

©КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2018

УДК 579.252.55.83.1

Шамина О. В.¹, Крыжановская О. А.¹, Лазарева А. В.¹, Поликарпова С. В.², Карасёва О. В.³, Чеботарь И. В.¹,
Маянский Н. А.¹

СРАВНЕНИЕ МЕТОДОВ ОПРЕДЕЛЕНИЯ УСТОЙЧИВОСТИ К КОЛИСТИНУ У КАРБАПЕНЕМРЕЗИСТЕНТНЫХ ШТАММОВ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

¹ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский центр здоровья детей» Минздрава РФ, 119991, Москва, Россия;

²ГБУЗ «Городская клиническая больница № 15 им. О. М. Филатова» Департамента здравоохранения города Москвы, 111539, Москва, Россия;

³ГБУЗ «Научно-исследовательский институт неотложной детской хирургии и травматологии» Департамента здравоохранения города Москвы, 119180 Москва, Россия

В последние годы из-за широкого распространения карбапенемаз среди штаммов Klebsiella pneumoniae всё чаще назначается антибиотик группы резерва - колистин. Определение чувствительности к данному противомикробному препарату в повседневной практике имеет ряд сложностей в связи с катионными свойствами молекулы и плохой диффузией в агар. В связи с этим рекомендуется использовать эталонный метод микроразведений (ММР) в бульоне для определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) колистина.

Целью исследования являлось определение чувствительности к колистину выборки карбапенемрезистентных (карба-Р) штаммов K. pneumoniae, выделенных от пациентов трёх стационаров г. Москвы 2012-2016 г. г., методом микроразведений (ММР) и сравнение полученных данных с эпилотрическим методом (Е-тест) и баканализатором VITEK 2 Compact. Доля резистентных изолятов (МПК > 2 мг/л) составила 52%, 39%, 35% для указанных методов соответственно. Оба коммерческих метода продемонстрировали высокие уровни очень существенной ошибки (Very major error, VME): 26% для метода Е-тестов и 34% для VITEK 2 Compact. Значения категорического и полного согласия (Categorical agreement, CA; Essential agreement, EA) не превысили 90%. Единичная существенная ошибка (Major error, ME) выявлена для VITEK 2 Compact.

Результаты обоих коммерческих тестов для определения МПК колистина показали различия с результатами эталонного ММР. Клиническим лабораториям необходимо иметь в виду данные несоответствия и с осторожностью использовать Е-тесты и баканализатор VITEK 2 Compact при определении чувствительности к колистину.

Ключевые слова: колистин; метод микроразведений в бульоне; Е-тест; Vitek 2; Klebsiella pneumoniae.

Для цитирования: Шамина О. В., Крыжановская О. А., Лазарева А. В., Поликарпова С. В., Карасёва О. В., Чеботарь И. В., Маянский Н. А. Сравнение методов определения устойчивости к колистину у карбапенемрезистентных штаммов Klebsiella pneumoniae. Клиническая лабораторная диагностика. 2018;63 (10): 646-650. DOI:<http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-10-646-650>

Shamina O. V.¹, Kryzhanovskaya O. A.¹, Lazareva A. V.¹, Polikarpova S. V.², Karaseva O. V.³, Chebotar I. V.¹, Mayanskiy N. A.¹

THE COMPARISON OF METHODS FOR DETERMINATION OF COLISTIN SUSCEPTIBILITY IN CARBAPENEM-RESISTANT *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

¹Federal state autonomous institution «National Medical Research Center for Children's Health» of the Russian Federation Ministry of Health, 119991, Moscow, Russia;

²State Budgetary Healthcare Institution «Municipal Clinical Hospital № 15 named O.M. Filatov» Department of Health of Moscow, 111539, Moscow, Russia;

³State Budgetary Healthcare Institution «Research Institute of Emergency Pediatric Surgery and Traumatology» Department of Health of Moscow, 119180, Moscow, Russia

In recent years, because of carbapenemase spreading in Klebsiella pneumoniae strains, the antibiotic of reserve group, colistin, is increasingly prescribed. In vitro testing of colistin susceptibility in everyday practice has a number of difficulties due to the cationic properties of molecule and weak diffusion into agar. Therefore it is recommended to use the reference Broth Microdilution Method (BMD) for determination of the Minimum Inhibitory Concentration (MIC) for colistin.

