

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

Учредитель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Издатель

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии
www.iaacmac.ru

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

Подписка на сайте издателя
<https://service.iaacmac.ru>

Адрес для корреспонденции
214019, г. Смоленск, а/я 5.
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:
info@cmac-journal.ru

Электронная версия журнала:
<https://cmac-journal.ru>

Журнал входит в Перечень рецензируемых научных изданий, в которых должны быть опубликованы основные научные результаты диссертаций на соискание ученой степени кандидата наук, на соискание ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи проходят рецензирование. Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели. При перепечатке ссылка на журнал обязательна

Журнал является научным изданием для врачей, в связи с чем на него не распространяются требования Федерального закона от 29.12.2010 436-ФЗ «О защите детей от информации, причиняющей вред их здоровью и развитию»

Иллюстрация для обложки предоставлена: Ольга Николаевна Пинегина (ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия Рогачева» Минздрава России)

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2024.

Содержание

Болезни и возбудители

- 4 Фёдорова А.В., Хрульнова С.А., Ветохина А.В., Молчанова И.В., Куцевалова О.Ю., Клясова Г.А.
Гены вирулентности у *Enterococcus faecium* и *Enterococcus faecalis*, выделенных из гемокультуры больных с гематологическими заболеваниями
- 14 Умпелева Т.В., Скорняков С.Н., Вахрушева Д.В.
Биопленки при микобактериальной инфекции
- 21 Исаева Г.Ш., Чумарев Н.С.
Микробиота верхних дыхательных путей при COVID-19

Антимикробные препараты

- 31 Карпова Е.В., Колчанова Н.Э., Петровская Т.А., Тапальский Д.В.
Микробиологическая активность тиамфеникола и тиамфеникола глицината ацетилцистеината в отношении клинически значимых микроорганизмов и образуемых ими биопленок
- 40 Андреева И.В., Стецюк О.У., Козлов Р.С.
Цефтаролина фосамил – цефалоспорин V поколения с анти-MRSA активностью в лечении тяжелых инфекций в педиатрической практике

Антибиотикорезистентность

- 59 Чеботарь И.В., Кулешов К.В.
Между антибиотикорезистентностью и вирулентностью: диалектика бактериального фитнеса
- 67 Эйдельштейн М.В., Шайдуллина Э.Р., Иванчик Н.В., Дехнич А.В., Микотина А.В., Склеенова Е.Ю., Сухорукова М.В., Азизов И.С., Шек Е.А., Романов А.В., Трушин И.С., Кузьменков А.Ю., Козлов Р.С.
Антибиотикорезистентность клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования
- 79 Вербенко Д.А., Соломка В.С., Дерябин Д.Г., Левичева Ю.Ю., Карамова А.Э., Кубанов А.А.
Определение генетических детерминант устойчивости штаммов *Mycobacterium leprae* к антимикробным препаратам методом минисеквенирования

Опыт работы

- 87 Бонцевич Р.А., Тихойванова А.А., Анненков Н.В., Батищева Г.А., Невзорова В.А., Мартыненко И.М., Биккинина Г.М., Кетова Г.Г., Богданова В.О., Лучинина Е.В.
Определение выбора режима антибактериальной терапии старших курсов медицинских вузов по антимикробной терапии (итоги проекта KANT-IV)
- 98 Лихачев И.В., Кафтырева Л.А., Самойлова А.А., Краева Л.А., Михайлов Н.В.
Разработка E-тестов для выявления потенцирующего эффекта антимикробных соединений в отношении полирезистентных штаммов *Klebsiella pneumoniae*

Описание клинических случаев

- 104 Рачина С.А., Федина Л.В., Алхлавов А.А., Гасанова Д.Р., Зайналабидова Х.Г., Коваль А.А., Бурмистрова Е.Н., Савочкина Ю.А., Сычев И.Н., Кулешов В.Г., Ларин Е.С.
Сложности выбора режима антибактериальной терапии нозокомиальной пневмонии в ОРИТ: клинические наблюдения
- 113 Довгань Е.В., Андреев В.А., Боровой В.Н., Кузьмина Е.В., Андреева И.В., Коваленко Т.Н., Овчинников Т.Г., Козырев О.А.
Риноцеребральный мукормикоз у пациентов с COVID-19: описание случаев и лечение в условиях областного стационара

Антибиотикорезистентность клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования

Эйдельштейн М.В., Шайдуллина Э.Р., Иванчик Н.В., Дехнич А.В., Микотина А.В., Скленова Е.Ю., Сухорукова М.В., Азизов И.С., Шек Е.А., Романов А.В., Трушин И.С., Кузьменков А.Ю., Козлов Р.С.

НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, Смоленск, Россия

Контактный адрес:

Михаил Владимирович Эйдельштейн
Эл. почта: mikhail.edelstein@antibiotic.ru

Ключевые слова: Enterobacterales, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, антибиотикорезистентность, карбапенемазы, инфекции, эпидемиология.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование частично проведено при финансовой поддержке независимого медицинского гранта компании Pfizer.

Цель. Изучить распространенность устойчивости к антибиотикам и основные механизмы резистентности, включая продукцию карбапенемаз, у клинических изолятов и *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*, выделенных в различных регионах России в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН» в 2020–2021 гг., а также исследовать структуру популяции *K. pneumoniae* и роль «клонов высокого риска» в распространении антибиотикорезистентности.

Материалы и методы. Были исследованы изоляты *K. pneumoniae* (n = 2503) и *E. coli* (n = 2055), выделенные от госпитализированных пациентов в 55 стационарах 29 городов России. Идентификация проводилась методом времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS). Чувствительность к антибиотикам определяли методом последовательных разведений в бульоне или агаре (для фосфомицина), результаты интерпретировали согласно критериям EUCAST v13. Продукцию карбапенемаз определяли фенотипически методом инактивации карбапенемов (CIM), наличие генов наиболее распространенных сериновых карбапенемаз (KPC, OXA-48) и металло-β-лактамаз (VIM, IMP, NDM) – методом ПЦР в реальном времени. Генотипирование *K. pneumoniae* проводили с помощью методов SNP-типирования и мультилокусного секвенирования-типирования (MLST). Определение K- и O-серотипов, приобретенных генов резистентности и вирулентности, а также плазмид, несущих эти гены, проводили на основании данных полногеномного секвенирования выборочных изолятов (n = 215).

