=51)*	*E. cloacae, C. freundii, C. braakii, M. morganii, S. marcescens, P. rettgeri (n=10)*	*P. aeruginosa (n=27)*	*A. baumannii (n=21)*
Ампициллин Ampicillin	100,0	100,0	100,0	100,0	–	–
Амоксициллин/клавуланат Amoxicillin/Clavulanate	91,7	80,0	96,1	100,0	–	–
Пиперациллин/тазобактам Piperacillin/Tazobactam	33,3	–	90,2	80,0	96,3	–
Цефуроксим Cefuroxime	100,0	80,0	100,0	90,0	–	–
Цефтазидим Ceftazidime	79,2	80,0	94,1	70,0	92,6	95,2
Цефотаксим Cefotaxime	100,0	80,0	96,1	80,0	–	–
Цефтриаксон Ceftriaxone	100,0	80,0	100,0	80,0	–	100,0
Цефепим Cefepime	87,5	80,0	94,1	80,0	77,8	90,5
Имипенем Imipenem	8,3	10,0	35,3	10,0	92,6	71,4
Меропенем Meropenem	8,3	10,0	37,3	10,0	70,4	76,2
Эртапенем Ertapenem	25,0	20,0	52,9	30,0	–	–
Азтреонам Aztreonam	83,3	100,0	100,0	80,0	85,2	–
Гентамицин Gentamicin	54,2	100,0	92,2	50,0	81,5	95,2
Амикацин Amikacin	13,3	40,0	49,0	10,0	48,1	85,7
Триметоприм/сульфаметоксазол Trimethoprim/sulfamethoxazole	79,2	100,0	88,2	50,0	–	85,7
Ципрофлоксацин Ciprofloxacin	83,3	60,0	94,1	50,0	88,9	90,5

Примечание: «–» – исследование не проводилось
Note: no studies were conducted

Таблица 4. Минимальные ингибирующие концентрации хлоргексидина биглюконата протестированных грамотрицательных бактерий
Table 4. Minimum inhibitory concentration values of chlorhexidine digluconate in the studied isolates of the Gram negative bacteria

Вид микроорганизма Pathogens (n)	Количество изолятов со значением МИК, мг/л No. of isolates with MIC value, mg/l									МИК, мг/л MIC, mg/	
	1	2	4	8	16	32	64	128	256	$МИК_{50}$ MIC_{50}	$МИК_{90}$ MIC_{90}
E. coli (24)	–	–	11	9	2	1	–	1	–	8	16
K. pneumoniae (50)	–	–	1	4	–	11	14	13	7	64	256
K. ozaenae (1)	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–
E. cloacae (5)	–	–	–	–	–	–	–	3	2	128	256
P. mirabilis (5)	–	–	–	–	–	–	1	3	1	128	256
M. morganii (1)	–	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–
C. braakii (1)	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–
C. freundii (1)	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–
P. rettgeri (1)	–	–	–	–	–	–	–	1	–	–	–
S. marcescens (1)	–	–	–	–	–	1	–	–	–	–	–
P. aeruginosa (27)	–	–	–	–	8	11	5	2	1	32	128
baumannii (21)	–	–	–	–	1	2	8	9	1	64	128

Примечание: «–» – изолятов с данными свойствами не выявлено.
Note: no isolates with these properties were found.

нескольких касаний газона петлей, помещали в 200 мкл ТЕ (10 мМТрисHCl ph8.0, 1мм ЭДТА) буфера в пробирки «Eppendorf», ресуспендировали с помощью вортекса и выделяли бактериальную ДНК с помощью комплекта реагентов «Рибопреп» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия).

Детекцию генов резистентности проводили методом мультиплексной ПЦР в режиме реального времени с использованием амплификатора CFX 96 (BioRad, США). Для выявления генов карбапенемаз VIM, IMP, NDM, KPC, OXA-48 использовали наборы «Амплисенс®MDRMBL-Fl», «Амплисенс® MDRKPC/OXA-48-Fl» (ФГУН ЦНИИЭ Роспотребнадзора, Россия). Детекцию генов qacE, qacEΔ1, cepA выполняли с помощью реагентов: 10х буфер «как-то Taq» с добавлением SYBRGreen – 2 мкл, смесь dNTP, 5 mMоль каждого (дезоксинуклеотидтрифосфат) – 1 мкл, праймеры, прямой и обратный, 20 пМоль/мкл – по 0,5 мкл, Taq-полимераза, 5 ед.а. – 0,5 мкл (все вышеуказанные компоненты компании BioBeagle, Россия), вода дистиллированная – 10,5 мкл, ДНК бактериальная – 1–2 нг (5мкл) по программе амплификации в соответствии с рекомендациями производителя. Характеристика праймеров представлена в таблице 2.

Статистический анализ. Статистическую обработку данных выполняли с помощью пакета программ Microsoft Office Excel 2013 для Windows 8.1. Для анализа результатов исследования рассчитывали относительные экстенсивные показатели (проценты). Достоверность различий оценивали по критерию Хи-квадрат Пирсона (χ^2). Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

За период исследования протестировано 138 множественно-резистентных изолятов грамотрицательных бактерий, выделенных от пациентов различных медицинских организаций. Результаты определения чувствительности к антибиотикам (доля устойчивых изолятов по группам природной резистентности) [28] и хлоргексидину (распределение МИК, $МИК_{50}$ и $МИК_{90}$) всех штаммов, включенных в исследование, представлены в таблицах 3, 4.