The purpose of the study was to determine susceptibility to colistin in 119 carbapenem-resistant K. pneumoniae (CRKp) which were isolated from the patients at three hospitals in Moscow in 2012-2016 by the broth microdilution method (BMD) and to compare these data with the ones obtained by epsilometer test (E-test) and VITEK 2 Compact. The proportion of resistant isolates (MIC > 2 mg/L) was 52%, 39%, 35% respectively. Both commercial methods demonstrated a high level of the very major error (VME) that was 26% for the E-test method and 34% for the VITEK 2 Compact. The values of categorical agreement and essential agreement (CA, EA) were less than 90%. A single major error (ME) was detected for the VITEK 2 Compact.

In conclusion, results of both commercial tests for determination of MIC for colistin showed differences with the results of the reference BMD. It is necessary for clinical laboratories to be aware about this discrepancy and to use E-tests and VITEK 2 Compact with caution to determine colistin susceptibility.

Key words: colistin; broth microdilution method; E-test; Vitek 2; Klebsiella pneumoniae.

For citation: Shamina O.V., Kryzhanovskaya O.A., Lazareva A.V., Polikarpova S.V., Karaseva O.V., Chebotar I.V., Mayanskiy N.A. The comparison of methods for determination of colistin susceptibility in carbapenem-resistant Klebsiella pneumoniae. Klinicheskaya Laboratornaya Diagnostika (Russian Clinical Laboratory Diagnostics). 2018;63 (10): 646-650 (in Russ.)

DOI:<http://dx.doi.org/10.18821/0869-2084-2018-63-10-646-650>

For correspondence: *Shamina O.V.*, Junior Researcher of the Laboratory department; e-mail: olga.shamina@inbox.ru

Information about authors:

Shamina O.V., <https://orcid.org/0000-0003-4260-1229>

Lazareva A.V., <https://orcid.org/0000-0001-7149-5387>

Chebatar I.V., <https://orcid.org/0000-0002-6691-2171>

Polikarpova S.V., <https://orcid.org/0000-0003-3201-0804>

Kryzhanovskaya O.A., <https://orcid.org/0000-0001-7242-3019>

Karaseva O.V., <https://orcid.org/0000-0001-9418-4418>

Mayanskiy N.A., <https://orcid.org/0000-0001-8077-5313>

Conflict of interests. *The authors declare the absence of conflict of interests.*

Acknowledgment. *The study had no sponsor support.*

Received 20.07.2018
Accepted 30.07.2018

Klebsiella pneumoniae является наиболее клинически значимым микроорганизмом рода *Klebsiella*. Она чаще всего колонизирует желудочно-кишечный тракт, кожные покровы, носоглотку, может вызывать такие тяжёлые инфекционные процессы, как некротизирующая пневмония и гнойные абсцессы печени [1].

Частота выделения *K. pneumoniae* среди представителей семейства *Enterobacteriaceae* из года в год сохраняет лидирующие позиции и составляет более 50% по данным многоцентровых исследований МАРАФОН [2; 3]. Результаты многоцентрового исследования «ЭРГИНИ» показали доминирование грамотрицательных микроорганизмов (57,6%) среди возбудителей нозокомиальных инфекций, выделенных у детей, из которых 12,1% приходилось на *K. pneumoniae* [4].

Американское десятилетнее исследование SMART, в котором с 2002 по 2011 г. изучалось распространение резистентности микроорганизмов к антибиотикам [5], и Сингапурское исследование 2013 г. Molton с соавт. [6], направленное на изучение распространённости микроорганизмов с множественной лекарственной устойчивостью (МЛУ), показали, что от 20 до 80% изолятов *K. pneumoniae* устойчивы к антибиотикам первой линии, включая цефалоспорины, фторхинолоны, аминогликозиды, что приводит к трудностям в выборе этиотропной терапии.

