

УДК: 001.8:[579.84:616.24-002:616.98:578.834.1 Coronavirus](571.620-25)"2020/2022"

МОНИТОРИНГ НЕФЕРМЕНТИРУЮЩИХ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЕЙ В СТАЦИОНАРАХ ГОРОДА ХАБАРОВСКА В ПЕРИОД ПАНДЕМИИ COVID-19 (МАЙ 2020 - ИЮНЬ 2022 гг.)

А.О. Голубева, А.П. Бондаренко, О.Е. Троценко, О.Н. Огиенко

ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора, г. Хабаровск, Россия

*В работе представлены результаты микробиологического изучения 301 клинического изолята неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ), выделенных от 1740 больных пневмонией, находящихся в четырех стационарах г. Хабаровска в период пандемии COVID-19 (май 2020 - июнь 2022 гг.). Проанализированы уровни выделения и структура возбудителей, а также резистентность 15 наименований НГОБ к антимикробным лекарственным средствам. Установлено, что в структуре НГОБ, выделенных в данный период, ведущими патогенами являлись *Acinetobacter baumannii* (59,5%), *Pseudomonas aeruginosa* (21,6%) и *Stenotrophomonas maltophilia* (7,0%). На долю остальных 12 видов приходилось 11,9 %. Определен высокий уровень доли карбапенем-резистентных штаммов.*

Ключевые слова: *пневмония, больные, нозофарингеальные мазки, мокрота, аутопсийный материал, неферментирующие грамотрицательные бактерии (НГОБ), антибиотикорезистентность*

MONITORING OF NON-FERMENTING GRAM-NEGATIVE BACTERIA ISOLATED FROM PATIENTS SUFFERING FROM PNEUMONIA IN HOSPITALS OF Khabarovsk CITY DURING COVID-19 PANDEMIC (MAY 2020 – JUNE 2022)

A.O. Golubeva, A.P. Bondarenko, O.E. Trotsenko, O.N. Ogienko

FBUN Khabarovsk research institute of epidemiology and microbiology of the Federal service for surveillance on consumers rights protection and human wellbeing (Rosпотребнадзор), Khabarovsk, Russia

*Current research presents results of microbiological evaluation of 301 samples of non-fermenting Gram-negative bacteria (NGOB) isolated from 1740 patients suffering from pneumonia and underwent treatment in four hospitals of Khabarovsk city during COVID-19 pandemic (May 2020 – June 2022). Levels of bacterial shedding and pathogen structure as well as antimicrobial drug resistance of 15 NGOs. It was revealed that *Acinetobacter baumannii* (59.5%), *Pseudomonas aeruginosa* (21.6%) and *Stenotrophomonas maltophilia* (7.0%) were predominant in the structure of NGOs isolated during the period of observation. Other pathogens totaled 11.9%. High levels of carbapenem-resistant strains were detected.*

Key words: *pneumonia, patients, nasopharyngeal smears, sputum, autopsy material, non-fermenting Gram-negative bacteria (NGOB), antimicrobial drug resistance*

Введение

В последние годы возросла частота выявления у пациентов, находящихся на стационарном лечении и особенно в реанимационных отделениях (РАО), неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ), существенно расширился их видовой состав [13]. Грамотрицательные неферментирующие бактерии являются одними из ведущих возбудителей нозокомиальных инфекций (НИ) и выделяют их, как правило, у лиц с предрасполагающим факторами (иммунодефициты, предшествующая антибиотикотерапия, искусственная вентиляция легких (ИВЛ), злокачественные новообразования и др.) [16]. В больничных условиях патогены накапливаются на влажных поверхностях и различных медицинских устройствах (респираторах, увлажнителях, аппаратах ИВЛ, катетерах и т.д.), которые служат потенциальным резервуаром инфекции. Представители НГОБ вызывают раневую инфекцию любой локализации, катетер-ассоциированные инфекции, циститы, отиты, менингиты, остеомиелиты, абсцессы внутренних органов, генерализованную инфекцию (сепсис). По данным литературы, среди НГОБ доминируют представители родов *Pseudomonas*, *Acinetobacter*, *Stenotrophomonas* [12].

P. aeruginosa (синегнойная палочка) - один из «традиционных» возбудителей гнойно-септических заболеваний и осложнений, на долю которого приходилось около 30% случаев внутрибольничных инфекций (ВБИ) [15]. Синегнойная палочка и другие НГОБ в небольшом количестве содержатся в составе нормальной микрофлоры человека в кишечнике, слизистой носоглотки, на коже. Поэтому не исключено эндогенное происхождение инфекций, вызванных этой группой бактерий. Синегнойная палочка обладает целым комплексом механизмов развития резистентности к антибиотикам. В настоящее время распространенность устойчивости к карбапенемам среди *P. aeruginosa*, по данным различных исследований, составляет от 22 до 95,9% [15].

В клиническом материале, наряду с *P. aeruginosa* и *Acinetobacter spp.* (которые с 2017 г. официально стали относиться к разряду опасных бактерий), все чаще обнаруживаются микроорганизмы *Stenotrophomonas maltophilia*, *Burkholderia cepacia*, *Moraxella spp.*, *Chryseobacterium spp.* и др., о роли которых в этиологии заболеваний человека известно крайне мало [13,12]. За исключением *Burkholderia pseudomallei* - возбудителя конкретной нозологической формы - мелиоидоза, все остальные НГОБ вызывают оппортунистические инфекции без определенной локализации и патномоничных симптомов. Вызовет ли *Acinetobacter spp.* или *Stenotrophomonas spp.* пневмонию или сепсис, зависит от места внедрения возбудителя, и в первую очередь - от защитных сил организма пациента [5]. Необходимо отметить, что достоверно часто культуры неферментирующих грамотрицательных бактерий (НГОБ) выделяют от пациентов с лабораторно подтвержденным COVID-19 ($p < 0,05$), преимущественно *P. aeruginosa* и *A. baumannii* [10]. Оптимизация методов диагностики (использование баканализатора Vitek 2 Compact 30) позволяет чаще выявлять данные необычные патогены, характеризующиеся природной видовой устойчивостью и приобретенной множественной лекарственной устойчивостью, а также рядом других свойств.