Результаты. Устойчивость нозокомиальных/внебольничных изолятов *K. pneumoniae* составила: амоксициллин-клавуланат – 88,63/57,99%, пиперациллин-тазобактам – 82,92/45,49%, цефотаксим – 87,74/56,97%, цефтазидим – 84,76/53,07%, цефепим – 81,43/49,18%, азтреонам – 1,63/53,28%, цефтазидим-авибактам – 30,88/9,22%, цефтолозан-тазобактам – 70,06/31,35%, эртапенем – 72,10/28,69%, меропенем – 49,60/15,16%, имипенем – 44,54/13,73%, гентамицин – 60,82/30,33%, амикацин – 42,06/17,21%, ципрофлоксацин – 85,10/49,39%; триметоприм-сульфаметоксазол – 74,38/48,16%, колистин – 5,96/2,25%. Устойчивость нозокомиальных/внебольничных изолятов *E. coli* составила: ампициллин – 84,93/67,67%, амоксициллин-клавуланат – 57,37/39,73%, пиперациллин-тазобактам – 19,48/8,70%, цефотаксим – 63,83/34,19%, цефтазидим – 45,32/20,34%, цефепим – 35,95/16,61%, азтреонам – 51,78/26,11%, цефтазидим-авибактам – 5,71/0,80%, цефтолозан-тазобактам – 11,95/2,22%, эртапенем – 8,18/1,42%, меропенем – 5,17/0,53%, имипенем – 4,95/0,36%, гентамицин – 24,54/13,68%, амикацин – 5,49/1,42%, ципрофлоксацин – 54,14/32,50%, триметоприм-сульфаметоксазол – 52,21/38,54%, фосфомицин – 2,48/1,43%, колистин – 1,60/1,07%, тигециклин – 6,35/3,11%. Частота продукции карбапенемаз среди нозокомиальных изолятов *K. pneumoniae* составила 65,32% (OXA-48 – 40,75%, NDM – 30,28%, KPC – 8,74%, OXA-48 + NDM – 10,62%, OXA-48 + KPC – 2,98%, NDM + KPC – 0,45%, OXA-48 + NDM + KPC – 0,20%). Более 70% нозокомиальных изолятов *K. pneumoniae* принадлежали всего к 7 основным генетическим линиям, известным как «международные клоны высокого риска»: CC395 – 37,40%, CC23 – 9,59%, CC307 – 8,64%, CC147 – 7,61%, CC15 – 2,95%, CC258 – 2,92% и CC11 – 2,41%. Внебольничная популяция *K. pneumoniae* характеризовалась значительно большим генетическим разнообразием (индекс разнообразия Симпсона: D = 0,919; 95% ДИ: 0,904 – 0,933) по сравнению с популяцией госпитальных штаммов (индекс разнообразия Симпсона: D = 0,815; 95% ДИ: 0,802 – 0,827). Штаммы «гипервирулентной» генетической линии *K. pneumoniae* CC23 встречались чаще при внебольничных инфекциях.

Выводы. Крайне высокая частота резистентности к цефалоспорином у *K. pneumoniae* (> 80%) и *E. coli* (> 60%), а также высокая частота сочетанной устойчивости к аминогликозидам и фторхинолонам исключают возможность их эмпирического применения для лечения серьезных нозокомиальных инфекций, вызванных данной группой бактерий. У *K. pneumoniae* отмечается быстрое нарастание устойчивости к карбапенемам, в основном за счет распространения карбапенемаз трех основных групп: OXA-48, NDM и KPC. Одновременно с ростом частоты продукции карбапенемаз следует отметить увеличение их разнообразия и доли штаммов, несущих гены NDM и KPC карбапенемаз, а также штаммов, несущих гены нескольких карбапенемаз одновременно. При внебольничных инфекциях основной клинически значимой проблемой является сохраняющаяся высокая частота устойчивости к цефалоспорином у наиболее частого возбудителя – *E. coli* (> 30%), а также у *K. pneumoniae* (> 50%).

Antimicrobial resistance of clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* in Russian hospitals: results of a multicenter epidemiological study

Edelstein M.V., Shaidullina E.R., Ivanchik N.V., Dekhnich A.V., Mikotina A.V., Skleenova E.Yu., Sukhorukova M.V., Azizov I.S., Shek E.A., Romanov A.V., Trushin I.S., Kuzmenkov A.Yu., Kozlov R.S.

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

Contacts:

Mikhail V. Edelstein

E-mail: mikhail.edelstein@antibiotic.ru

Key words: Enterobacterales, *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli*, antimicrobial resistance, carbapenemases, infection, epidemiology.

Conflict of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.

External funding: the study was partially supported by an independent medical grant from Pfizer.

Objective. To study the prevalence and mechanisms of antibiotic resistance, including carbapenemase production, in clinical isolates of *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* isolated in different regions of Russia as part of the sentinel multicenter surveillance study in 2020–2021, and to explore the population structure of *K. pneumoniae* and the impact of “high-risk clones” on antibiotic resistance.

Materials and methods. Consecutive, non-duplicate isolates of *K. pneumoniae* (n = 2503) and *E. coli* (n = 2055) isolated from various specimens (blood, cerebrospinal fluid, respiratory samples, urine, wound secretions, etc.) of hospitalized patients with clinical signs of infection in 55 hospitals of 29 cities of Russia were studied. Species identification of isolates was performed by matrix-assisted laser desorption/ionization time-of-flight mass spectrometry (MALDI-TOF MS). Antibiotic susceptibilities were determined by serial broth microdilution or, in the case of fosfomycin, by agar dilution method, and results were interpreted according to EUCAST v13 MIC breakpoints. Carbapenemase production was determined phenotypically by carbapenem inactivation method (CIM), the presence of genes of the most common serine carbapenemases (KPC, OXA-48) and metallo- β -lactamases (VIM, IMP, NDM) was determined by real-time PCR. *K. pneumoniae* clinical isolates were genotyped and assigned to the known clonal complexes (CC) and sequence types (ST) using SNP typing and multilocus sequencing typing (MLST) methods. K- and O-serotypes, acquired resistance and virulence genes, and plasmids carrying these genes were characterized using whole-genome sequencing of selected isolates (n = 215).

Results. The resistance rates of nosocomial/community-acquired isolates of *K. pneumoniae* were as follows: amoxicillin-clavulanate – 88.63/57.99%, piperacillin-tazobactam – 82.92/45.49%, cefotaxime – 87.74/56.97%, ceftazidime – 84.76/53.07%, cefepime – 81.43/49.18%, aztreonam – 1.63/53.28%, ceftazidime-avibactam – 30, 88/9.22%, ceftolozan-tazobactam – 70.06/31.35%, ertapenem – 72.10/28.69%, meropenem – 49.60/15.16%, imipenem – 44.54/13.73%, gentamicin – 60.82/30.33%, amikacin – 42.06/17.21%, ciprofloxacin – 85.10/49.39%; trimethoprim-sulfamethoxazole – 74.38/48.16%, colistin – 5.96/2.25%. The resistance of nosocomial/outpatient isolates of *E. coli* were: ampicillin – 84.93/67.67%, amoxicillin-clavulanate – 57.37/39.73%, piperacillin-tazobactam – 19.48/8.70%, cefotaxime – 63.83/34.19%, ceftazidime – 45.32/20.34%, cefepime – 35.95/16.61%, aztreonam – 51.78/26.11%, ceftazidime-avibactam – 5.71/0.80%, ceftolozan-tazobactam – 11, 95/2.22%, ertapenem – 8.18/1.42%, meropenem – 5.17/0.53%, imipenem – 4.95/0.36%, gentamicin – 24.54/13.68%, amikacin – 5.49/1.42%, ciprofloxacin – 54, 14/32.50%, trimethoprim-sulfamethoxazole – 52.21/38.54%, fosfomycin – 2.48/1.43%, colistin – 1.60/1.07%, tigecycline – 6.35/3.11%. The frequency of carbapenemase production among *K. pneumoniae* nosocomial isolates was 65.32% (OXA-48 – 40.75%, NDM – 30.28%, KPC – 8.74%, OXA-48 + NDM – 10.62%, OXA-48 + KPC – 2.98%, NDM + KPC – 0.45%, OXA-48 + NDM + KPC – 0.20%). More than 70% of nosocomial isolates of *K. pneumoniae* belonged to only 7 major genetic lineages known as “high-risk international clones”: CC395 – 37.40%, CC23 – 9.59%, CC307 – 8.64%, CC147 – 7.61%, CC15 – 2.95%, CC258 – 2.92%, and CC11 – 2.41%. The population of community-acquired *K. pneumoniae* was characterized by significantly greater genetic diversity (Simpson diversity index: D = 0.919; 95% CI: 0.904 to 0.933) compared with the population of nosocomial strains (Simpson diversity index: D = 0.815; 95% CI: 0.802 to 0.827). Strains of the “hypervirulent” genetic lineage of *K. pneumoniae* CC23 were more common in community-acquired infections.