Серьёзной проблемой в лечении инфекционных заболеваний является распространение среди грамотрицательных микроорганизмов штаммов, продуцирующих карбапенемазы, смертность от которых достигает от 23% до 75% [4; 7]. В сообщении «Противомикробная резистентность: глобальный отчёт по эпиднадзору 2014» сделан вывод о том, что устойчивость *K. pneumoniae* к карбапенемам распространилась практически по всем регионам мира, а в некоторых странах данная группа антибиотиков не работает уже в более чем половине случаев нозокомиальных инфекций [8].

Группа полимиксинов, а именно колистин, вызывает значительный интерес в лечении заболеваний, вызванных карбапенемрезистентными (карба-Р) грамотрицательными бактериями, поскольку сохраняет активность в отношении данных возбудителей [9]. В связи с этим изучение чувствительности патогенов к данной группе антибиотиков имеет важное значение для рациональной терапии инфекционных заболеваний, особенно для госпитализированных пациентов [10; 11].

Важность корректного определения минимальной подавляющей концентрации (МПК) колистина обусловлена необходимостью расчёта его дозировки. Это особенно важно для лечения пациентов с почечной недостаточностью, так как колистин обладает нефротоксичностью [12]. В зарубежных исследованиях сообщается, что не-

правильное назначение низких концентраций колистина может индуцировать переход чувствительных субпопуляций бактерий в категорию резистентных. По этой причине разработка надёжных методов определения чувствительности является одной из приоритетных задач [13; 14].

Европейский комитет по определению чувствительности к антимикробным препаратам (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing - EUCAST) и Институт клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institute - CLSI) рекомендуют метод микроразведений (ММР) в бульоне для определения МПК колистина [15; 16]. Из-за трудоёмкости метода во многих клинических лабораториях в повседневной практике для определения чувствительности к колистину используются другие методы: диско-диффузионный, автоматизированный (баканализаторы) и эпсилотрический (Е-тесты). Молекула полимиксинов обладает катионными свойствами и поэтому плохо диффундирует в агар, что может приводить к методологическим ошибкам в определении чувствительности и, как следствие, к назначению неадекватной антимикробной терапии [12].

Цель работы – определить чувствительность к колистину с помощью ММР и сравнить полученные данные с рутинными методами определения резистентности: Е-тестами и автоматическим баканализатором VITEK 2 Compact.

Материал и методы. В период с 2012 по 2016 г. была собрана коллекция карба-Р штаммов *K. pneumoniae* из двух детских и одного взрослого учреждений г. Москвы. Видовую идентификацию полученных микроорганизмов проводили на масс-спектрометре MALDI-ToF-MS Biotyper MicroFlex (Bruker, Германия) и баканализаторе VITEK 2 Compact (BioMérieux, Франция). Выделенные штаммы хранили при температуре -80° С.

Определение чувствительности к аминогликозидам (гентамицин, нетилмицин, амикацин), ципрофлоксацину, фосфомицину проводили на автоматизированном баканализаторе VITEK 2 Compact (BioMérieux). Для определения МПК к меропенему, имипенему использовали метод Е-тестов (BioMérieux) на среде Мюллера-Хинтона (Bio Rad, Франция). Результаты интерпретировали, руководствуясь оценочными критериями EUCAST [16].

МПК к колистину определяли методом Е-тестов (BioMérieux) на среде Мюллера-Хинтона (Bio Rad), в баканализаторе VITEK 2 Compact (BioMérieux) и с помощью ММР в бульоне в соответствии с Национальным стандартом Российской Федерации (ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010) в круглодонных 96-луночных планшетах. Согласно критериям EUCAST [16], пограничные значения МПК колистина для *K. pneumoniae* составляют: чувствительные ≤ 2 мг/л, резистентные > 2 мг/л.