Как видно из представленных данных, протестированные штаммы энтеробактерий характеризовались высокой устойчивостью к амоксициллин/клавуланату (от 91,7% до 100,0% изолятов), азтреонаму (от 83,3% до 100,0% изолятов) и цефалоспоринам III–IV поколений (от 79,2% до 100,0% изолятов). Высокую активность в отношении большинства энтеробактерий сохранили карбапенемы (8,3–20,0% устойчивых изолятов), однако доля устойчивых изолятов была значительной среди клебсиелл (35,3–52,9% изолятов). Устойчивость к препаратам других групп также была высокой: триметоприм/сульфаметоксазол – от 50,0% до 100,0%, ципрофлоксацин – от 50,0% до 94,1%, при этом высокую активность показал амикацин – от 10,0% до 49,0% устойчивых изолятов. Штаммы *A. baumannii* и *P. aeruginosa* характеризовались устойчивостью к большинству протестированных

Таблица 5. Видовой состав изолятов грамотрицательных бактерий, несущих гены металло-β-лактамаз и сериновых карбапенемаз
Table 5. Species composition of the Gram negative bacteria isolates with metallo-β-lactamases or serine carbapenemases genes

Вид микроорганизма Pathogens (n)	Количество изолятов No. of isolates	Количество изолятов, несущих гены металло-β-лактамаз и сериновых карбапенемаз No. of isolates with metallo-β-lactamases and serine carbapenemases genes			В том числе изоляты с ассоциациями генов Including isolates with genes associations
		blaNDM	blaVIM	blaOXA-48	blaNDM+blaOXA-48
E. coli (24)	5	3	1	1	–
K. pneumoniae (50)	28	22	1	12	7
K. ozaenae(1)	1	1	–	–	–
E. cloacae(5)	1	–	–	1	–
S. marcescens(1)	1	–	–	1	–
P. aeruginosa (27)	13	–	13	–	–
A. baumannii (21)	2	–	2	–	–
Всего:	51	26	17	15	7

Примечание: «–» – изолятов с данными свойствами не выявлено.
Note: no isolates with these properties were found.

АМП на уровне 76,2–100,0%. Наименьшее число устойчивых изолятов выявлено среди *A. baumannii* в отношении имипенема – 71,4%, среди *P. aeruginosa* в отношении меропенема и амикацина – 70,4% и 48,1% соответственно.

Уровень устойчивости изолятов к хлоргексидину среди множественно-резистентных грамотрицательных бактерий был наименьшим среди *E. coli* ($МИК_{50}$ и $МИК_{90}$ 8 мг/л и 16 мг/л соответственно). Следует отметить, что МИК хлоргексидина изолятов *E. coli* находилась в широком диапазоне (4–128 мг/л), так же как и *K. pneumoniae* (4–256 мг/л), однако $МИК_{50}$ и $МИК_{90}$ у последних была выше – 64 мг/л и 256 мг/л соответственно. МИК хлоргексидина для остальных энтеробактерий была 32 мг/л и выше, $МИК_{50}$ и $МИК_{90}$ для *E. cloacae* и *P. mirabilis* составили 128 мг/л и 256 мг/л соответственно. Значения МИК хлоргексидина для неферментирующих грамотрицательных бактерий составили 16 мг/л и выше, $МИК_{50}$ и $МИК_{90}$ *P. aeruginosa* – 32 мг/л и 128 мг/л, *A. baumannii* – 64 мг/л и 128 мг/л соответственно.

Таблица 6. Видовой состав изолятов грамотрицательных бактерий, несущих qacE, qacEΔ1 и cepA
Table 6. Species composition of the Gram negative bacteria isolates with qacE, qacEΔ1 and cepA genes

Вид микроорганизма Pathogens (n)	Количество изолятов No. of isolates	Количество изолятов, несущих гены No. of isolates with genes			В том числе изоляты с ассоциациями генов Including isolates with genes associations		
		qacE	qacEΔ1	cepA	qacE+cepA	qacEΔ1+cepA	qacE+qacEΔ1+cepA
E. coli (24)	13	3	2	10	1	1	–
K. pneumoniae (50)	30	10	7	25	2	2	4
E. cloacae (5)	3	1	2	1	–	1	–
P. mirabilis (5)	5	1	1	4	1	–	–
C. braakii (1)	1	–	1	1	–	1	–
C. freundii (1)	1	–	1	1	–	1	–
P. rettgeri (1)	1	–	1	1	–	1	–
P. aeruginosa (27)	13	6	5	4	–	–	1
A. baumannii (21)	12	4	5	9	3	1	1
Всего:	79	25	25	56	7	8	6

Примечание: «–» – изолятов с данными свойствами не выявлено.
Note: no isolates with these properties were found.

Таблица 7. Корреляция между минимальной ингибирующей концентрацией хлоргексидина биглюконата и наличием генов qacE, qacEΔ1и cepA
Table 7. Correlation between chlorhexidine digluconate minimum inhibitory concentration and the presence of qacE, qacEΔ1and cepA genes

Вид микроорганизма Pathogens (n)	qacE, qacEΔ1,cepA (n)		МИК, мг/л MIC, mg/l	Критерий Хи-квадрат* Pearson's chi-squared*	Значение p P value
	Да Yes	Нет No			
E. coli (24)	3	1	>8	0,134	0,715
	10	10	⩽ 8		
K. pneumoniae (50)	6	1	> 128	1,170	0,280
	24	19	⩽ 128		
P. aeruginosa (27)	2	1	> 64	0,005	0,946
	11	13	⩽ 64		
A. baumannii (21)	1	0	> 128	0,022	0,883
	11	9	⩽ 128		

*Примечание: * Хи-квадрат Пирсона от 0,005 до 1,170 при критическом значении 3,841 – различия не достоверны (p > 0,05).*
*Note: * Pearson's chi-squared from 0.005 to 1.170 with a critical value of 3.841 -– the differences are not significant (p > 0.05).*