Conclusions. The extremely high frequency of resistance to cephalosporins in *K. pneumoniae* (> 80%) and *E. coli* (> 60%), as well as the high frequency of combined resistance to aminoglycosides and fluoroquinolones precludes their empirical use for the treatment of serious nosocomial infections caused by these pathogens. *K. pneumoniae* shows a rapid increase in resistance to carbapenems, mainly due to the spread of carbapenemases of three major groups: OXA-48, NDM and KPC. The overall increase in the frequency of carbapenemase production is accompanied by the growing diversity of carbapenemases, the increasing prevalence of strains producing NDM and KPC enzymes and those co-producing multiple carbapenemases simultaneously. In community-acquired infections, the high prevalence of resistance to cephalosporins in *E. coli* (> 30%) and *K. pneumoniae* (> 50%) remains the most important problem.

Введение

Представители порядка Enterobacterales, в первую очередь *Klebsiella pneumoniae* и *Escherichia coli*, являются наиболее частыми возбудителями нозокомиальных инфекций в России на протяжении последних лет [1–5]. По данным ресурса «Онлайн-платформа анализа данных резистентности к антимикробным препаратам в России» (www.AMRmap.ru) доля Enterobacterales в структуре нозокомиальных инфекций в России за 10 лет, с 2011 по 2021 г. возросла с 31,8% до 56,4%. При внебольничных инфекциях роль энтеробактерий зависит от локализации инфекций и является максимальной при инфекциях мочевых путей и интраабдоминальных инфекциях. Энтеробактерии характеризуются высоким уровнем устойчивости ко многим антимикробным препаратам (АМП). На сегодняшний день наибольшее клиническое значение имеет рост резистентности нозокомиальных штаммов энтеробактерий к современным цефалоспорином и карбапенемам. По данным ранее проведенных исследований, устойчивость к цефалоспорином среди госпитальных штаммов энтеробактерий в России достигла уровня > 80,0%, главным образом вследствие эпидемического распространения штаммов, продуцирующих β-лактамазы расширенного спектра (БЛРС) [3–6]. Распространенность БЛРС и, соответственно, устойчивость к цефалоспорином III-IV поколения среди внебольничных изолятов энтеробактерий также возросла за последние два десятилетия. Так, при внебольничных инфекциях мочевых путей в России, в 2010–2011 гг. устойчивость к цефотаксиму составляла 13,4%, а в 2018 г. – 26,8% [7, 8]. Результаты предыдущих этапов исследования «МАРАФОН» показали отчетливую тенденцию к повышению уровня резистентности к карбапенемам, в основном опосредованную продукцией карбапенемаз, среди нозокомиальных изолятов энтеробактерий [4, 5]. При этом продукция карбапенемаз и резистентность к карбапенемам наиболее часто встречаются у штаммов *Klebsiella pneumoniae* – ведущего возбудителя нозокомиальных инфекций в России. Кроме того, результаты исследований последних лет свидетельствуют о росте приобретенной резистентности *K. pneumoniae* и *E. coli* и к не-β-лактамным антибиотикам, таким как колистин, тигециклин и фосфомицин [4, 5].

Целью настоящего исследования явилось изучение распространенности устойчивости к антибиотикам и основных приобретенных механизмов резистентности (БЛРС и карбапенемаз) у клинических изолятов Enterobacterales, выделенных в различных регионах России в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования в 2020–2021 гг., а также изучение структуры популяции *K. pneumoniae* и роли «клонов высокого риска» в распространении антибиотикорезистентности.

Материалы и методы

Бактериальные изоляты. Последовательные, неповторяющиеся (по одному от каждого пациента) изоляты

K. pneumoniae (n = 2503) и *E. coli* (n = 2055) были выделены в рамках рутинных диагностических исследований из репрезентативных образцов биоматериала (кровь, спинномозговая жидкость, моча, бронхоальвеолярный лаваж, эндотрахеальный аспират, биоптаты, отделяемое из глубоких отделов ран и др.) госпитализированных пациентов с клиническими признаками инфекции в 55 стационарах 29 городов России с 1 января 2020 г. по 31 декабря 2021 г. Колонизирующие изоляты, выделенные при проведении исследований на «носителество», а также изоляты, выделенные из объектов внешней среды, в исследование не включались. Разделение изолятов на внебольничные и нозокомиальные проводилось согласно формальному критерию ВОЗ по времени возникновения инфекции [World Health Organization. Prevention of hospital-acquired infections. A practical guide. 2nd edition. 2002. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/67350/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.12.pdf]. Выделенные изоляты были направлены в центральную лабораторию для последующего изучения в рамках многоцентрового исследования «МАРАФОН».

Видовая идентификация и хранение изолятов. В центральной лаборатории идентификацию до вида проводили для всех исследуемых изолятов методом времяпролетной масс-спектрометрии с матрично-ассоциированной лазерной десорбцией/ионизацией (MALDI-TOF MS) с использованием системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper Compass 4.1.80 (Bruker Daltonics, Германия). Рекомендуемые значения Score ≥ 2,0 использовали в качестве критерия надежной видовой идентификации. До проведения анализа изоляты хранили при температуре -70°C в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 30% глицерина.

Определение чувствительности к АМП. Определение чувствительности ко всем АМП выполняли методом последовательных разведений в бульоне Мюллера-Хинтона (Oxoid, Великобритания) в соответствии с требованиями Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) и стандартов ISO 20776-1:2006 / ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 [9–11]. Клинические категории чувствительности изолятов к АМП определяли на основании пограничных значений минимальных подавляющих концентраций (МПК), в соответствии с рекомендациями EUCAST, версия 13.0 [11]. Контроль качества определения чувствительности проводили с использованием штаммов: *E. coli* ATCC®25922, *E. coli* ATCC®35218, *Klebsiella quasipneumoniae* ATCC®700603 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC®27853.

Выявление карбапенемаз. Продукцию карбапенемаз определяли фенотипически методом инактивации карбапенемов (CIM) [13]. Наличие генов наиболее распространенных металло-β-лактамаз (групп VIM, IMP и NDM) и сериновых карбапенемаз (групп KPC и OXA-48) у всех изолятов, имеющих значения МПК меропенема > 0,125 мг/л [12], определяли методом ПЦР в режиме

реального времени с использованием коммерческих наборов «АмплиСенс® MDR MBL-FL» и «АмплиСенс® MDR КРС/ОХА-48-FL» (ФБУН «Центральный НИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия) и системы DTprime 5X1 (ДНК-Технология, Россия). В качестве положительных контролей использовали охарактеризованные штаммы из коллекции «НИИ антимикробной химиотерапии», несущие гены известных карбапенемаз.