Несмотря на то, что НГОБ относятся к различным родам и видам, они обладают общими характеристиками. Общее свойство представителей данной группы микроорганизмов - неспособность к ферментации глюкозы в анаэробных условиях [1]. Наиболее сходными их признаками являются природная устойчивость ко многим антибиотикам, наличие межклеточной сигнальной системы «quorum sensing» (регулирующей продукцию факторов патогенности), способность к образованию биопленки (структура и физиологические свойства которой обеспечивают выживание в агрессивной среде, повышение устойчивости к антибиотикам, дезинфектантам) и распространение в стационарах от пациента к пациенту, часто посредством рук медицинского персонала, а также при использовании медицинского оборудования. Постоянное обсеменение госпитальной среды носителями инфекции, разнообразие механизмы устойчивости бактерий к антимикробным препаратам и способность длительно персистировать в окружающей среде позволяют этим микроорганизмам быстро адаптироваться в больничной среде [16]. Обнаружение *Chryseobacterium indologenes*, *Elizabethkingia meningoseptica*, *Comamonas testasteroni* в клинических пробах пациентов стационара (мокрота, назофарингеальные мазки) свидетельствует о циркуляции в больничной среде указанных патогенов, имеющих отношение к ИСМП.

В отличие от терапии синегнойной инфекции, пока не разработано эффективных, с высокой степенью доказательности схем антибактериальной терапии для заболеваний, обусловленных другими неферментирующими грамотрицательными микроорганизмами. Для Российской Федерации характерна высокая частота данной инфекции, что обуславливает необходимость организации идентификации НГОБ, мониторинга эпидемиологической ситуации и поиска новых антибиотиков [7].

Особый интерес представляет изучение одного из представителей НГОБ - *Achromobacter xylosoxidans*. В последнее время *A. xylosoxidans* считается внутрибольничным патогеном, вызывающим различные инфекции, включая бактериемию, менингит, пневмонию и перитонит, а также инфекции мочевыводящих путей, абсцессы, остеомиелит и эндокардит искусственных клапанов, особенно у пациентов с ослабленным иммунитетом [19, 33, 30, 28, 22]. Накопились данные о выделении *A. xylosoxidans* из различных клинических образцов, включая кровь, спинномозговую, плевральную, перитонеальную жидкость, гной, мочу, мазки из глаз, ушей и глотки. Хотя его естественная среда обитания неизвестна, этот микроорганизм часто обнаруживается в нестерильной дистиллированной воде и растворах хлоргексидина в больницах [38]. Эти микроорганизмы часто обладают высокой устойчивостью к различным антибиотикам, включая β -лактамы, хинолоны, аминогликозиды и карбапенемы, которые обычно используются для лечения инфекции легких у пациентов с муковисцидозом [25].

Таксономическое положение *A. xylosoxidans* соответствует следующей иерархии: тип *Proteobacteria* – класс *Betaproteobacteria* – порядок *Burkholderiales* – семейство *Alcaligenaceae* – род *Achromobacter* – вид *A. xylosoxidans* [18]. Видовая структура рода *Achromobacter* продолжает изменяться. Практически ежегодно публикуются описания новых видов ахромобактерий. По информации экспертов альтернативной таксономической организации International Committee on Systematics of Prokaryotes (ICSP), по публикациям в научных журналах и в базе данных Genome Taxonomy Database (GTDB) известно, что в настоящее время существует более двух десятков видов, геномных видов и вариантов, принадлежащих к роду *Achromobacter* [14]. *Achromobacter* – род, относящийся к группе

неферментирующих грамотрицательных бактерий. Это микроорганизмы, большинство из которых определяются как «появляющиеся» (англ. emerging), вызывают инфекционные заболевания, случаи которых увеличились в последние десятилетия и имеют тенденцию к росту в будущем [2]. Термин «эмерджентный или восходящий патоген» регулярно применяется в отношении *Achromobacter spp.* По данным статистики PubMed, в 2021 г. было опубликовано 66 научных работ, касающихся изучения клинических изолятов *Achromobacter spp.* В 11 из них (17%) ахромобактерии были названы эмерджентными патогенами. Удивительно, что 34 года назад частота употребления термина «эмерджентный» в отношении *Achromobacter* была примерно такой же: в 1987 г. это определение встречается в 14% публикаций, посвященных клиническим штаммам ахромобактерий. А заболеваемость, связанная с *Achromobacter spp.*, в конце 1980-х гг. была выше, чем сейчас. В 1987 г. ахромобактерии высеивались из мокроты у 16,9% пациентов с муковисцидозом, тогда как современные ахромобактерии контаминируют дыхательные пути больных муковисцидозом в 7 – 11% случаев [34]. На основании этого, как следует из последних публикаций, термин «эмерджентный» в отношении *Achromobacter* в XXI в. применять уже поздно, а широкое распространение этого термина связано с недостаточной информированностью о клинической роли ахромобактерий в прежние годы [14]. Роль бактерий рода *Achromobacter* в инфекционном процессе неоднозначна. С одной стороны, представители *Achromobacter spp.* не принадлежат к числу ведущих оппортунистических патогенов, с другой стороны, штаммы *Achromobacter spp.* расцениваются как критически опасные патогены при муковисцидозе [34, 29, 27, 14] и могут вызывать фатальные инфекции [35, 26, 17]. Несмотря на относительно небольшой процент выделения от пациентов (8–11%), виды *Achromobacter spp.* относят к группе, несущей самую большую угрозу для больных [34].