Таблица 8. Корреляция между наличием генов устойчивости к карбапенемам и хлоргексидину
Table 8. Correlation between the presence of genes of carbapenemases and chlorhexidine digluconate resistance

Вид микроорганизмов Papthogens (n)	qacE, qacEΔ1, cepA (n)	NDM (n)		VIM (n)		OXA-48 (n)		NDM, VIM, OXA-48 (n)	
		Да Yes	Нет No	Да Yes	Нет No	Да Yes	Нет No	Да Yes	Нет No
E. coli (24)	Да Yes	3	10	1	12	0	13	4	9
	Нет No	0	11	0	11	1	10	1	10
Критерий Хи-квадрат* Pearson's chi-squared*		1,175		0,007		0,007		0,638	
K. pneumoniae (50)	Да Yes	16	14	1	29	6	24	19	11
	Нет No	6	14	0	20	6	14	9	11
Критерий Хи-квадрат* Pearson's chi-squared*		1,789		0,043		0,224		0,977	
P. aeruginosa (27)	Да Yes	0	13	4	9	0	13	–	
	Нет No	0	14	9	5	0	14	–	
Критерий Хи-квадрат* Pearson's chi-squared*		–		1,839		–		–	
A. baumannii (21)	Да Yes	0	12	1	11	0	12	–	
	Нет No	0	9	1	8	0	9	–	
Критерий Хи-квадрат* Pearson's chi-squared*		–		0,288		–		–	

Примечание: Хи-квадрат Пирсона от 0,007 до 1,839 при критическом значении 3,841 – различия не достоверны (p > 0,05).*
Note: Pearson's chi-squared from 0.007 to 1.839 with a critical value of 3.841 - the differences are not significant (p>0.05).

Гены наиболее распространенных металло-β-лактамаз и сериновых карбапенемаз выявлены у 40,0% штаммов энтеробактерий, 9,5% *A. baumannii* и 48,1% *P. aeruginosa* (табл. 5).

Как видно из представленных данных, наибольшая частота обнаружения генов карбапенемаз отмечена у штаммов *K. pneumoniae* – 56,0% и *P. aeruginosa* – 48,1%, при этом у 14,0% штаммов *K. pneumoniae* одновременно выявлены гены карбапенемаз NDM и OXA-48. Штаммов бактерий, несущих гены карбапенемаз IMP, KPC не выявлено.

По результатам детекции генов экспрессии системы эффлюкса, как наиболее распространенного механизма устойчивости к хлоргексидину, 60,0% штаммов энтеробактерий, 57,1% *A. baumannii* и 48,1% *P. aeruginosa* обладали генами группы qac и cepA (табл. 6).

Среди протестированных изолятов энтеробактерий частота обнаружения генов qacE, qacEΔ1, cepA составила соответственно 16,7%, 16,7% и 47,8%, в том числе среди изолятов *A. baumannii* – 19,0%, 23,8% и 42,9%, а *P. aeruginosa* – 22,2%, 18,5% и 14,8% соответственно. Следует отметить, что МИК хлоргексидина различалась не только у изолятов разных видов, но и у штаммов в зависимости от наличия генов qac и cepA (табл. 7).

Пороговым значением МИК хлоргексидина была выбрана $МИК_{90}$ для штаммов указанных видов грамотрицательных бактерий, не имеющих генов системы эффлюкса. Полученные нами данные не выявили корреляции между МИК хлоргексидина и присутствием генов qacE, qacEΔ1, cepA ($p > 0,05$).

Одновременное наличие генов карбапенемаз и эффлюкс-генов qacE, qacEΔ1, cepA выявлено у 16,7% *E. coli*, 38,0% *K. pneumoniae*,14,8% *A. baumannii* и 4,8% *P. aeruginosa* (табл. 8).

Как видно из представленных данных, нами не выявлено корреляции между наличием генов карбапенемаз и эффлюкс-генов qacE, qacEΔ1, cepA ($p > 0,05$).

Все изоляты грамотрицательных бактерий, включенные в исследование, характеризовались высоким уровнем устойчивости к АМП. Полученные нами данные соответствуют уровню устойчивости нозокомиальных штаммов энтеробактерий, *A. baumannii* и *P. aeruginosa* по результатам многоцентровых исследований «МАРАФОН» [29–31]. В совокупности с опубликованными нами ранее данными полученные результаты подтверждают высокий уровень антибиотикорезистентности и сохраняющуюся тенденцию к ее нарастанию среди возбудителей инфекционных состояний у пациентов различного профиля [32–34].

Полученные нами результаты также свидетельствуют о высоком уровне устойчивости грамотрицательных бактерий к хлоргексидину ($МИК_{90}$ от 16 мг/л до 256 мг/л), что соответствует результатам других авторов [35, 36].

Интересным наблюдением является гетерогенность популяций *E. coli* и *K. pneumoniae* по чувствительности к хлоргексидину, диапазон МИК для которых составил 4–128 мг/л и 4–256 мг/л, а показатель $МИК_{90}$ – 16 мг/л и 256 мг/л соответственно. Принимая во внимание различный уровень природной устойчивости к АМП данных видов, широкий диапазон МИК при невысоком значении $МИК_{90}$ у штаммов *E. coli* может свидетельствовать о тенденции к нарастанию уровня приобретенной резистентности. Аналогичный процесс, по-видимому, наблюдается у штаммов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, для которых значений $МИК_{50}$ и $МИК_{90}$ различались на 2 шага разведения. Полученные результаты соответствуют литературным данным о высокой адаптивности микроорганизмов к неблагоприятным воздействиям, в том числе – к воздействию дезинфектантов и антисептиков [21,23].