Молекулярно-генетическое типирование *K. pneumoniae*. Генотипирование клинических изолятов *K. pneumoniae* (n = 3693), выделенных в рамках исследования «МАРАФОН» в 2017–2020 гг., проводили с помощью метода SNP-типирования, основанного на анализе одонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в 7 хромосомных локусах (*gapA*, *infB*, *mdh*, *pgi*, *phoE*, *groB* и *tonB*), используемых в существующей схеме мультилокусного секвенирования-типирования (MLST) *K. pneumoniae* [14], который обеспечивает возможность высокопроизводительного типирования изолятов и определения их принадлежности к известным сиквенс-типам (ST) и клональным комплексам (CC), включая так называемые «международные клоны высокого риска». Детекцию SNP в указанных локусах проводили с помощью аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени с универсальными флуорогенными праймерами (AmpliFluor). Для подготовки и проведения ПЦР в формате 384-луночных планшетов использовали систему QIAgility (QIAGEN, Германия) и DTPrime 5X1 (ДНК-Технология, Россия). В качестве контролей использовали штаммы *K. pneumoniae* известных сиквенс-типов из коллекции «НИИ антимикробной химиотерапии».

Полногеномное секвенирование *K. pneumoniae*. Выделение геномной ДНК бактерий проводили с помощью наборов DNeasy Blood & Tissue Kit и системы QIAcube Connect (QIAGEN, Германия). Подготовку геномных библиотек для секвенирования методом коротких парно-концевых прочтений проводили с помощью наборов Nextera™ DNA Sample Prep Kit (Illumina, США), библиотек для секвенирования методом длинных прочтений – с помощью наборов Ligation Sequencing kit SQK-LSK109 (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Все библиотеки были подготовлены в соответствии с инструкцией производителей. Секвенирование методом коротких прочтений выполняли на платформах MiSeq или HiSeq (Illumina, США), длинных прочтений – с использованием системы GridION X5 и ячеек MinION R9.4.1 (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания).

Биоинформатический анализ. Сборку геномов *de novo* с использованием только коротких прочтений проводили в программе SPAdes v.3.14.1 [15], длинных прочтений – в программе Flye [16], для гибридных сборок с использованием коротких и длинных прочтений – в программе Unicycler v.0.5.0 [17]. Оценку качества собранных геномов проводили в программе QUAST [18], дополнительно для гибридных сборок использовали программу BUSCO [19]. После сборки геномы проверяли и очищали от контаминации по методу Douglass A. и соавт. [20].

Приобретенные гены резистентности аннотировали с использованием базы данных AMRFinderPlus (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pathogens/antimicrobial-resistance/AMRFinder/>). Поиск генов вирулентности проводили в программе Abricate v.1.0.1 (<https://github.com/tseemann/abricate>) с использованием базы данных BIGSdb-Pasteur (<https://bigsdb.pasteur.fr>).

Для определения K- и O-серотипов использовали программу Kleborate v.2.1.0 [21, 22]. Для поиска и реконструкции плазмид использовали программу mob-suite v.3.0.3 [23] с последующей обработкой в программе CLC Genomics Workbench v.22.0 (QIAGEN Bioinformatics, Германия).

Статистический анализ данных. Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием онлайн платформы для анализа данных AMRCloud (<https://amrcloud.net/>) [24] и следующих статистических методов: расчета абсолютных и относительных частот, медианных значений, доверительных интервалов по методу Уилсона, множественных сравнений с использованием точного теста Фишера с поправкой Хольма. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты

Нозокомиальные инфекции

K. pneumoniae была наиболее распространенным бактериальным возбудителем нозокомиальных инфекций (30,00%): первым по частоте среди возбудителей нозокомиальных инфекций дыхательной системы (35,81%), мочевыводящей системы (31,94%), сердца и сосудов (26,40%), инфекций ЦНС (27,78%) и вторым – среди возбудителей нозокомиальных инфекций кожи и мягких тканей (19,10%), брюшной полости (26,26%) и инфекций костей и суставов (15,93%).

Частота устойчивости к антибиотикам у *K. pneumoniae* (Рисунок 1) составила: к амоксициллину-клавуланату – 88,63% и пиперациллину-тазобактаму – 82,92%, к цефалоспорином – цефотаксиму, цефтазидиму и цефепиму – 87,74%, 84,76% и 81,43% соответственно, к азтреонаму – 81,63%, к цефтолозану-тазобактаму – 70,06%, к эртапенему, меропенему и имипенему – 72,10%, 49,60% и 44,54% соответственно, к аминогликозидам – гентамицину и амикацину – 60,82%, и 42,06% соответственно, фторхинолонам – ципрофлоксацину – 85,10%; к триметоприму-сульфаметоксазолу – 74,38%. Наибольшую активность проявляли цефтазидим-авибактам – 30,88% резистентных изолятов и колистин – 5,96% резистентных изолятов.

Частота продукции карбапенемаз среди нозокомиальных изолятов *K. pneumoniae* в 2020–2021 гг. составила 65,32%. Наиболее распространенными были карбапенемазы групп ОХА-48 – 40,75% и NDM – 30,28%, карбапенемазы группы КРС встречались значительно реже – 8,74%. При этом у 14,25% изолятов была выявлена сочетанная продукция нескольких карбапенемаз:

ОХА-48 и NDM – 10,62%, ОХА-48 и KPC – 2,98%, NDM и KPC – 0,45%, ОХА-48, NDM и KPC – 0,20%.

Частота устойчивости к антибиотикам у *E. coli* (Рисунок 2) составила: к ампициллину – 84,93%, к амоксициллину-клавулановой кислоте и пиперациллину-тазобактаму – 57,37% и 19,48% соответственно, к цефалоспорином – цефотаксиму, цефтазидиму и цефепиму – 63,83%, 45,32% и 35,95% соответственно, к цефтолозану-тазобактаму – 11,95%, к фторхинолонам – ципрофлоксацину – 54,14%, к триметоприму-сульфаметоксазолу – 52,21%, к аминогликозидам – гентамицину и амикацину – 24,54% и 5,49% соответственно.

Наибольшую активность показали карбапенемы – эртапенем, меропенем и имипенем – 8,18%, 5,17% и 4,95% резистентных изолятов соответственно, цефтази-

дим-авибактам – 5,71%, тигециклин – 6,35%, фосфомицин – 2,48% и колистин – 1,60% резистентных изолятов.

Внебольничные инфекции

Частота устойчивости к антибиотикам у изолятов *E. coli*, выделенных при внебольничных инфекциях составила (Рисунок 3): к пенициллинам (ампициллину) – 67,67%, к цефалоспорином – цефотаксиму, цефтазидиму и цефепиму – 34,19%, 20,34% и 16,61% соответственно, к ингибиторозащищенным пенициллинам – амоксициллину-клавулановой кислоте и пиперациллину-тазобактаму – 39,73% и 8,70% соответственно, к триметоприму-сульфаметоксазолу – 38,54%, к фторхинолонам – ципрофлоксацину – 32,50%, к гентамицину – 13,68%. Наибольшей активностью обладали ингибиторозащи-