Наличие *Achromobacter spp.* в дыхательных путях пациента существенно повышает риск смерти или необходимости трансплантации легких, по сравнению со случаями, когда *Achromobacter spp.* не обнаруживается [34]. Количество летальных исходов у хирургических пациентов при *Achromobacter* - ассоциированных инфекциях может достигать 16–25% [32]. Установлено, что уровень воспаления, вызванного *A. xylosoxidans* при муковисцидозе, подобен тому, который вызывает *P. aeruginosa*. Это говорит о существовании у *A. xylosoxidans* внушительного, но еще неизученного вирусного арсенала [23]. Штаммы вида *A. xylosoxidans* обладают природной устойчивостью к ампициллину и амоксициллину, цефотаксиму и цефтриаксону, азтреонаму, эртапенему [20]. Растущий интерес к *Achromobacter spp.* нашел отражение в прогрессивном увеличении количества публикаций в мировой научной периодике [14].

В настоящее время в базе данных *Achromobacter* MLST, содержащей информацию из 14 стран, представлено 19 видов, за исключением самого последнего по времени регистрации – *A. sediminum* [36]. Среди изолятов чаще всего встречаются представители видов *A. xylosoxidans* (40,3%), *A. ruhlandii* (17,6%), *A. insuavis* (12,6%), *A. dolens* (10,9%) [2]. Контроль за *Achromobacter spp.* позволил зафиксировать внутрибольничные вспышки инфекции, вызванной этим микроорганизмом в Греции в 2004 г., в Италии в 2008 – 2010 гг., в Бельгии в 2007 г., в Дании в 2005 – 2009 гг. [24, 37, 21, 31]. Разработано типирование *Achromobacter* по сиквенс-типам [3, 4].

Achromobacter spp. у российских пациентов представлен 5 видами: *A. xylosoxidans*, *A. ruhlandii*, *A. marplatensis*, *A. dolens*, *A. pulmonis*, и 1 геномной группой. Преобладающим является вид *A. ruhlandii*, обнаруженный у 58,5% пациентов, инфицированных *Achromobacter spp.* [2].

Обобщение указанных литературных данных и накопленный нами опыт бактериологической диагностики в период пандемии COVID-19 дали возможность определить и охарактеризовать ведущие патогены, отнесенные к неферментирующим грамотрицательным бактериям, у больных пневмониями.

Цель исследования: анализ выявляемости и структуры изолятов НГОБ, уровня резистентности к антимикробным препаратам штаммов, выделенных из различного биоматериала больных пневмонией в стационарах города Хабаровска в период пандемии COVID-19.

Материалы и методы

Материалом для исследования послужили 1740 проб клинического материала, полученного из четырех лечебно-профилактических учреждений г. Хабаровска от больных пневмонией в период пандемии COVID-19 (май 2020 г. - июнь 2022 г.). В том числе: 1305 проб - респираторные образцы (744 пробы мокроты и 561 нозофарингеальный мазок), а также 435 проб аутопсийного материала (ткань легкого) от лиц с летальным исходом болезни (табл.1).

Таблица 1.

Объем выполненных исследований по выделению НГОБ от больных пневмонией в стационарах города Хабаровска (май 2020 - июнь 2022 гг.)

Клинический материал	Число исследований			Всего исследований в 2020-2022 гг.
	2020г.	2021г.	2022г.	
Мокрота	435	232	77	744
Мазок	104	313	144	561
Аутопсийный материал	-	265	170	435
Всего проб:	539	810	391	1740
Всего изолятов:	40	157	104	301

Исследование клинических проб от больных выполнялось классическим бактериологическим методом. Идентификация выделенных патогенов проводилась по морфологическим, культуральным и биохимическим признакам, а также на баканализаторе Vitek 2 Compact 30 с помощью идентификационных карт GN (для идентификации клинически значимых грамотрицательных бактерий).

Определение антибиотикочувствительности проводили в соответствии с Клиническими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к antimикробным препаратам» диско-диффузионным методом [11] и с помощью баканализатора Vitek 2 Compact 30 (использовали карты AST-N360 для определения чувствительности клинически значимых грамотрицательных патогенов к antimикробным препаратам). Учет чувствительных и резистентных форм бактерий выполняли согласно требованиям EUCAST 12.0. [20]. Для получения данных рассчитывался доверительный интервал (95% ДИ).

Результаты и обсуждение

В течение 2020-2022 г. из респираторных образцов и аутопсийного материала был выделен 301 клинический изолят НГОБ, в том числе 40 – в 2020 г., 157 – в 2021 г. и 104 – в 2022 г. Меньшее число изолятов НГОБ, относящихся к 2020 г. (40 штаммов), связано с отсутствием исследования аутопсийного материала в этот период (табл.1). Из мокроты выделены 103 изолята, из назофарингеальных мазков – 60 изолятов и из аутопсийного материала – 138 изолятов.

Сравнительный анализ высеваемости НГОБ из различных клинических образцов (табл. 2) показал следующее: самая низкая частота высеваемости НГОБ была из назофарингеальных мазков (60 изолятов из 561 пробы-10,7%), выше - из мокроты (103 изолята из 744 проб-13,8%), самый высокий показатель был определен при исследовании аутопсийного материала (138 изолятов из 435 проб-31,7%). Суммарный, по всем образцам, показатель высеваемости составлял 17,3%. В дальнейшем анализе мокрота и назофарингеальные мазки были объединены в группу «респираторные образцы».