Для определения МПК с помощью ММР использовали

Формулы расчёта коэффициентов эффективности [17]

Коэффициент эффективности, %	Числитель	Знаменатель
Полное согласие (Essential agreement, EA)	Число изолятов с МПК, находящейся в пределах одного двукратного разведения от ММР	Всего изолятов
Категорийное согласие (Categorical agreement, CA)	Число изолятов с совпадающей интерпретацией результатов (совпадение резистентный с резистентным и чувствительный с чувствительным)	Всего изолятов
Существенная ошибка (Major error, ME)	Число изолятов, оцененных как резистентные тестируемым методом, но как чувствительные при помощи ММР	Число чувствительных штаммов, полученных с помощью ММР
Очень существенная ошибка (Very major error, VME)	Число изолятов, оцененных как чувствительные тестируемым методом, но как резистентные при помощи ММР	Число резистентных штаммов, полученных с помощью ММР

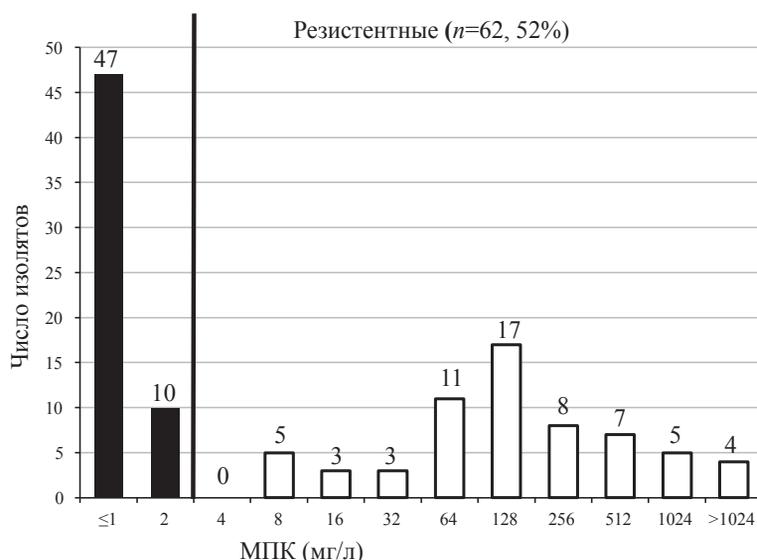


Рис. 1. Распределение МПК колистина карбапенем-резистентных штаммов *K. pneumoniae*, определенных методом микроразведений (ММР).

По оси абсцисс – минимальная подавляющая концентрация колистина (МПК), мг/л. По оси ординат – число изолятов *K. pneumoniae*.

субстанцию колистина в форме порошка (Sigma Aldrich, Германия). Для приготовления стокового раствора колистин растворяли в воде для инъекций до концентрации 25 мг/мл, полученные аликвоты хранили при -20° С. Основные растворы с концентрациями колистина 2048, 128, 8 мг/л готовили непосредственно перед тестированием путём добавления стокового раствора колистина (25 мг/мл) в бульон. Основные растворы доводили до рабочих концентраций 2-2048 мг/л путём добавления бульона и помещали в лунки планшета. Последние лунки в ряду использовали как положительный контроль роста для каждого проверяемого штамма, куда помещали бульон без антибиотика.

Инокулом с оптической плотностью 0,5 по стандарту McFarland готовили в бульоне с использованием суточной культуры *K. pneumoniae*, выращенной при 37° С на неселективной среде с добавлением 5% крови. Полученный инокулом разводили бульоном в соотношении 1:100 до концентрации 1x10⁶ КОЕ/мл и вносили по 50 мкл в лунки планшета, содержащего 50 мкл рабочего раствора колистина. Окончательная концентрация бактерий составила 5x10⁵ КОЕ/мл, рабочие концентрации антибиотика находились в диапазоне от 1 до 1024 мг/л.

Планшеты инкубировали при 37° С в течение 18±2 ч. Результаты учитывали при наличии достаточного роста микроорганизма в положительном контроле (явное пятно на дне лунки и помутнение бульона), используя камеру для визуального считывания результатов Sensititre Manual Viewer. Размер роста в каждой лунке сравнивали с размером роста в положительном контроле и наиболее низкую концентрацию антибиотика, которая полностью подавляла видимый рост, регистрировали как МПК. Для контроля использовали штамм *Escherichia coli* ATCC 25922. Значения МПК, полученные с помощью ММР, считали референсными.

Для сравнения ММР и методов Е-тестов и Vitek 2 Compact рассчитывали процент полного согласия (Essential agreement, EA), категорийного согласия (Categorical agreement, CA), очень существенной ошибки (Very major error, VME) и существенной ошибки (Major error, ME) при определении МПК колистина согласно [17]. Формулы расчёта данных коэффициентов представлены в табл. 1. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Microsoft Excel.