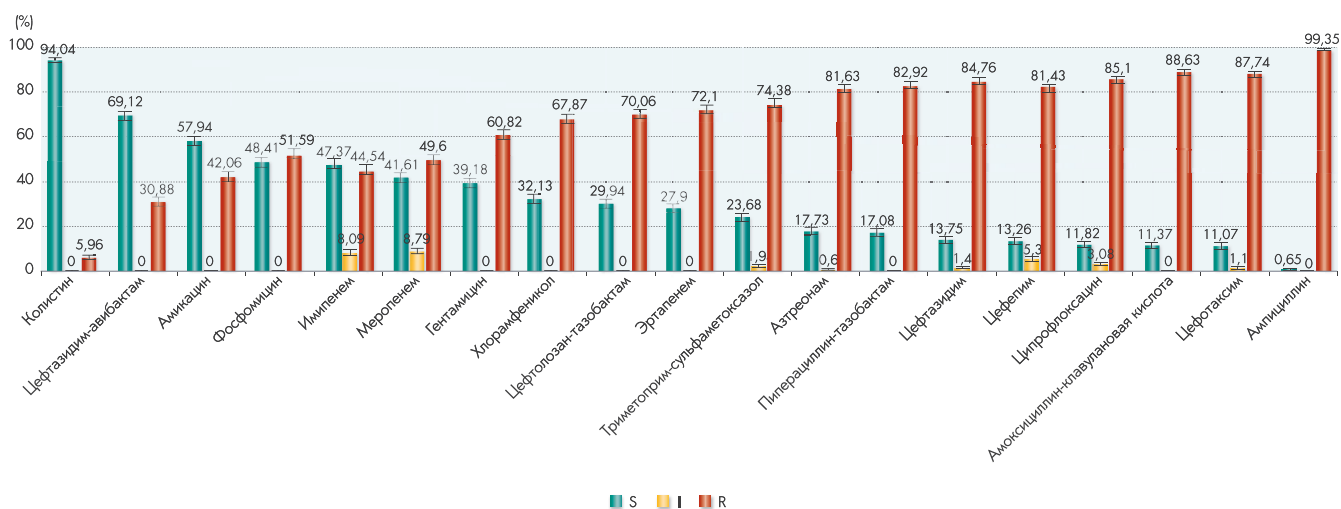


Рисунок 1. Нозокомиальные инфекции: антибиотикорезистентность *K. pneumoniae* – доля чувствительных (S), чувствительных при увеличенной экспозиции (I) и резистентных (R) изолятов (N = 2014)

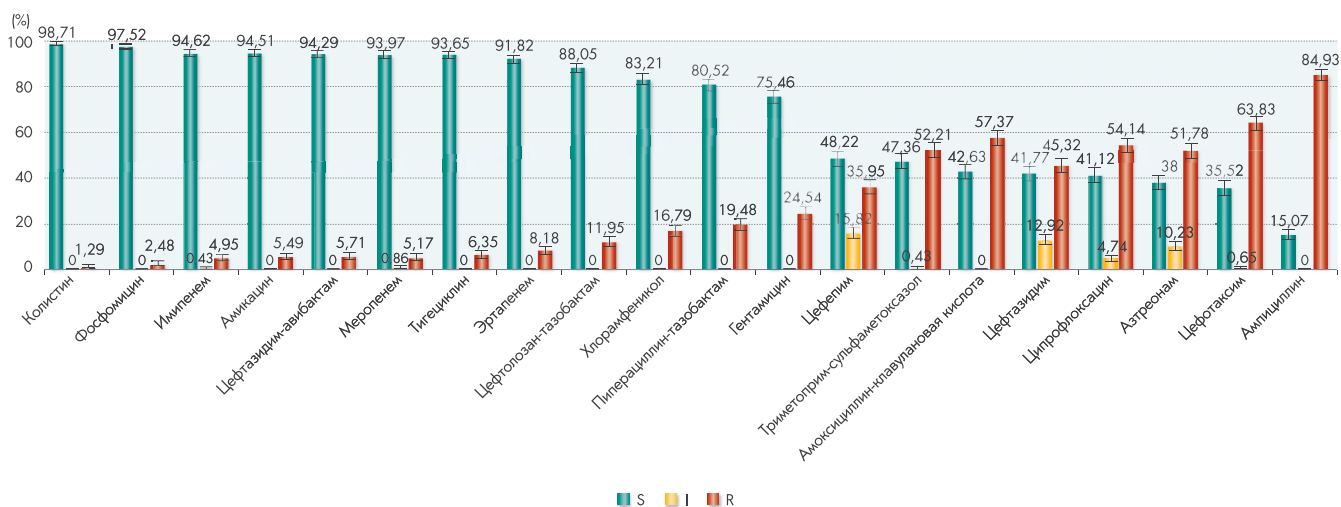


Рисунок 2. Нозокомиальные инфекции: антибиотикорезистентность *E. coli* – доля чувствительных (S), чувствительных при увеличенной экспозиции (I) и резистентных (R) изолятов (N = 929)

ценные цефалоспорины – цефтолозан-тазобактам и цефтазидим-авибактам – 2,22% и 0,80% устойчивых изолятов соответственно, карбапенемы – эртапенем, меропенем и имипенем – 1,42%, 0,53% и 0,36% устойчивых изолятов соответственно, амикацин, фосфомицин, тигециклин и колистин – 1,42%, 1,43%, 3,11% и 1,07% устойчивых изолятов соответственно.

Частота устойчивости среди внебольничных изолятов *K. pneumoniae* составила (Рисунок 4): к ингибиторозащищенным пенициллинам – амоксицилину-клавулановой кислоте и пиперациллину-тазобактаму – 57,99% и 45,49% соответственно; к цефалоспорином – цефотаксиму, цефтазидиму и цефепиму – 56,97%, 53,07% и 49,18% соответственно, к азтреонаму – 53,28%, к ингибиторозащищенному цефалоспорином – цефтолозану-тазобактаму – 31,35%, к карбапенемам – эртапенему, меропенему и имипенему – 28,69%, 15,16% и 13,73%, к фосфомицину – 35,66%, к фторхинолонам – ципро-

флоксацину – 49,39%, к триметоприму-сульфаметоксазолу – 48,16%, к аминогликозидам – гентамицину и амикацину – 30,33%, и 17,21%. Наибольшую активность проявляли колистин – 2,25% и цефтазидим-авибактам – 9,22%, резистентных изолятов.

Молекулярно-генетическая характеристика основных изолятов *K. pneumoniae*, вызывающих инфекции у госпитализированных пациентов

Генотипирование клинических изолятов *K. pneumoniae* проводилось с использованием SNP- и MLST-типирования по семи хромосомным локусам: *gapA*, *infB*, *mdh*, *pgi*, *phoE*, *rpoB*, *tonB* (<https://bigsdbs.pasteur.fr/klebsiella/>). По результатам генотипирования все клинические изоляты *K. pneumoniae* (n = 3693), выделенные у госпитализированных пациентов в 35 городах 7 федеральных округов России, были отнесены к 186 различным генотипам (сиквенс-типам, ST).

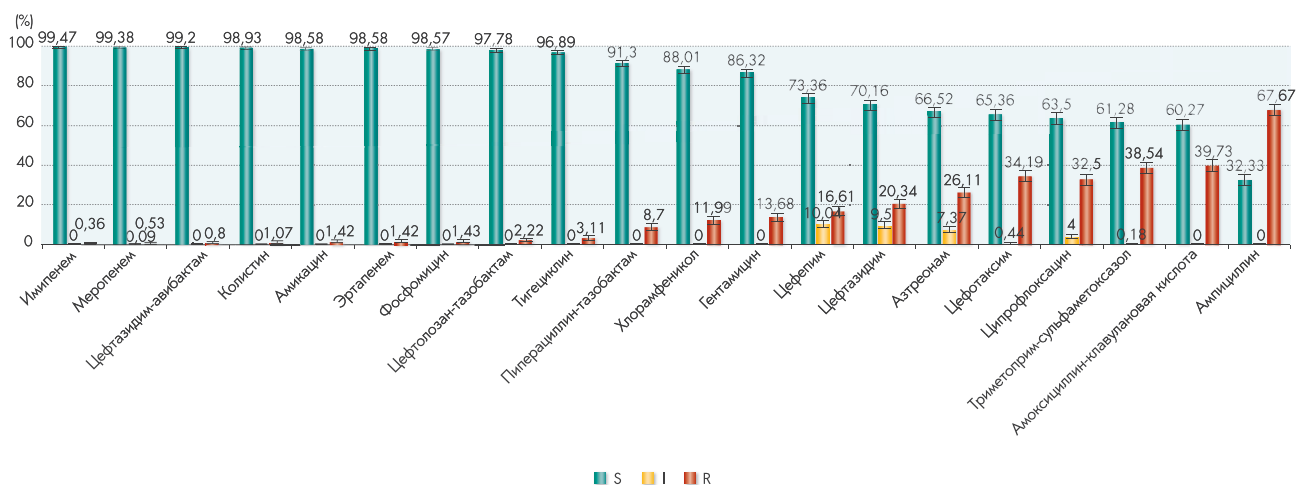


Рисунок 3. Внебольничные инфекции: антибиотикорезистентность *E. coli* – доля чувствительных (S), чувствительных при увеличенной экспозиции (I) и резистентных (R) изолятов (N = 1126)