Результаты детекции генов резистентности свидетельствуют о широком распространении генов blaNDM и blaOXA-48 среди штаммов *K. pneumoniae*, blaVIM среди *P. aeruginosa*. Вместе с тем нами не выявлено превалирования штаммов *A. baumannii*, несущих гены blaVIM, blaIMP или blaNDM, по-видимому, вследствие преимущественного распространения среди данных бактерий генов карбапенемаз OXA-24/40, OXA-23, OXA-58 [29]. Среди 138 протестированных грамотрицательных бактерий у 7 (5,1%) изолятов вида *K. pneumoniae* одновременно выявлены гены blaNDM и blaOXA-48. Вместе с тем гены устойчивости к хлоргексидину (qacE, qacEΔ1, cepA) чаще выявлялись в ассоциации по 2 или 3 гена у бактерий разных видов – 21 (15,2%), чем ассоциации генов карбапенемаз. Гены системы эффлюкса не выявлены у изолятов видов *K. ozaenae*, *M. morganii* и *S. marcescens* (3), в то же время все изоляты *P. mirabilis* (5) имели гены qacE, qacEΔ1 или cepA, однако малое количество протестированных штаммов не позволяет говорить об общей видоспецифичной закономерности распределения данных генов. В целом широкое распространение получили штаммы с геном cepA (41,7–100,0%), хотя для *E. cloacae* и *P. aeruginosa* доля таких штаммов составила 20,0% и 14,8% соответственно. Частота выявления генов qacE, qacEΔ1 была ниже у энтеробактерий, чем у неферментирующих грамотрицательных бактерий, и не превышала 40,0% у отдельных видов за исключением видов, представленных единичными изолятами (*C. braakii, C. freundii, P. rettgeri)*. Полученные нами данные подтверждают результаты исследований других авторов, которые отмечают широкое распространение указанных генов у множественно-резистентных микроорганизмов [18,26,36].

Несмотря на распространенность генов qacE, qacEΔ1, cepA у грамотрицательных бактерий, результаты проведенных нами исследований не позволяют сделать вывод о корреляции между МИК хлоргексидина и наличием указанных генов, что подтверждается данными других авторов [36–39]. Вместе с тем в работе A. Abuzaid et al. [40] выявлена корреляция между наличием генов qacE, qacEΔ1, cepA и сниженной чувствительностью к хлоргексидину у клинических изолятов *K. pneumoniae*,

в работе F. A. M. Gomaa et al. [41] опубликованы аналогичные данные для *A. baumannii*, а, по данным W. J. Liu et al. [42], карбапенем-резистентные изоляты *A. baumannii*, несущие ген qacE, обладали повышенной устойчивостью к бензалкониум хлориду, в то время как изоляты с геном qacEΔ1 таких свойств не имели. Корреляции между наличием генов qacE, qacEΔ1, cepA и генов карбапенемаз, по нашим данным и других авторов, также не выявлено. Следовательно, формирование и распространение устойчивости бактерий к хлоргексидину имеет мультифакторную природу, включая дефектность генов группы qac и различия в методологии проведения исследований [19,36,43,44].

Заключение

Таким образом, в соответствии с проведенными исследованиями, среди множественно-резистентных грамотрицательных бактерий наибольшее распространение получили гены cepA, частота обнаружения которых у изолятов *K. pneumoniae*, *E. coli*, *A. baumannii* составляла от 41,7% до 80,0%, в то время как частота обнаружения генов qacE, qacEΔ1 не превышала 40,0% у остальных видов. Нами не выявлено существенной корреляции между наличием/отсутствием указанных генов и МИК хлоргексидина у грамотрицательных бактерий. Однако, принимая во внимание сложный механизм адаптивной реакции бактерий на воздействие хлоргексидина, а также для получения новых данных, следует признать целесообразным проведение динамического мониторинга устойчивости микроорганизмов, выделенных из клинического материала и с объектов больничной среды, к антисептикам, дезинфектантам и антимикробным препаратам.