Таблица 2.

Частота выявления НГОБ из различных клинических проб больных пневмонией в г. Хабаровске (май 2020 г. - июнь 2022 г.) (N=1740)

Клинический образец	Всего проб	Всего изолятов	В том числе:														
			<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	<i>Acinetobacter baumannii</i>	<i>Acinetobacter junii</i>	<i>Acinetobacter ursingii</i>	<i>Burkholderia mallei</i>	<i>Chryseobacterium indologenum</i>	<i>Comamonas testasteroni</i>	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	<i>Pseudomonas luteola</i>	<i>Pseudomonas mendocina</i>	<i>Pseudomonas putida</i>	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	<i>Stenotrophomonas</i>
			абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %
мокрота	744	103 13,8	1 0,2%	54 7,3%	2 0,2%	2 0,1%	1 0,1%	2 0,3%	1 0,1%	2 0,1%	20 2,7%	1 0,2%	0 0,0%	1 0,1%	1 0,1%	4 0,3%	11 1,5%
Назофарингеальный мазок	561	60 10,7%	0 0,0%	34 6,1%	2 0,4%	0 0,0%	0 0,0%	6 1,1%	1 0,2%	0 0,0%	8 1,4%	1 0,2%	0 0,0%	0 0,0%	1 0,2%	2 0,4%	5 0,9%
аутопсийный материал	435	138 31,7%	3 0,7%	91 20,9%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	37 8,5%	1 0,2%	1 0,2%	0 0,0%	0 0,0%	0 0,0%	5 1,1%
Всего:	1740	301 17,3%	4 0,2%	179 10,3%	4 0,2%	2 0,1%	1 0,1%	8 0,5%	2 0,1%	2 0,1%	65 3,7%	3 0,2%	1 0,1%	1 0,1%	2 0,1%	6 0,3%	21 1,2%

301 изолят НГОБ, выделенный в рамках проведенного исследования в целом за период пандемии, включал 15 видов: *Achromobacter xylosoxidans*, *Acinetobacter baumannii*, *Acinetobacter junii*, *Acinetobacter*

netobacter ursingii, *Burkholderia mallei*, *Chryseobacterium indologenes*, *Comamonas testosteroni*, *Elizabethkingia meningoseptica*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Pseudomonas fluorescens*, *Pseudomonas luteola*, *Pseudomonas mendocina*, *Pseudomonas putida*, *Sphingomonas paucimobilis*. *Stenotrophomonas maltophilia*.

Как следует из таблиц 2 и 3, в тройку наиболее часто встречающихся бактерий вошли штаммы с достаточным патогенным потенциалом из группы НГОБ – *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*. Уровень выделения «классических» НГОБ из респираторных образцов в 2020 – 2022 гг. составил для *A. baumannii* - 3,2-2,9-24,9%, *P. aeruginosa* 2,0-2,9-0,5%, *S. maltophilia* - 0,9-1,5-1,4% соответственно 2020, 2021 и 2022 годам. Из аутопсийного материала НГОБ выделяли значительно чаще: *P. aeruginosa* – в 9,4-7,1% случаев, *A. baumannii* – в 26,0-12,9% случаев соответственно в 2021, 2022 гг. Частота выделения *S. maltophilia* в аутопсийном материале была также низкой (0,8-1,8% в 2021-2022 гг.) (табл. 3).

Следует отметить, что в динамике наблюдения частота выделения ведущего патогена *A. baumannii* увеличилась из респираторных образцов и снизилась при исследовании аутопсийного материала. Это свидетельствует о снижении этиологической роли *A. baumannii* при пневмониях с летальным исходом. Уровни выделения прочих НГОБ как из респираторных образцов, так и из аутопсийного материала в период наблюдения оставались невысокими (0,2-1,4%).

При этом максимальное число видов НГОБ было выделено в 2021 г (13 видов), против 8 в 2020 г. и 7 в 2022 г. (табл. 2), что может быть связано с улучшением диагностических навыков и приемов исследования. Следует также отметить, что ведущие возбудители (*A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*), а также *A. xylosoxidans*, *P. luteola*, *P. fluorescens* выявляли во всех клинических образцах. *E. meningoseptica*, *C. indologenes*, *B. mallei*, *P. mendocina*, *P. putida*, *S. paucimobilis*, *A. ursingii*, *A. junii*, *C. testosteroni* – только в респираторных образцах. Выделение выше перечисленных возбудителей НГОБ в аутопсийном материале свидетельствует об их достаточном патогенном потенциале, сопровождающем летальный исход заболеваний.

По данным многочисленных публикаций, внутрибольничные инфекции, вызванные устойчивыми штаммами бактерий, характеризуются более высокой частотой смертельных исходов по сравнению с заболеваниями, вызванными чувствительными микроорганизмами. Эксперты придают особое значение проблеме карбапенем-резистентных возбудителей в связи с отсутствием на сегодняшний день альтернативных антибиотиков для лечения пациентов при таких инфекциях [15].

В таблице 3 представлен сравнительный анализ частоты выделения carb R (карбапенем-резистентных) штаммов НГОБ, выделенных от больных пневмонией в г. Хабаровске в мае 2020 - июне 2022 г. Уровень выявления карбапенем-резистентных вариантов среди штаммов *P. aeruginosa* из респираторных образцов был невысоким (0,5-25%) и значительно выше из аутопсийного материала (44-66,7%). Для *A. baumannii* доля carb R штаммов из респираторных образцов в разные годы составила от 47,1 до 81,3% случаев, из аутопсийного материала - 92,8-100%. Среди *S. maltophilia* доля carb R штаммов составила 25-100% в респираторных и 50-100% в аутопсийных образцах. Таким образом, НГОБ с высокой долей carb R штаммов при пневмониях наиболее часто выделяли из аутопсийного материала, полученного от больных с летальным исходом болезни. Карбапенем-резистентные штаммы зарегистрированы также среди *C. indologenes*, *S. paucimobilis*, *E. meningoseptica*, *P. fluorescens*, *P. luteola*.