Результаты. В исследование вошло 119 карба-Р штаммов *K. pneumoniae*. Для всех изолятов выполнено определение чувствительности к колистину методом Е-тестов, на баканализаторе VITEK 2 Compact и с помощью ММР в бульоне. Диапазон значений МПК, определённых с помощью ММР в бульоне представлен на рис. 1. Доля колистинрезистентных (колистин-Р) изолятов с МПК>2 мг/л составила 52% (n=62). Доля резистентных изолятов, полученная методом Е-тестов и Vitek 2 Compact, составила 39% (n=46) и 35% (n=42) соответственно (табл. 2).

Для определения эффективности тестируемых методов определения МПК к колистину по сравнению с референсным ММР рассчитаны значения EA, CA, ME, VME; результаты представлены в табл. 2. Значение EA и CA не превысили 90% для обоих тестируемых методов. Частота очень существенной ошибки (VME) высока как для Е-тестов (26%), так и для VITEK 2 Compact (34%). Единичная существенная ошибка (ME) была выявлена для VITEK 2 Compact (2%).

По сравнению с референсным ММР частота ошибок при определении МПК к колистину методом Е-тестов и с помощью Vitek 2 Compact оказалась выше приемлемой (допустимые значения: EA>89,9%, CA>89,9%, VME<1,5% [при значении EA<95%] или VME<7,5% [при значении EA>95%], ME < 3%) [17].

При оценке результатов определения МПК колистина

Коэффициенты эффективности использования методов тестирования чувствительности к колистину по сравнению с референсным методом микроразведений (ММР)

Метод	Число чувствительных изолятов, n (%)	Число резистентных изолятов, n (%)	EA ¹ , n (%)	CA ² , n (%)	ME ³ , n (%)	VME ⁴ , n (%)
ММР	57 (48%)	62 (52%)				
Е-тесты	73 (61%)	46 (39%)	86 (72%)	103 (87%)	0	16 (26%)
VITEK 2 Compact	77 (65%)	42 (35%)	95 (80%)	97 (82%)	1 (2%)	21 (34%)

Примечание. 1 – EA (Essential agreement) - полное согласие; 2 – CA (Categorical agreement) - категорийное согласие; 3 – ME (Major error) - существенная ошибка; 4 – VME (Very major error) - очень существенная ошибка.

с помощью ММР у некоторых штаммов наблюдался прерывистый рост: лунки с достаточным ростом (помутнение бульона и явное пятно на дне лунки) чередовались с лунками без роста (прозрачный бульон, нет пятна на дне лунки) (рис. 2, ряды В, С, D). Штаммам с одной пропущенной лункой присваивалось значение МПК по наименьшей концентрации антибиотика, которая тормозила видимый рост, как и для штаммов с ростом без пропуска. Восемь штаммов с двумя и более пропущенными лунка-

ми повторно исследовались с помощью ММР, получены идентичные результаты с прерывистым ростом. Для исключения вероятности контаминации из лунок с максимальной МПК (рис. 2, лунки В8, С5) произведен посев и идентификация микроорганизма. Во всех восьми случаях рост дала *K. pneumoniae*. При определении МПК к колистину с помощью ММР все эти высевные культуры *K. pneumoniae* дали непрерывный рост в диапазоне высоких МПК от 32 до 512 мг/л. Данным штаммам присвоено значение МПК, определенное при повторном тестировании.

Данные о спектре чувствительности исследованных 119 карба-Р изолятов *K. pneumoniae* к антибиотикам представлены в табл. 3. Все исследованные штаммы проявили 100% резистентность к цефалоспорином III и IV поколений. Доля штаммов, нечувствительных к ципрофлоксацину, составила 94%, к фосфомицину - 95%, к тигециклину – 28%. В группе аминогликозидов устойчивость варьировала от 56% для амикацина до 91% для гентамицина.