Литература

1. Козлов Р. С. Нозокомиальные инфекции: эпидемиология, патогенез, профилактика, контроль. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2000. Т., № 1. С.16–22.
2. Покровский В. И., Акимкин В. Г., Брико Н. И. и др. Внутрибольничные инфекции: новые горизонты профилактики. // Эпидемиология и инфекционные болезни. 2011. № 1. С. 4–7.
3. Покровский В. И., Акимкин В. Г., Брико Н. И. и др. Национальная Концепция профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, и информационный материал по ее положениям. Издательство «Ремедиум Поволжье». 2012. С. 84.
4. Найговзина Н. Б., Попова А. Ю., Бирюкова Е. Е. и др. Оптимизация системы мер борьбы и профилактики инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи в Российской Федерации. // ОРГЗДРАВ: новости, мнения, обучение: Вестник ВШОУЗ. 2018. Т. 1, № 11. С. 17–26.
5. Европейское региональное бюро ВОЗ 13.11.2017: Каждая предотвращенная инфекция – это еще одна возможность избежать лечения антибиотиками. Доступно на: http://www.euro.who.int/ru/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/
6. Friedrich A.W. Control of hospital acquired infections and antimicrobial resistance in Europe: the way to go. Wien. Med. Wochensch. 2019. Vol.169, Suppl. 1. P.25–30.
7. Габриэлян Н. И., Шарапченко С. О., Драбкина И. В. и др. Грамотрицательные госпитальные патогены в риске развития тяжелых бактериальных инфекций // Медицинский алфавит. Обозрение. 2019. Т. 1, № 15. С. 31–35.
8. Принципы организации мониторирования устойчивости ведущих возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, к антимикробным препаратам в лечебно-профилактических медицинских организациях здравоохранения. Федеральные клинические рекомендации. М.; 2014.
9. Тец В. В., Артеменко Н. К., Тец Г. В. и др. Чувствительность бактерий, выделенных от больных с нозокомиальной инфекцией к антисептическому препарату Мультицид. // Медицинский алфавит. Эпидемиология и гигиена. 2016. Т. 1, № 6. С. 38–41.
10. Cassir N., Rolain J., Brouqui P. A new strategy to fight antimicrobial resistance: the revival of old antibiotics. // Front. Microbiol. 2014. Vol.20, N5. P.551.
11. Gentry L.O. Future developments in nosocomial infections: the perspective in the United States. J. Hosp. Infect. 1990. Vol.15, Suppl A. P.3 –12.
12. Kramer A., Schwebke I., Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. BMC Infect. Dis. 2006. Vol.6. P.130.
13. Who publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. Доступно на: https://www.who.int/ru/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed.
14. McCann E., Srinivasan A., DeRyke C.A., et al. Carbapenem-nonsusceptible Gram-negative pathogens in ICU and non-ICU settings in US hospitals in 2017: a multicenter study // Open Forum. Infect. Dis. 2018. Vol.5, N10. ofy 241.
15. СанПиН 2.1.3.2630-10. Санитарно-эпидемиологические требования к организациям, осуществляющим медицинскую деятельность. Утверждены Постановлением Главного государственного санитарного врача РФ от 18 мая 2010 года №58.
16. Оценка чувствительности к дезинфицирующим средствам микроорганизмов, циркулирующих в медицинских организациях: Методические указания. М.: Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2017.
17. Kazama H., Hamashima H., Sasatsu M., Arai T. Distribution of the antiseptic-resistance genes qacE and qacEΔ1 in Gram-negative bacteria // FEMS Microbiol. Lett. 1998. Vol.159, N2. P.173–178.
18. Kucken D., Heinz-Hubert F., Kaukfers P.M. Association of qacE and qacEΔ1 with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of Gram-negative bacteria. // FEMS Microbiol. Lett. 2000. Vol.183, N1. P.95–98.
19. Paulsen I.T., Littlejohn T.G., Radstrom P., et al. The 3' conserved segment of integrons contains a gene associated with multidrug resistance to antiseptics and disinfectants. // Antimicrob. Agents Chemother. 1993. Vol.37, N4. P.761–768.
20. Paulsen I.T., Brown M.H., Skurray R.A. Proton-dependent multidrug efflux systems. // Microbiol. Rev. 1996. Vol.60, N4. P.575–608.
21. Дятлов И. А., Детушева Е. В., Мицевич И. П. и др. Чувствительность и формирование устойчивости к антисептикам и дезинфектантам у возбудителей внутрибольничных инфекций. // Бактериология. 2017. Т.2, №2. С.48–58.
22. Квашнина Д. В., Ковалишена О. В. Распространенность устойчивости микроорганизмов к хлоргексидину по данным систематического обзора и анализа регионального мониторинга резистентности. // Фундаментальная и клиническая медицина. 2018. Т.3, №1. С.63–71.
23. Russell A.D. Do biocides select for antibiotic resistance? // J. Pharm. Pharmacol. 2000. Vol.52, N2. P.227–233.
24. Stickler D.J. Susceptibility of antibiotic-resistant Gram-negative bacteria to biocides: a perspective from the study of catheter biofilms // Symp. Ser. Soc. Appl. Microbiol. 2002. Vol.31. P.163–170.
25. Fang C.T., Chen H.C., Chuang Y.P., et al. Cloning of a cation efflux pump gene associated with chlorhexidine resistance in Klebsiella pneumonia. // Antimicrob. Agents Chemother. 2002. Vol.46, N6. P.2024–2028.
26. Wang C., Cai P., Cuo Y., Mi Z. Distribution of the antiseptic-resistance gene qacEDelta1 in 331 clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in China. // J. Hosp. Infect. 2007. Vol.66, N1. P.93–95.
27. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Клинические рекомендации. Версия 2018–03. М., 2018.
28. EUCAST intrinsic resistance and exceptional phenotypes, Expert Rules version 3.1.26 September 2016. Доступно на: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Expert_Rules/Expert_rules_intrinsic_exceptional_V3.1.pdf.
29. Сухорукова М. В., Эйдельштейн М. В., Склеенова Е. Ю. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Acinetobacter spp. в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017. Т. 19, № 1. С. 42–48.
30. Сухорукова М. В., Эйдельштейн М. В., Склеенова Е. Ю. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017. Т.19, №1. С.49–56.
31. Эйдельштейн М. В., Сухорукова М. В., Склеенова Е. Ю. и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Pseudomonas aeruginosa в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014. // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2017. Т.19, №1. С.37–41.