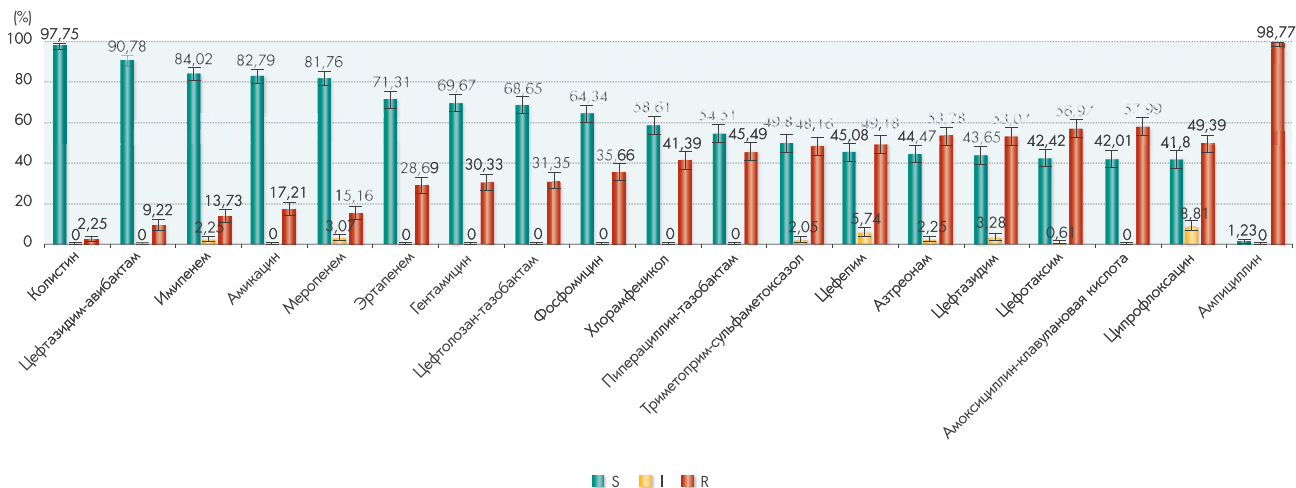


Рисунок 4. Внебольничные инфекции: антибиотикорезистентность *K. pneumoniae* – доля чувствительных (S), чувствительных при увеличенной экспозиции (I) и резистентных (R) изолятов (N = 488)

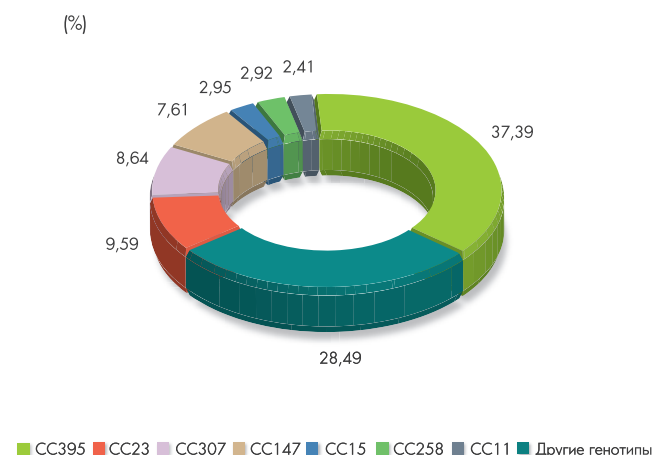
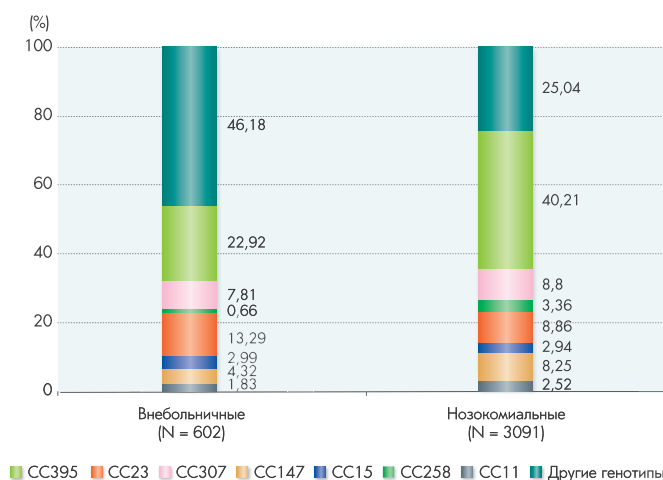


Рисунок 5. Доля различных генетических линий в структуре популяции клинических штаммов *K. pneumoniae* в России

Несмотря на выявленное генетическое разнообразие, более 70% изолятов принадлежали всего к 7 основным генетическим линиям (клональным комплексам, CC), известным как «международные клоны высокого риска»: CC395 (37,39%), CC23 (9,59%), CC307 (8,64%), CC147 (7,61%), CC15 (2,95%), CC258 (2,92%) и CC11 (2,41%) (Рисунок 5).



Генотип	Внебольничные: число изолятов (%)	Нозокомиальные: число изолятов (%)	p (точный тест Фишера)
CC395	138/602 (22,92%)	1243/3091 (40,21%)	0,0001 *
CC23	80/602 (13,29%)	274/3091 (8,86%)	0,0011 *
CC307	47/602 (7,81%)	272/3091 (8,8%)	0,4755
CC147	26/602 (4,32%)	255/3091 (8,25%)	0,0005 *
CC15	18/602 (2,99%)	91/3091 (2,94%)	0,8959
CC258	4/602 (0,66%)	104/3091 (3,36%)	0,0001 *
CC11	11/602 (1,83%)	78/3091 (2,52%)	0,3832
Другие генотипы	278/602 (46,18%)	774/3091 (25,04%)	0,0001 *

* статистически значимые различия.

Рисунок 6. Распространенность различных генотипов *K. pneumoniae* при внебольничных и нозокомиальных инфекциях

Популяция штаммов *K. pneumoniae*, вызывающих внебольничные инфекции, включала меньшее количество изолятов (n = 602), но характеризовалась значительно большим генетическим разнообразием (113 генотипов; индекс разнообразия Симпсона: D = 0,919; 95% ДИ: 0,904 – 0,933) по сравнению с популяцией госпитальных штаммов (3091 изолят; 151 генотип; индекс разнообразия Симпсона: D = 0,815; 95% ДИ: 0,802 – 0,827). При этом распространенность основных клонов «высокого риска»: CC395, CC147 и CC258, для которых характерна устойчивость к антибиотикам разных классов, была статистически значимо выше при нозокомиальных, чем при внебольничных инфекциях, что свидетельствует о преимущественно внутрибольничном распространении штаммов этих генотипов. Напротив, штаммы «гипервирулентной» генетической линии CC23 встречались чаще при внебольничных инфекциях (Рисунок 6).