Таблица 3.

Состав возбудителей, частота выявления и доля carb R штаммов НГОБ, выделенных из респираторных образцов (n=1305) и аутопсийного материала (n=435) от больных пневмонией в г. Хабаровске в мае 2020 - июне 2022 г. (n= 1740)

№ п/п	Наименование штамма	2020 г.				2021 г.				2022 г.			
		респираторный образец N=539		аутопсийный материал N=0		респираторный образец N=545		аутопсийный материал N=265		респираторный образец N=221		аутопсийный материал N=170	
		Число выделенных изолятов	доля carb R	Число выделенных изолятов	доля carb R	Число выделенных изолятов	доля carb R	Число выделенных изолятов	доля carb R	Число выделенных изолятов	доля carb R	Число выделенных изолятов	доля carb R
абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	абс. %	
1	<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	1 0,2% [0,0-0,8]	0	0	0	0	0	3 1,1% [0,2-2,7]	0	0	0	0	0
2	<i>Acinetobacter baumannii</i>	17 3,2% [1,9-4,9]	8 47,1% [24,6-70,3]	0	0	16 2,9% [1,7-4,5]	13 81,3% [59,3-96,0]	69 26,0% [20,8-31,3]	64 92,8% [86,6-98,9]	55 24,9% [19,2-30,6]	41 74,5% [63,0-86,1]	22 12,9% [8,3-18,3]	22 100,0%
3	<i>Acinetobacter junii</i>	0	0	0	0	2 0,4% [0,0-1,1]	0	0	0	2 0,9% [0,1-2,6]	0	0	0
4	<i>Acinetobacter ursingii</i>	1 0,2% [0,0-0,8]	0	0	0	1 0,2% [0,0-0,8]	0	0	0	0	0	0	0
5	<i>Burkholderia mallei</i>	1 0,2% [0,0-0,8]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
6	<i>Chryseobacterium indologenes</i>	2 0,4% [0,0-1,1]	1 50,0% [0,9-99,2]	0	0	3 0,6% [0,1-1,4]	3 100,0%	0	0	3 1,4% [0,3-3,4]	2 66,7% [14,4-99,8]	0	0
7	<i>Comamonas testosteroni</i>	0	0	0	0	2 0,2% [0,0-1,1]	0	0	0	0	0	0	0
8	<i>Elizabethkingia meningoseptica</i>	0	0	0	0	2 0,4% [0,0-1,1]	2 100,0%	0	0	0	0	0	0
9	<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	11 2,0% [1,0-3,4]	2 18,2% [2,1-45,1]	0	0	16 2,9% [1,7-4,5]	4 25,0% [7,6-48,3]	25 9,4% [6,2-13,2]	11 44,0% [25,5-63,4]	1 0,5% [0,0-1,9]	0	12 7,1% [3,7-11,4]	8 66,7% [38,8-89,4]

10	<i>Pseudomonas fluorescens</i>	0	0	0	0	1 0,2% [0,0-0,8]	0	1 0,4% [0,0-1,5]	1 100%	1 0,5% [0,0-1,9]	0	0	0
11	<i>Pseudomonas luteola</i>	0	0	0	0	0	0	1 0,4% [0,0-1,5]	1 100%	0	0	0	0
12	<i>Pseudomonas mendocina</i>	0	0	0	0	1 0,2% [0,0-0,8]	0	0	0	0	0	0	0
13	<i>Pseudomonas putida</i>	2 0,4% [0,0-1,1]	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
14	<i>Sphingomonas paucimobilis</i>	0	0	0	0	4 0,7% [0,2-1,6]	2 50,0% [8,5-91,5]	0	0	2 0,9% [0,1-2,6]	0	0	0
15	<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	5 0,9% [0,3-1,9]	0	0	0	8 1,5% [0,7-2,7]	2 25,0% [3,1-58,4]	2 0,8% [0,1-2,2]	1 50,0% [0,9-99,2]	3 1,4% [0,3-3,4]	3 100,0%	3 1,8% [0,4-4,3]	3 100,0%
Итого изолятов:		40	11	0	0	56	26	101	78	67	46	37	33

Примечание:

N- количество исследованных проб

carb R – устойчивость к карбапенемам

В квадратных скобках указан 95 % доверительный интервал (ДИ)

Рисунок 1 отображает структуру НГОБ (301 изолят), выделенных из всех клинических проб за весь период наблюдения. Как следует из рисунка 1, *A. baumannii* определял 59,5% всех выделенных изолятов НГОБ. Следующие позиции занимали изоляты *P. aeruginosa* (21,6%), *S. maltophilia* (7,0%), *C. indologenes* (2,7%). Все остальные виды НГОБ составляли от 1,3% до 0,3% в сумме выделенных за три года изолятов.