Обсуждение. В исследовании проанализирована коллекция из 119 карба-Р изолятов *K. pneumoniae* из двух детских и одного взрослого учреждений г. Москвы, собранная в течение 2012-2016 гг. Доля резистентных к колистину штаммов составила 52%. В многоцентровом исследовании МАРАФОН тестировали смешанную группу карбапенем-чувствительных и карбапенем-нечувствительных изолятов *K. pneumoniae*. Частота резистентных к колистину штаммов составила 7,9% [3]. По данным исследований К.Сheu [18] и L.Rojas [19] доля резистентных к колистину карба-Р изолятов *K. pneumoniae* составила 13 и 33% соответственно.

Мы сравнили методы Е-тестов и VITEK 2 Compact с эталонным ММР для определения МПК к колистину у карба-Р изолятов *K. pneumoniae*. Оба тестируемых метода существенно занижают истинную долю колистин-Р изолятов. Для метода Е-тестов рассчитан процент очень существенной ошибки (VME) равный 26%, при котором 16 штаммов оценены как чувствительные данным методом и как резистентные с помощью ММР: коэффициенты полного согласия (EA) и категорийного согласия (CA) составили 72 и 87% соответственно. Другие исследования также показали разногласие между референсным ММР и другими методами определения МПК к колистину. VME для Е-тестов составила 41,5% по данным К. Daforoulou 2015 г. [20], коэффициенты EA и CA составили 48,8 и 56,1% соответственно. Похожие результаты получены в исследовании L.Rojas [19] - значение VME составило 35%. Отличные от рекомендаций [17] значения коэффициентов эффективности получены при определении МПК к колистину с помощью анализатора VITEK 2 Compact. Недостаточные значения показателей полного согласия (EA) и категорийного согласия (CA) (80% и 82%), высокая частота очень существенной ошибки (VME) (34%)

Таблица 3

Профиль чувствительности карбапенем-резистентных изолятов *K. pneumoniae*

Антибиотик	n	Критерий EUCAST (мг/л)		Доля резистентных изолятов, n (%)
		Ч ≤	Р >	
Тигециклин	79	1	2	20 (26%)
Гентамицин	119	2	4	108 (91%)
Нетилмицин	119	2	4	83 (70%)
Амикацин	119	8	16	66 (55%)
Ципрофлоксацин	118	0.5	1	110 (93%)
Фосфомицин	113	32	32	107 (95%)
Колистин (ММР)	119	2	2	62 (52%)

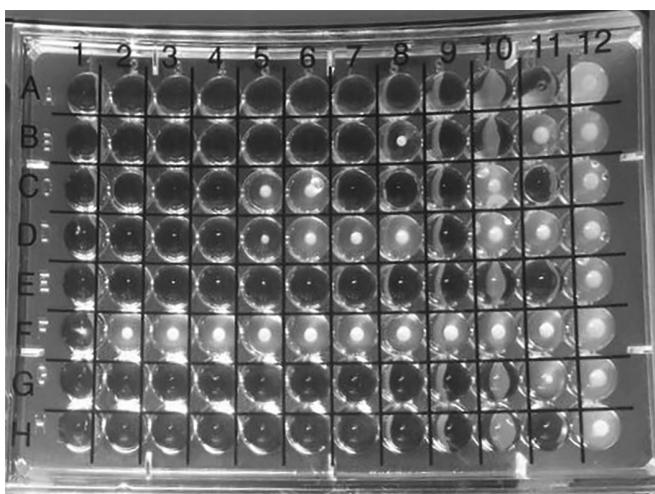


Рис. 2. Прерывистый и обычный рост карбапенем-резистентных штаммов *K. pneumoniae* при определении МПК к колистину методом микроразведений (ММР).

В каждом ряду лунки с 1 по 11 содержали двукратное разведение колистина в диапазоне от 1024 мг/л до 1 мг/л. Лунки 12 содержали бульон Мюллера-Хинтона без добавления антибиотика и использовались как положительный контроль роста для каждого штамма.

показали ненадежность данного метода для определения чувствительности к колистину. В зарубежной литературе этот метод не рекомендуют использовать для определения значений МПК к колистину [18, 21].

Определение чувствительности к колистину с помощью ММР в оптимальных условиях потребовало повторного тестирования у восьми штаммов *K. pneumoniae*. Трудности в определении МПК к колистину, а именно прерывистый рост культуры, описаны ранее [19, 22, 23]. Вероятно, это может быть связано с наличием гетерорезистентности к колистину у *K. pneumoniae* - феномена, описывающего вариабельность чувствительности к определенному антибиотику во внешне изогенной бактериальной популяции [12].