32. Каменева О. А., Морозова С. Е., Пунченко О. Е. и др. Этиологическая структура и антибиотикорезистентность возбудителей внебольничных инфекций мочевыводящих путей в Санкт-Петербурге, 2013–2015 гг. // Антибиотики и химиотерапия. 2017. Т.62, №9–10. С.19–26.
33. Козлова Н. С., Баранцевич Н. Е., Косякова К. Г. и др. Чувствительность к антибиотикам энтеробактерий, выделенных в стационарах двух районов Санкт-Петербурга. // Проблемы медицинской микологии. 2017. Т.19, №1. С.34–42.
34. Эсауленко Н. Б., Каменева О. А., Косякова К. Г. и др. Нозокомиальные инфекции и микробиологический мониторинг в многопрофильных лечебных учреждениях. // Медицинский алфавит. 2018. Т.2, №35. С.14–19.
35. Mal P.B., Farooqi J., Irfan S., et al. Reduced susceptibility to chlorhexidine disinfectant among New Delhi metallo-beta-lactamase-1 positive Enterobacteriaceae and other multidrug-resistant organisms: Report from a tertiary care hospital in Karachi, Pakistan. // Indian J. Med. Microbiol. 2016. Vol.34, N3. P.346–349.
36. Vijayakumar R., Sandle T., Al-Aboody M.S., et al. Distribution of biocide resistant genes and biocides susceptibility in multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii – A first report from the Kingdom of Saudi Arabia. // J. Infect. Public. Health. 2018. Vol.11, N6. P.812–816.
37. Azadpour M., Nowroozi J., Goudarzi G.R., Mahmoudvand H. Presence of qacEΔ1 and cepA genes and susceptibility to a hospital biocide in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae in Iran. // Trop. Biomed. 2015. Vol.32, N1. P.109–115.
38. Babaei M., Sulong A., Hamat R., et al. Extremely high prevalence of antiseptic resistant Quaternary Ammonium Compound E gene among clinical isolates of multiple drug resistant Acinetobacter baumannii in Malaysia. // Ann. Clin. Microbiol. Antimicrob. 2015. Vol.14. P.11.
39. Romão C., Miranda C.A., Silva J., et al. Presence of qacEΔ1 gene and susceptibility to a hospital biocide in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa resistant to antibiotics // Curr. Mircobiol. 2011. Vol.63, N1. P.16–21.
40. Abuzaid A., Hamouda A., Amyes S.G. Klebsiella pneumoniae susceptibility to biocides and its association with cepA, qacΔE and qacE efflux pump genes and antibiotic resistance. // J. Hosp. Infect. 2012. Vol.81, N2. P.87–91.
41. Gomaa F.A.M., Helal Z.H., Khan M.I. High prevalence of blaNDM-1, blaVIM, qacE, and qacEΔ1 genes and their association with decreased susceptibility to antibiotics and common hospital biocides in clinical isolates of Acinetobacter baumannii. // Microorganisms. 2017. Vol.5, N2. Pii. E18.
42. Liu W.J., Fu L., Huang M., et al. Frequency of antiseptic resistance genes and reduced susceptibility to biocides in carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii. // J. Med. Microbiol. 2017. Vol.66, N. P.13–17.
43. Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. // J. Antimicrob. Chemother. 2005. Vol.56, N1. P.20–51.
44. Косякова К. Г. Методологические проблемы определения чувствительности микроорганизмов к дезинфектантам и антисептикам. // Клинико-лабораторный консилиум. 2014. Т.1, №48. С.67–70.