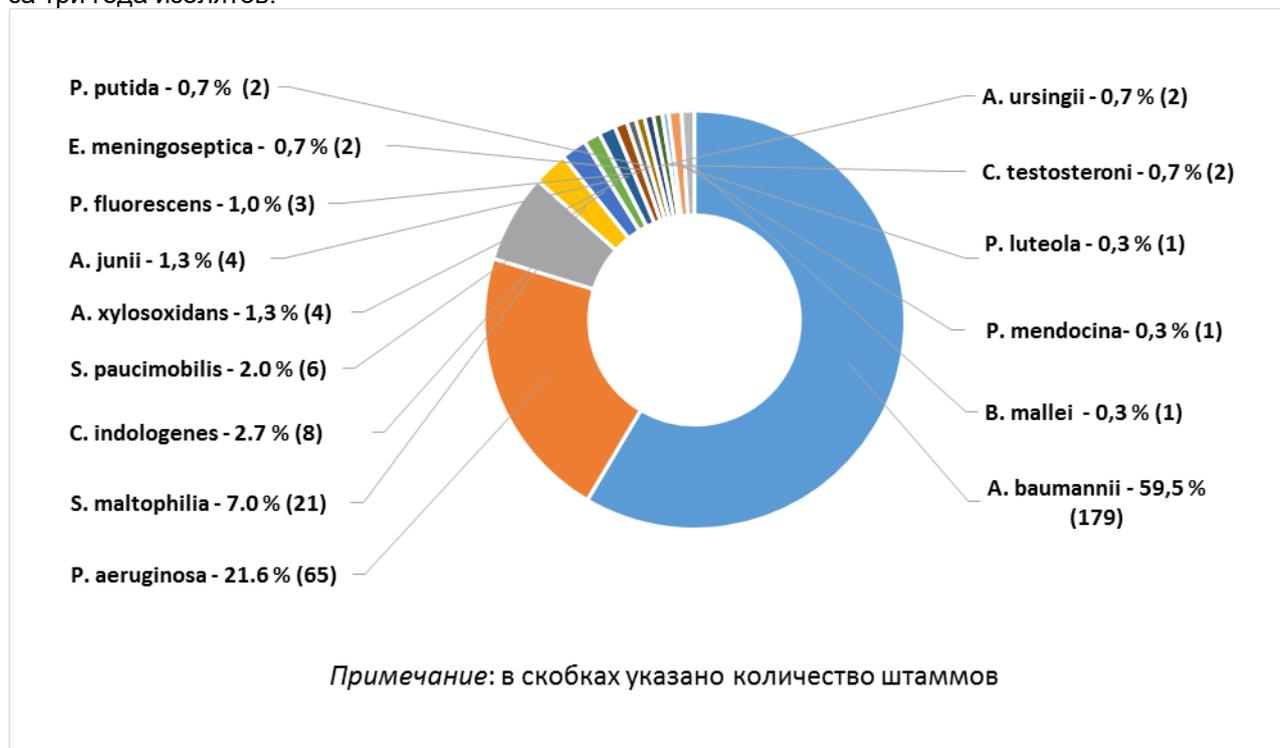


Рис.1. Структура изолятов НГОБ, выделенных при пневмониях из различного клинического материала (суммарные данные) за период май 2020-июнь 2022 гг. (N=301)

Наш опыт диагностики показывает, что поиск НГОБ как «эмерджентных патогенов» сдерживает сложность выделения и идентификации штаммов этой группы по некоторым фенотипическим и морфологическим признакам. В частности, дифференциация *A. xylosoxidans* и *P. aeruginosa*, а также прочих псевдомонад оказалась затруднительной (табл. 4).

Таблица 4.

Пример сложности идентификации НГОБ по некоторым фенотипическим и морфологическим признакам

Вид микроорганизма	Наличие пигмента	Наличие запаха	Оксидазный тест	Подвижность	Определение ферментации глюкозы	Маннит	Цитрат натрия
<i>Achromobacter xylosoxidans</i>	-	-	+	+ слабая	-/-	-	+
<i>Pseudomonas spp.</i>	+/-	+/-	+	+ поверхностный рост	-/-	-	+

Achromobacter относится к группе микроорганизмов, которые сложно идентифицировать фенотипическим методом. Особенно сложно идентифицировать ранние культуры (48 ч.), для них возможна ложная идентификация как *Bordetella*, *Pseudomonas*, *Burkholderia*. Увеличение времени культивирования до 72 ч. снижает риск микст-идентификации [2]. Виды *Achromobacter* являются слабо-растущими, прихотливыми, нуждающимися в атмосфере CO₂, аэробными НГОБ, которые часто ошибочно идентифицируют с помощью рутинных лабораторных тестов, что серьезно ставит под угрозу меры инфекционного контроля. Введение в лабораторную практику баканализатора Vitek 2, масс-спектрометров, методов молекулярной диагностики значительно повышает диагностические возможности лабораторий [2, 8].

Заключение

НГОБ продолжают оставаться наиболее значимой проблемой при лечении больных пневмонией в инфекционных стационарах, в том числе в отделениях реанимации и интенсивной терапии. По материалам проведенных исследований, ведущими патогенами в структуре НГОБ при пневмониях в г. Хабаровске в период 2020-2022 гг. являлись *A. baumannii* (59,5%), *P. aeruginosa* (21,6%) и *S. maltophilia* (7,0%). Определен высокий уровень выявления карбапенем-резистентных штаммов, выделенных из респираторных образцов. Для *A. baumannii* - 47,1% - 81,3% - 74,5%, для *P. aeruginosa* - 18,2%-25,0%-0% в 2020-2022 гг. соответственно. Этот показатель был значительно выше для штаммов, выделенных из аутопсийного материала: для *A. baumannii* - 81,3%-100,0%, а для *P. aeruginosa* - 44,0%-66,7% в 2020-2022 гг. соответственно.

Результаты анализа антибиотикочувствительности показали, что для успешной и эффективной терапии остается актуальным выделение возбудителя и определение индивидуальной чувствительности культур к применяемым антимикробным препаратам, а также проведение мониторинга за резистентностью [6]. Полученные данные позволяют заключить, что наиболее эффективными антибиотиками в отношении анализируемой группы микроорганизмов являются колистин, амикацин, гентамицин.