Заключение. В последние годы наблюдается рост устойчивости к колистину среди карба-Р штаммов *K. pneumoniae*, что ещё раз подчеркивает необходимость выбора правильного метода определения МПК. Наши результаты и приведённые данные литературы свидетельствуют о том, что ММР в бульоне является надежным методом для определения чувствительности к колистину, а значения МПК – наиболее достоверными.

Финансирование. Исследование не имело спонсорской поддержки.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

ЛИТЕРАТУРА (пп. 1, 5—7, 9, 12—14, 18-23 см. REFERENCES)

2. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» в 2011–2012 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2014; 16(4): 254-65.
3. Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Дехнич А.В., и др. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» 2013–2014. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017; 19(1): 49-56.
4. Суворова М.П., Белобородов В.Б., Яковлев С.В., Гаврилов М.М., Гришина Н.А., Дмитриева И.Б., и др. Нозокомиальные инфекции в педиатрических стационарах (исследование «ЭРГИНИ»). *Вопросы практической педиатрии*. 2016; 6: 8-16.
8. Данные с сайта Всемирной Организации Здравоохранения. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1 (дата обращения: июнь 2018 г.)
10. Агеев В.А., Партина И.В., Лисицына Е.С. Чувствительность грамотрицательных бактерий, продуцентов карбапенемаз, к антибиотикам различных групп. *Антибиотики и химиотерапия*. 2013; 3-4: 10–3.
11. Крыжановская О.А., Лазарева А.В., Алябьева Н.М., Тепаев Р.Ф., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. и др. Устойчивость к антибиотикам и молекулярные механизмы резистентности у карбапенем-нечувствительных изолятов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в педиатрических ОРПТ г. Москвы. *Антибиотики и химиотерапия*. 2016; 61: 7-8.
15. Данные с сайта Европейского комитета по тестированию чувствительности к антибиотикам. Available at: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf (дата обращения: июнь 2018 г.)
16. Данные с сайта Европейского комитета по тестированию чувствительности к антибиотикам. Available at: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints (дата обращения: июнь 2018 г.)
17. Данные с сайта управления по санитарному надзору за качеством пищевых продуктов и медикаментов. Available at: <https://www.fda.gov/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedocuments/ucm080564.htm> (дата обращения: июнь 2018 г.)

REFERENCES

1. Pitout J., Nordmann P., Poirel L. Carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*, a key pathogen set for global nosocomial dominance. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015; 59: 5873–84.