References

1. Kozlov RS. Nosocomial infections: epidemiology, pathogenesis, prevention, control. Clinical microbiology and antimicrobial chemotherapy. 2000;2(1):16–22 (In Russ).
2. Pokrovsky VI, Akimkin VG, Briko NI, et al. Nosocomial infections: New vistas in their prevention. Epidemiology and Infection Diseases. 2011;1:4–7 (in Russ).
3. Pokrovsky VI, Akimkin VG, Briko NI, et al. The national concept of prevention of infections associated with the provision of medical care, and information material on its provisions. Nizhny Novgorod, 2012; 84 (In Russ).
4. Naygovzina NB, Popova AYu, Biryukova EE, et al. Optimization of the system of measures to control and prevent infections associated with the provision of medical care in the Russian Federation. Bulletin of ORGZDRAV. 2018;1(11):17–26 (In Russ).
5. World Health Organization. Regional office for Europe. 13.11.2017: Every infection prevented is an antibiotic treatment avoided. Available at: http://www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/news/news/2017/11/every-infection-prevented-is-an-antibiotic-treatment-avoided.
6. Friedrich AW. Control of hospital acquired infections and antimicrobial resistance in Europe: the way to go. Wien Med Wochensch. 2019 Feb;169(Suppl 1):25–30. doi: 10.1007/s10354-018-0676-5.
7. Gabrielyan NI, Sharapchenko SO, Drabkina IV, et al. Gram-negative hospital pathogens at risk of severe bacterial infection. Medical Alphabet. Review. 2019;1(15):31–5 (In Russ).
8. Principles of organizing of monitoring of the resistance of leading infectious agents associated with the provision of medical care to antimicrobial drugs in medical health organizations. Federal clinical guidelines. M., 2014 (In Russ).
9. Tets GV, Artyomenko NK, Tets VV, et al. Sensitivity of bacteria isolated from patients with nosocomial infection to antiseptic drug multicide. Medical Alphabet. Epidemiology and Higiene. 2016;1(6):38–41 (In Russ).
10. Cassir N, Rolain J, Brouqui P. A new strategy to fight antimicrobial resistance: the revival of old antibiotics. Front Microbiol. 2014 Oct 20;5:551. doi: 10.3389/fmicb.2014.00551
11. Gentry LO. Future developments in nosocomial infections: the perspective in the United States. J Hosp Infect. 1990 Apr;15(Suppl A):3–12.
12. Kramer A, Schwebke I, Kampf G. How long do nosocomial pathogens persist on inanimate surfaces? A systematic review. BMC Infect Dis. 2006 Aug;6:130.
13. Who publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. Available at: https://www.who.int/ru/news-room/detail/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed).
14. McCann E, Srinivasan A, DeRyke CA, et al. Carbapenem-nonsusceptible Gram-negative pathogens in ICU and non-ICU settings in US hospitals in 2017: a multicenter study. Open Forum Infect Dis. 2018 Sep 21;5(10):ofy241. doi: 10.1093/ofid/ofy241.
15. SanPiN 2.1.3.2630-10. Sanitary requirements for organizations engaged in medical activities, approved by Resolution of Chief State Sanitary Doctor of the Russian Federation № 58. 18May2010. Moscow; 2010 (In Russ).
16. Assessment of the susceptibility to disinfectants of microorganisms circulating in medical organizations: Methodical instructions. M.: Federal Service for Surveillance on Consumer Rights Protection and Human Wellbeing, 2017 (In Russ).
17. Kazama H, Hamashima H, Sasatsu M, Arai T. Distribution of the antiseptic-resistance genes qacE and qacEΔ1 in Gram-negative bacteria. FEMS Microbiol Lett. 1998 Feb;159(2);173–8.
18. Kucken D, Heinz-Hubert F, Kaukfers PM Association of qacE and qacEΔ1 with multiple resistance to antibiotics and antiseptics in clinical isolates of Gram-negative bacteria. FEMS Microbiol. Lett. 2000 Feb 1;183(1):95–8.
19. Paulsen IT, Littlejohn TG, Radstrom P, et al. The 3′ conserved segment of integrons contains a gene associated with multidrug resistance to antiseptics and disinfectants. Antimicrob Agents Chemother. 1993 Apr;37(4):761–8.
20. Paulsen IT, Brown MH, Skurray RA. Proton-dependent multidrug efflux systems. Microbiol Rev. 1996 Dec;60(4):575–608.
21. Dyatlov IA, Detusheva EV, Mitsevich IP, et al. Sensitivity and formation of stability to antiseptics and disinfectants in hospital infections. Bacteriology. 2017;2(2):48–58 (In Russ)
22. Kvashnina DV, Kovalishena OV. Prevalence of microbial resistance to chlorhexidine: a systematic review and analysis of regional monitoring. FCM. 2018;3(1):63–71 (In Russ)
23. Russell AD. Do biocides select for antibiotic resistance? J Pharm Pharmacol. 2000 Feb;52(2):227–33.
24. Stickler DJ. Susceptibility of antibiotic-resistant Gram-negative bacteria to biocides: a perspective from the study of catheter biofilms. Symp Ser Soc Appl Microbiol. 2002;(31):163–70.
25. Fang CT, Chen HC, Chuang YP, et al. Cloning of a cation efflux pump gene associated with chlorhexidine resistance in Klebsiella pneumoniae. Antimicrob Agents Chemother. 2002 Jun;46(6):2024-8. doi: 10.1128/aac.46.6.2024-2028.2002
26. Wang C, Cai P, Cuo Y, Mi Z. Distribution of the antiseptic-resistance gene qacEDelta1 in 331 clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa in China. J Hosp Infect. 2007 May;66(1):93–5. doi: 10.1016/j.jhin.2007.01.012
27. Determination of the susceptibility of microorganisms to antimicrobial drugs. Clinical guidelines. Version 2018–03. M., 2018 (In Russ)
28. EUCAST intrinsic resistance and exceptional phenotypes, Expert Rules version 3.1.26. September 2016. Available at: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Expert_Rules/Expert_rules_intrinsic_exceptional_V3.1.pdf.
29. Sukhorukova MV, Eidelstein MV, Skleenova EYu, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Acinetobacter spp. isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON» 2013–2014. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2017;19(1):42–48 (In Russ).
30. Sukhorukova MV, Eidelstein MV, Skleenova EYu, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacteriaceae isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON» 2013–2014. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2017;19(1):49–56 (In Russ)
31. Sukhorukova MV, Eidelstein MV, Skleenova EYu, et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Pseudomonas aeruginosa isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON» 2013–2014. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy. 2017;19(1):37–41 (In Russ)
32. Kameneva OA, Morosova SE, Punchenko OE, et al. The etiological structure and antibiotic resistance of pathogens of community-acquired infections of the urinary tract in St. Petersburg, 2013–2015. Antibiotics and Chemotherapy. 2017;62(9–10):19–26 (In Russ).
33. Kozlova NS, Barantsevich NE, Kosyakova KG, et al. Susceptibility to antibiotics in Enterobacteriaceae isolated in hospitals of two different districts of St. Petersburg. Problems of Medical Mycology. 2017;19(1):34–42 (In Russ).
34. Esaulenko NB, Kameneva OA, Kosyakova KG, et al. Nosocomial infections and microbiological monitoring in multidisciplinary medical institutions. Medical alphabet. 2018;2(35):14–9 (In Russ).
35. Mal PB, Farooqi J, Irfan S, et al. Reduced susceptibility to chlorhexidine disinfectant among New Delhi metallo-beta-lactamase-1 positive Enterobacteriaceae and other multidrug-resistant organisms: Report from a tertiary care hospital in Karachi, Pakistan. Indian J Med Microbiol. 2016 Jul-Sep;34(3):346–9. doi: 10.4103/0255-0857.188338.