Штаммы 6 основных генетических линий (CC395, CC23, CC307, CC147, CC15 и CC11) выявлены во всех 7 федеральных округах России. CC395, CC23 и CC307 были распространены наиболее широко географически и выявлены соответственно в 33, 31 и 30 городах. Частота встречаемости различных генотипов значительно отличалась на уровне отдельных городов (Рисунок 7). В большинстве федеральных округов и городов CC395 был преобладающей генетической линией. Однако в Уральском федеральном округе наиболее часто выделялись штаммы CC258 (32,57%): в Тюмени, Кургане и Екатеринбурге их доля составила соответственно 55,21%, 27,66% и 20,43%, тогда как в других федеральных округах она не превышала 2%. Более высокая частота встречаемости CC147 отмечена в Северо-Западном федеральном округе (16,91%): в Мурманске и Петрозаводске на долю штаммов этого генотипа приходилось 34,40% и 19,28% изолятов *K. pneumoniae*. Высокие показатели распространенности CC23 отмечены в географически удаленных городах: Казани (35,81%), Майкопе (33,33%), Белгороде (21,01%) и Смоленске (20,3%).

Пять генетических линий: CC258, CC47, CC307, CC395 и CC11 отличались наиболее высокой частотой и широким спектром устойчивости к антибиотикам (Таблица 1, Рисунок 8). Более 90% изолятов CC258 были

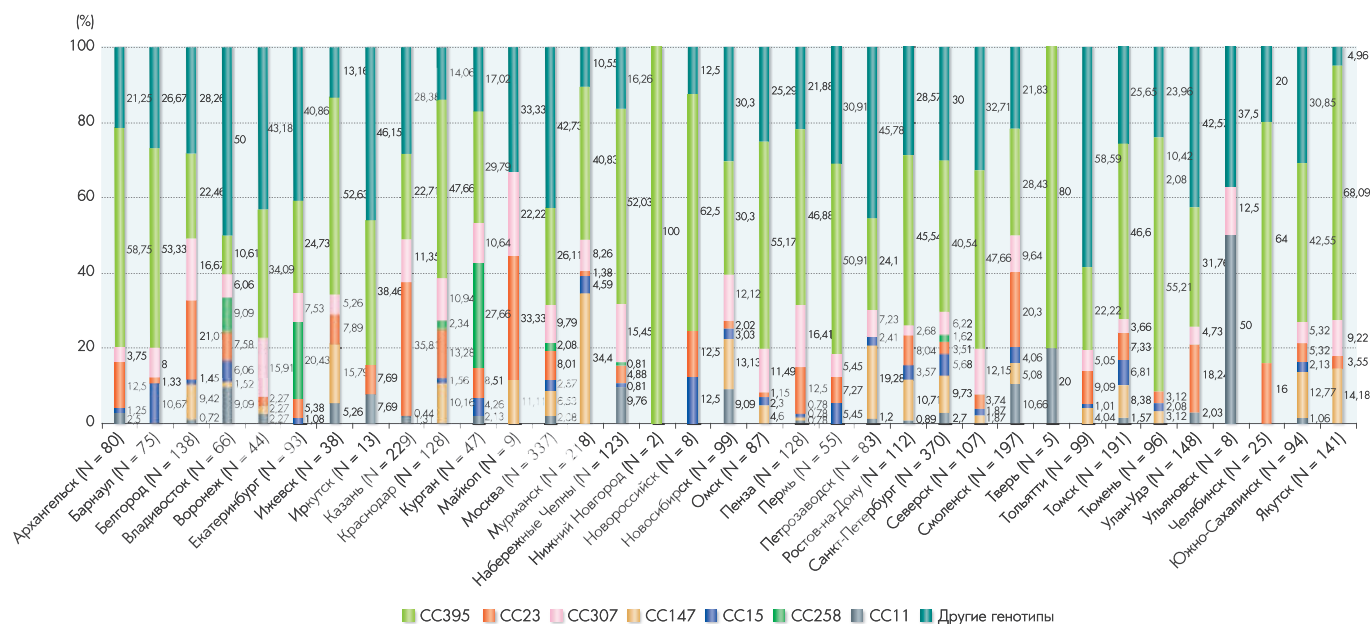


Рисунок 7. Распространенность различных генотипов *K. pneumoniae* в разных городах

резистентны ко всем β -лактамам и не- β -лактамам антибиотикам, за исключением цефтазидима-авибактама (4,63%), колистина (4,63%) и гентамицина (17,59%). Устойчивость к цефтазидиму-авибактаму была наиболее характерна для CC147 (70,82%).

Устойчивость к карбапенемам у штаммов вышеперечисленных генетических линий была связана с продукцией различных карбапенемаз, а резистентность к цефтазидиму-авибактаму – с наличием определенного типа карбапенемаз – металло- β -лактамаз (MBL) группы NDM. Карбапенемазопroduцирующие изоляты *K. pneumoniae* (n = 1794) относились к 49 различным генотипам, среди которых основными были CC395 (48,16%), CC147 (10,37%), CC23 (8,08%), CC258 (5,63%) и CC307 (4,85%). Наиболее распространенные в России карбапенемазы группы OXA-48 были выявлены (по отдельности или в сочетании с другими карбапенемазами) у 32,90% изолятов 40 различных генотипов, среди которых CC395 был самым распространенным (61,1%); вторая по частоте встречаемости группа NDM – у 16,30% изолятов, относящихся к 31 генотипу, в большинстве случаев у CC147 (25,08%) и CC395 (20,10%); KPC – только у 3,30% изолятов 7 генотипов, в основном у CC258 (81,96%).

Для детальной молекулярно-генетической характеристики штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих карбапенемазы, проведено полногеномное секвенирование 215 выборочных изолятов разных генотипов из 25 городов всех федеральных округов России. На основании данных секвенирования определены сиквенс-типы (ST), капсульный (K-) и липополисахаридный (O-) серотипы, аннотированы приобретенные гены резистентности и вирулентности, проведен поиск и реконструкция плазмид, несущих гены антибиотикорезистентности и виру-

лентности. Исследованные с помощью полногеномного секвенирования изоляты разделены на 30 сиквенс-типов, 28 K-серотипов и 11 O-серотипов. Большинство изолятов относились к ST395 (49,30%), ST147 (8,84%) и ST307 (8,37%). Внутри генетических линий ST395, ST147 и ST11 выявлены генетические субклады, отличающиеся по структуре генетических кластеров биосинтеза капсулы и, как следствие, относящиеся к разным K-серотипам. Так, изоляты ST395 имели в основном серотип KL2(K2) (83,02%), который согласно литературным данным связан с более высокой вирулентностью и устойчивостью к макрофагам, а также KL108(K47) (8,49%), KL39 (4,72%) и KL24(K24) (1,89%). Типирование по O-антигену также выявило вариабельность этого признака внутри отдельных генетических линий, включая доминирующий клон ST395.