Одним из важнейших условий борьбы с инфекциями, вызванными НГОБ, является организация системы постоянного микробиологического мониторинга в ЛПУ. В специализированных отделениях, где лечат таких больных, должна применяться более жесткая система противоэпидемических мероприятий, направленных на борьбу с нозокомиальными инфекциями [16]. Главный практический вывод заключается в том, что существует острая необходимость разработки доступных и качественных методов быстрой видовой идентификации *Achromobacter spp.* и других неферментирующих грамотрицательных бактерий [14]. Нельзя исключать указанные патогены из значимых возбудителей и, при необходимости, важно проводить коррекцию схем лечения в соответствии с выделенным патогеном. Важным звеном современного инфекционного контроля должен быть молекулярно-биологический мониторинг для своевременного выявления новых эпидемических штаммов [9].

Литература

1. Боронина Л.Г., Кукушкина М.П., Крутова К.В. и др. Род *Chryseobacterium* (Flavobacterium): клиническое значение, идентификация, чувствительность к антибиотикам // КМАХ. – 2003. – Т. 5, № 3. – С. 195-298.
2. Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н. и др. Разнообразие и опасность *Achromobacter spp.*, поражающих дыхательные пути больных муковисцидозом // Пульмонология. – 2015. – Т. 25, № 4. – С. 389-402.
3. Воронина О.Л., Кунда М.С., Рыжова Н.Н. и др. Закономерности селекции полигостальных убиквитарных микроорганизмов на примере представителей трех таксонов // Молекулярная биология. – 2015. – Т. 49, № 3. – С. 430–441. DOI: 10.7868/S0026898415030179.
4. Воронина О.Л., Чернуха М.Ю., Шагинян И.А. и др. Характеристика генотипов штаммов *Burkholderia sensu lato* complex, выделенных от больных в стационарах Российской Федерации // Молекулярная генетика, микробиология и вирусология. – 2013. – Т. 2. – С. 20–30.
5. Демиховская Е.В. Неферментирующие бактерии в аспекте множественной антибиотикорезистентности возбудителей внутрибольничных инфекций // Болезни и антибиотики. – 2012 г. – Т.1, № 6. – С. 1-6.
6. Зайцева В.Н., Рогачева Т.А., Анисько Л.А. и др. Анализ распространенности неферментирующих грамотрицательных бактерий и их резистентности к антимикробным препаратам // Клиническая инфектология и паразитология. – 2020. – Т. 9, № 2. – С. 151-160.
7. Красовский С.А., Никонова В.С., Каширская Н.Ю. и др. Клинико-генетическая, микробиологическая и функциональная характеристика больных муковисцидозом, проживающих в Москве и Московской области // Вопросы современной педиатрии. – 2013. – Т. 12, №1. С – 24–30.
8. Махмутова В.Р., Гембицкая Т.Е., Черменский А.Г. и др. Мониторинг инфицирования и резистентности *Achromobacter xylosoxidans* у взрослых пациентов с муковисцидозом // РМЖ. Медицинское обозрение. – 2021. – Т.7. – С. 462-467.
9. Национальный консенсус (2-е изд-е) «Муковисцидоз: определение, диагностические критерии, терапия» / Под ред. Е.И. Кондратьевой, Н.Ю. Каширской, Н.И. Капранова. – 2018. – С. 47-52.
10. Попова А.Ю., Ежлова Е.Б., Демина Ю.В. и др. Этиология внебольничных пневмоний в период эпидемического распространения COVID-19 и оценка риска возникновения пневмоний, связанных с оказанием медицинской помощи // Здоровье населения и среда обитания. – 2021. – Т. 29, №7. – С. 67-75. <https://doi.org/10.35627/2219-5238/2021-29-7-67-75>
11. Рекомендации МАКМАХ «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» Версия 2021-01.

12. Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Фаращук А.Н. и др. Неферментирующие грамотрицательные возбудители нозокомиальных инфекций в ОРИТ России: проблемы антибиотикорезистентности // КМАХ. – 2006. – Т. 8, №3. – С. 243-260.
13. Хасанова Г.Ф., Мавзютов А.Р., Мирсаяпова И.А. и др. Этиологическое значение и антибиотикочувствительность неферментирующих грамотрицательных бактерий в клинической практике // Медицинский вестник Башкортостана. – 2012. – Т. 7, № 1. – С. 63-65.
14. Чеботарь И.В., Бочарова Ю.А. Загадочный *Achromobacter* // КМАХ. – 2022. – Т. 24, №1. – С.4-13. DOI: 10.36488/смас.2022.1.4-13.
15. Черненькая Т.В., Годков М.А. «Проблемные» полирезистентные бактерии — возбудители внутрибольничных инфекций у пациентов в критических состояниях (обзор литературы) // Журнал им. Н.В. Склифосовского «Неотложная медицинская помощь». – 2015. – Т.3. – С. 30-35.
16. Шагинян И.А., Чернуха М.Ю. Неферментирующие грамотрицательные бактерии в этиологии внутрибольничных инфекций: клинические, микробиологические и эпидемиологические особенности // Болезни и возбудители. – 2005. – Т. 7, № 3. – С. 271-285.
17. Asano K., Tada S., Matsumoto T. et al. A novel bacterium *Achromobacter xylosoxidans* as a cause of liver abscess: three case reports // J. Hepatol. – 2005. – Vol.43, № 2. – P. 362-365. DOI: 10.1016/j.jhep.2005.03.031.
18. Busse H.-J., Auling G. *Achromobacter* // In: Bergey's Manual of Systematics of Archaea and Bacteria. – 2015. – DOI: 10.1002/9781118960608.gbm00926.
19. Duggan J., Goldstein S., Chenoweth C. et al. *Achromobacter xylosoxidans* Bacteremia: Report of Four Cases and Review of the Literature // Clinical Infectious Diseases. – 1996. – Vol. 23, № 3. – P. 569–576. <https://doi.org/10.1093/clinids/23.3.569>.
20. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Intrinsic Resistance and Unusual Phenotypes. Version 3.3, October 2021. – https://www.eucast.org/clinical_breakpoints, Accessed January 2022.
21. Frans de Baets F., Schelstraete P., van Daele S. et al. *Achromobacter xylosoxidans* in cystic fibrosis: prevalence and clinical relevance // J. Cyst. Fibros. – 2007. – Vol. 6, № 1. – P.75–78.
22. Gradon J.D., Mayer A.R., J. Hayes Pulmonary abscess associated with *Alcaligenes xylosoxidans* in a patient with AIDS // Clin. Infect. Diseases. – 1993. – Vol. 17, №6. – P. 1071-1072.
23. Hansen C.R., Pressler T., Nielsen K.G. et al. Inflammation in *Achromobacter xylosoxidans* infected cystic fibrosis patients // J. Cyst. Fibros. – 2010. – Vol.9, №1. – P. 51-58. DOI: 10.1016/j.jcf.2009.10.005.
24. Kanellopoulou M., Pournaras S., Iglezos H. et al. Persistent colonization of nine cystic fibrosis patients with an *Achromobacter* (*Alcaligenes*) *xylosoxidans* clone // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 2004. – Vol. 23, № 4. – P. 336–339.
25. Magni A., Trancassini M., Varesi P. et al. *Achromobacter xylosoxidans* Genomic Characterization and Correlation of Randomly Amplified Polymorphic DNA Profiles of Cystic Fibrosis Patients // J. Clin. Microbiol. – Vol. 48, № 4. – P. 1035 – 1039.
26. Marion-Sanchez K., Lion F., Olive C., et al. Mediastinitis superinfected by *Achromobacter xylosoxidans*. A case report // Journal of Infection and Chemotherapy. – 2018. – Vol. 24. – P. 987-989.
27. Marsac C., Berdah L., Thouvenin G. et al. *Achromobacter xylosoxidans* airway infection is associated with lung disease severity in children with cystic fibrosis // ERJ Open Research. – 2021. – Vol. 7, № 2. – P. 00076-2021. DOI:10.1183/23120541.00076-2021.
28. Morrison A.J., Boyes K. Peritonitis due to *Alcaligenes denitrificans* subsp. *xylosoxydans*: a clinical case and review of the literature // J. Clin. Microbiol. – 1986. – Vol. 24. – P. 879-881.
29. Peltroche-Llacsahuanga H., Haase G., Kentrup H. Persistent airway colonization with *Alcaligenes xylosoxidans* in two brothers with cystic fibrosis [letter] // Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis. – 1998. – Vol. 17, № 2 – P. 132–134.
30. Reverdy M.E., Freney J., Fleurette J. et al. Nosocomial colonization and infection by *Achromobacter xylosoxidans* // J. Clin. Microbiol. – 1984. – Vol.19, №2. – P. 140–143. – DOI: 10.1128/jcm.19.2.140-143.1984.
31. Ridderberg W., Bendstrup K.E., Olesen H.V. et al. Marked increase in incidence of *Achromobacter xylosoxidans* infections caused by sporadic acquisition from the environment // J. Cyst. Fibros. – 2011. – Vol. 10. – P. 466 – 469.
32. Ronin E., Derancourt C., Cabié A. *Achromobacter* spp. Surgical site infections: a systematic review of case reports and case series // Microorganisms. – 2021. – Vol.9, № 12. DOI: 10.3390/microorganisms9122471.
33. Sindhu S. *Achromobacter* meningitis in the newborn // J. Singapore Paediatr. Soc. – 1971. – Vol.13, №1. – P. 31-36.
34. Somayaji R., Stanojevic S., Tullis D.E. et al. Clinical outcomes associated with *Achromobacter* species infection in patients with cystic fibrosis //Annals of the American Thoracic Society. – 2017. – Vol. 4, № 9. – P. 1412-1418 DOI: 10.1513/AnnalsATS.201701-071OC.

35. Swenson C.E., Sadikot R.T. Achromobacter respiratory infections // Annals of the American Thoracic Society. – 2015. – Vol.12. – P. 252-258. DOI: 10.1513/AnnalsATS.201406-288FR.
36. The Main Site PubMLST of the Faculty of Zoology. Great Britain, Oxford: Oxford of University. https://pubmlst.org/bigdb?db=pubmlst_achromobacter_isolates
37. Trancassini M., Iebba V., Citera N. et al. Outbreak of Achromobacter xylosoxidans in an Italian Cystic fibrosis center: genome variability, biofilm production, antibiotic resistance, and motility in isolated strains // Front. Microbiol. – 2014. – Vol. 5. – P. 138.
38. Yabuuchi E., Yano I. Achromobacter gen. nov. and Achromobacter xylosoxidans (ex Yabuuchi and Ohyama 1971) norn. rev // Int. J. Syst. Bacteriol. – 1981. – Vol. 31, № 4. – P. 477–478.

Сведения об ответственном авторе:

Голубева Александра Олеговна – младший научный сотрудник лаборатории бактериальных инфекций ФБУН Хабаровский НИИ эпидемиологии и микробиологии Роспотребнадзора;
e-mail: baclab_hniiem@bk.ru