36. *Vijayakumar R, Sandle T, Al-Aboody MS, et al. Distribution of biocide resistant genes and biocides susceptibility in multidrug-resistant Klebsiella pneumoniae, Pseudomonas aeruginosa and Acinetobacter baumannii – A first report from the Kingdom of Saudi Arabia. J Infect Public Health. 2018 Nov-Dec;11(6):812–6. doi: 10.1016/j.jiph.2018.05.011.*
37. *Azadpour M, Nowroozi J, Goudarzi GR, Mahmoudvand H. Presence of qacEΔ1 and cepA genes and susceptibility to a hospital biocide in clinical isolates of Klebsiella pneumoniae in Iran. Trop Biomed. 2015 Mar;32(1):109–15.*
38. *Babaei M, Sulong A, Hamat R, et al. Extremely high prevalence of antiseptic resistant Quaternary Ammonium Compound E gene among clinical isolates of multiple drug resistant Acinetobacter baumannii in Malaysia. Ann Clin Microbiol Antimicrob. 2015 Mar 11;14:11. doi: 10.1186/s12941-015-0071-7*
39. *Romão C, Miranda CA, Silva J, et al. Presence of qacEΔ1 gene and susceptibility to a hospital biocide in clinical isolates of Pseudomonas aeruginosa resistant to antibiotics. Curr Mircobiol. 2011 Jul;63(1):16–21. doi: 10.1007/s00284-011-9934-0*
40. *Abuzaid A, Hamouda A, Amyes SG. Klebsiella pneumoniae susceptibility to biocides and its association with cepA, qacΔE and qacE efflux pump genes and antibiotic resistance. J Hosp Infect. 2012 Jun;81(2):87–91. doi: 10.1016/j.jhin.2012.03.003*
41. *Gomaa FAM, Helal ZH, Khan MI. High prevalence of blaNDM-1, blaVIM, qacE, and qacEΔ1 genes and their association with decreased susceptibility to antibiotics and common hospital biocides in clinical isolates of Acinetobacter baumannii. Microorganisms. 2017 Apr 12;5(2). pii: E18. doi: 10.3390/microorganisms5020018*
42. *Liu WJ, Fu L, Huang M, et al. Frequency of antiseptic resistance genes and reduced susceptibility to biocides in carbapenem-resistant Acinetobacter baumannii. J Med Microbiol. 2017 Jan;66(1):13–7. doi: 10.1099/jmm.0.000403*
43. *Poole K. Efflux-mediated antimicrobial resistance. J Antimicrob Chemother. 2005 Jul;56(1):20–51. doi: 10.1093/jac/dki171*
44. *Kosyakova KG. Methodological problems of determination of the susceptibility of microorganisms to disinfectants and antiseptics. Clinical and Laboratory Consultation. 2014;1(48):67–70 (In Russ).*

Об авторах

- **Карина Георгиевна Косякова** – к. м. н., доцент кафедры медицинской микробиологии Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова»; врач-бактериолог Детской городской больницы № 22, Санкт-Петербург, 195067, Пискаревский пр., д. 47. +7(812) 543-01-95, karina.kosyakova@szgmu.ru.
- **Николай Борисович Эсауленко** – заведующий отделением микробиологических исследований Главного военного клинического госпиталя им. Н. Н. Бурденко. Москва, 105229, Госпитальная пл., 3. +7 (499)263-55-55, доп. 5497, back.lab@yandex.ru.
- **Ольга Анатольевна Каменева** – заведующая централизованной специализированной бактериологической лабораторией Детской городской больницы № 22, Санкт-Петербург, 196657, Колпино, Заводской пр., д. 1. +7 (812)573-94-11, kameneva_olga@mail.ru.
- **Сергей Петрович Казаков** – д. м. н., главный лаборант госпиталя, начальник Центра клинической лабораторной диагностики Главного военного клинического госпиталя им. Н. Н. Бурденко; заведующий кафедрой иммунологии Российской медицинской академии непрерывного профессионального последипломного образования. kazakovsp@yahoo.com
- **Анна Юрьевна Дубинина** – студентка Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова». medicinelive73@gmail.com.
- **Елена Юрьевна Мезина** – студентка Северо-Западного государственного медицинского университета им. И. И. Мечникова. mezina96@gmail.com.
- **Андрей Алексеевич Зайцев** – д. м. н., профессор, главный пульмонолог Министерства обороны РФ, главный пульмонолог Главного военного клинического госпиталя им. Н. Н. Бурденко, Москва 105229, Госпитальная пл., 3. +7 (499) 263-10-47, a-zaicev@yandex.ru.

Поступила: 05.08.2020. **Принята к печати:** 15.10.2020.

Контент доступен под лицензией CC BY 4.0.

About the Authors

- **Karina G. Kosyakova** – Cand. Sci. (Med.), associate professor of Medical Microbiology Department of I.I. Mechnikov North-Western State Medical University; Bacteriologist of Children's Municipal Hospital № 22., 47 Piskarevskii pr., Saint-Petersburg, 195067, Russia.+7(812) 543-01-95, karina.kosyakova@szgmu.ru. ORCID 0000-0002-9900-5332.
- **Nikolai B. Esaulenko** – Head of Microbiological Diagnostics Department, Burdenko military clinical hospital, Moscow. +7 (499) 263-55-55 (+5497). back.lab@yandex.ru,
- **Olga A. Kameneva** – Head of Microbiological laboratory of Children's Municipal Hospital № 22, Saint-Petersburg. +7(812)573-94-11, kameneva_olga@mail.ru.
- **Sergei P. Kazakov** – Dr. Sci. (Med.), Head of Clinical laboratory diagnostics center, Burdenko military clinical hospital, Moscow; Head of Immunology Department of Russian Medical Academy of Postgraduate Education, Moscow. kazakovsp@yahoo.com.
- **Anna Yu. Dubinina**– student of I. I. Mechnikov North-Western State Medical University. medicinelive73@gmail.com.
- **Elena Yu. Mezina** – student of I. I. Mechnikov North-Western State Medical University. mezina96@gmail.com.
- **Andrey A. Zaitsev** – MD, professor, Main Pulmonologist of Ministry of Defence, Main Pulmonologist of Burdenko military clinical hospital, Moscow. +7 (499) 263-10-47, a-zaicev@yandex.ru.

Received: 05.08.2020. **Accepted:** 15.10.2020.

Creative Commons Attribution CC BY 4.0.