2. Suhorukova M.V., Ehjdelshstejn M.V., Skleenova E.YU., Ivanchik N.V., Timohova A.V., Dekhnic A.V. et al. Antibiotic resistance of nosocomial strains of Enterobacteriaceae in Russian hospitals: results of a multicentre epidemiological study “MARATHON” in 2011-2012. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2014; 16(4): 254-65. (in Russian)
3. Suhorukova M.V., Ehjdelshstejn M.V., Skleenova E.YU., Ivanchik N.V., Mikotina A.V., Dekhnic A.V. et al. Antibiotic resistance of nosocomial strains Enterobacteriaceae in Russian hospitals: results of a multicentre epidemiological study “MARATHON” 2013-2014. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*. 2017; 19(1): 49-56. (in Russian)
4. Suvorova M.P., Beloborodov V.B., Yakovlev S.V., Gavrilov M.M., Grishina N.A., Dmitrieva I.B. et al. Nosocomial infections in pediatric hospitals (“ERGINI” study). *Voprosy prakticheskoy pediatrii*. 2016; 6: 8-16. (in Russian)
5. Morrissey I., Hackel M., Badal R., Bouchillon S., Hawser S., Biedenbach D. A Review of Ten Years of the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) from 2002 to 2011. *Pharmaceuticals*. 2013; 6: 1335-46.
6. Molton J.S., Tambyah P.A., Brenda S.P. Ang., Ling M.L., Fisher D.A. The Global Spread of Healthcare-Associated Multidrug-Resistant Bacteria: A Perspective From Asia. *Clinical Infect Diseases*. 2013; 56: 1310-8.
7. Karaiskos I., Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother*. 2014; 15(10): 1351-70.
8. World Health Organization. Antimicrobial Resistance. Global Report on Surveillance. Geneva, Switzerland. 2014. Available at: http://apps.who.int/iris/bitstream/10665/112642/1/9789241564748_eng.pdf?ua=1 (Reference date: June 2018)
9. Tumbarello M., Trearichi E.M., Giuseppe De Rosa F., Giannella M. Infections caused by KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: differences in therapy and mortality in a multicentre study. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2015; 70: 2133–43.
10. Ageevets V.A., Partina I.V., Lisitsyna E.S. Sensitivity of gram-negative bacteria, producers of carbapenemases, to antibiotics of various groups. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2013; 3-4: 10–3. (in Russian)
11. Kryzhanovskaya O.A., Lazareva A.V., Alyab'eva N.M., Tepaev R.F., CHEbotar' I.V., Mayanskiy N.A. et al. Resistance to antibiotics and molecular mechanisms of resistance in carbapenem-nonsusceptible isolates of *Klebsiella pneumoniae* isolated in the pediatric ICU of Moscow. *Antibiotiki i khimioterapiya*. 2016; 61: 7-8. (in Russian)
12. Poirel L., Jayol A., Nordmann P. Polymyxins: antibacterial activity, susceptibility testing, and resistance mechanisms encoded by plasmids or chromosomes. *Clin. Microbiol. Rev*. 2017; 30: 557–96.
13. Poudyal A., Howden B.P., Bell J.M., Gao W., Owen R.J., Turnidge J.D. et al. In vitro pharmacodynamics of colistin against multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2008; 62: 1311–8.
14. Meletis G., Tzampaz E., Sianou E., Tzavaras I., Sofianou D. Colistin heteroresistance in carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother*. 2011; 66: 946–7.
15. Data from the website of the European Committee for Testing for Sensitivity to Antibiotics. Available at: http://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/General_documents/Recommendations_for_MIC_determination_of_colistin_March_2016.pdf (Reference date: June 2018)
16. Data from the website of the European Committee for Testing for Sensitivity to Antibiotics. Available at: http://www.eucast.org/clinical_breakpoints (Reference date: June 2018)
17. Data from the website of the Food and Drug Administration. Document issued on: August 28, 2009. Available at: <https://www.fda.gov/medicaldevices/deviceregulationandguidance/guidancedocuments/ucm080564.htm> (Reference date: June 2018)
18. Chew K.L., La M-V., Lin R.T.P., Teo J.W.P. Colistin and polymyxin B susceptibility testing for carbapenem-resistant and mcr positive *Enterobacteriaceae*: comparison of Sensiitre, MicroScan, Vitek 2, and Etest with broth microdilution. *J. Clin. Microbiol*. 2017; 55: 2609–16.
19. Rojas L.J., Salim M., Cober E. et al. Colistin resistance in carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*: laboratory detection and impact on mortality. *Clin Infect Dis*. 2017; 64: 711–8.
20. Dafopoulou K., Zarkotou O., Dimitroulia E., Hadjichristodoulou C., Gennimata V., Pournaras S. et al. Comparative evaluation of colistin susceptibility testing methods among carbapenem-nonsusceptible *Klebsiella pneumoniae* and *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015. 59: 4625–30.
21. Vourli S., Dafopoulou K., Vrioni G., Tsakris A., Pournaras S. 2017. Evaluation of two automated systems for colistin susceptibility testing of carbapenem-resistant *Acinetobacter baumannii* clinical isolates. *J. Antimicrob. Chemother*. 2017; 72: 2528–30.
22. Hindler J.A., Humphries R.M. Colistin MIC Variability by Method for Contemporary Clinical Isolates of Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacilli. *J. Clin. Microbiol*. 2013; 51: 1678-84.
23. Landman D., Salamera J., Quale J. Irreproducible and uninterpretable polymyxin B MICs for *Enterobacter cloacae* and *Enterobacter aerogenes*. *J. Clin. Microbiol*. 2013; 51: 4106–11.

Поступила 20.07.18

Принята к печати 30.07.18