Среди вариантов карбапенемаз группы OXA-48 выявлены: OXA-48 (96,51%), OXA-244 (2,33%), OXA-232 (0,58%) и OXA-920 (0,58%). Вторая по распространенности группа NDM включала: NDM-1 (85,11%), NDM-5 (10,64%) и NDM-16 (4,26%). Карбапенемазы группы KPC были представлены единственным вариантом – KPC-3, обнаруженным у штаммов CC258 (ST258 и ST512). В геномах подавляющего большинства карбапенемазопroduцирующих изолятов выявлено множество дополнительных приобретенных генов антибиотикорезистентности, наиболее значимыми из которых были гены БЛРС и AmpC цефалоспориноаз, определяющие устойчивость к современным цефалоспориноам и азтреонаму, а также гены 16S рНК-метилтрансфераз, придающие устойчивость ко всем аминогликозидам. БЛРС, включая наиболее частый вариант CTX-M-15 (81,87%) и более редкие варианты CTX-M-14 (4,2%), CTX-M-3 (2,34%) и CTX-M-55 (1,4%), присутствовали у 88,38% изолятов. Гены 16S

Таблица 1. Распространенность устойчивости к различным антибиотикам у штаммов *K. pneumoniae* разных генетических линий

Антибиотик	Процент резистентных изолятов (95% доверительный интервал)							
	CC11 (N = 89)	CC15 (N = 109)	CC23 (N = 354)	CC147 (N = 281)	CC258 (N = 108)	CC307 (N = 319)	CC395 (N = 1381)	Другие генотипы (N = 1052)
Азтреонам	94,38	79,82	61,58	93,59	95,37	96,87	90,22	58,33
	(87,51–97,58)	(71,33–86,28)	(56,42–66,5)	(90,1–95,91)	(89,62–98,01)	(94,33–98,29)	(88,54–91,68)	(55,32–61,27)
Амикацин	64,04	33,03	39,83	72,95	97,22	26,96	41,20	23,86
	(53,69–73,24)	(24,91–42,3)	(34,87–45,01)	(67,48–77,81)	(92,15–99,05)	(22,39–32,08)	(38,63–43,82)	(21,38–26,53)
Амоксициллин-клавуланат	89,89	85,32	68,08	95,73	97,22	97,81	98,41	59,03
	(81,89–94,59)	(77,48–90,76)	(63,05–72,72)	(92,69–97,54)	(92,15–99,05)	(95,54–98,93)	(97,6–98,95)	(56,03–61,96)
Гентамицин	62,92	57,80	56,21	76,87	17,59	69,59	58,44	38,97
	(52,55–72,23)	(48,42–66,65)	(51,01–61,29)	(71,6–81,42)	(11,56–25,85)	(64,34–74,38)	(55,82–61,01)	(36,07–41,96)
Имипенем	39,33	33,94	12,99	62,63	90,74	15,05	34,18	16,25
	(29,82–49,71)	(25,74–43,25)	(9,89–16,9)	(56,84–68,08)	(83,79–94,89)	(11,54–19,39)	(31,72–36,72)	(14,15–18,61)
Колистин	5,62	2,75	9,32	8,19	4,63	8,46	7,89	4,28
	(2,42–12,49)	(0,94–7,78)	(6,71–12,8)	(5,52–11,98)	(1,99–10,38)	(5,88–12,03)	(6,58–9,43)	(3,21–5,68)
Меропенем	47,19	34,86	20,9	58,36	91,67	16,93	40,12	19,39
	(37,15–57,46)	(26,57–44,19)	(16,99–25,44)	(52,52–63,98)	(84,92–95,55)	(13,21–21,43)	(37,56–42,72)	(17,12–21,89)
Пиперациллин-тазобактам	84,27	73,39	60,45	92,88	97,22	84,64	96,89	44,77
	(75,31–90,39)	(64,41–80,79)	(55,27–65,41)	(89,26–95,35)	(92,15–99,05)	(80,27–88,18)	(95,83–97,68)	(41,79–47,79)
Триметоприм-сульфаметоксазол	44,94	76,15	54,52	70,82	89,81	95,92	91,38	49,81
	(35,03–55,27)	(67,34–83,17)	(49,31–59,63)	(65,25–75,82)	(82,68–94,22)	(93,15–97,6)	(89,79–92,75)	(46,79–52,83)
Фосфомицин	67,42	44,04	54,52	85,77	97,22	35,42	76,54	30,32
	(57,13–76,26)	(35,08–53,4)	(49,31–59,63)	(81,2–89,37)	(92,15–99,05)	(30,38–40,82)	(74,23–78,7)	(27,62–33,17)
Цефепим	93,26	77,06	60,45	92,88	96,3	93,73	92,69	53,71
	(86,06–96,87)	(68,33–83,95)	(55,27–65,41)	(89,26–95,35)	(90,86–98,55)	(90,52–95,91)	(91,19–93,94)	(50,69–56,7)
Цефотаксим	95,51	85,32	64,12	95,73	97,22	98,43	95,58	64,54
	(89,01–98,24)	(77,48–90,76)	(59–68,94)	(92,69–97,54)	(92,15–99,05)	(96,38–99,33)	(94,37–96,55)	(61,6–67,38)
Цефтазидим	93,26	83,49	60,17	94,66	96,3	97,49	92,11	57,79
	(86,06–96,87)	(75,4–89,29)	(54,99–65,13)	(91,38–96,74)	(90,86–98,55)	(95,13–98,72)	(90,57–93,42)	(54,79–60,75)
Цефтазидим-авибактам	47,19	31,19	2,82	70,82	4,63	7,21	11,01	14,26
	(37,15–57,46)	(23,26–40,4)	(1,54–5,12)	(65,25–75,82)	(1,99–10,38)	(4,85–10,59)	(9,47–12,78)	(12,28–16,5)
Ципрофлоксацин	98,88	88,07	64,69	100	100	99,69	99,93	49,81
	(93,91–99,8)	(80,66–92,9)	(59,58–69,49)	(98,65–100)	(96,57–100)	(98,25–99,94)	(99,59–99,99)	(46,79–52,83)
Эртапенем	67,42	44,04	54,52	85,77	97,22	35,42	76,54	30,32
	(57,13–76,26)	(35,08–53,4)	(49,31–59,63)	(81,2–89,37)	(92,15–99,05)	(30,38–40,82)	(74,23–78,7)	(27,62–33,17)

Цветовая шкала:	0%	20%	40%	60%	80%	100%
-----------------	----	-----	-----	-----	-----	------

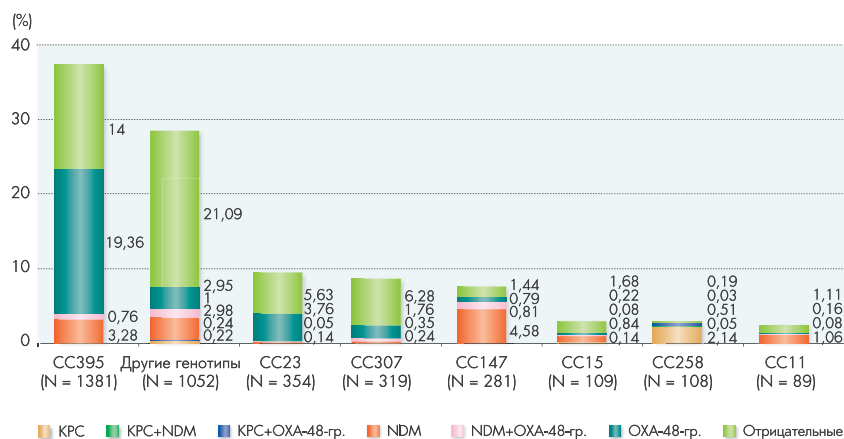


Рисунок 8. Распространенность различных карбапенемаз у штаммов *K. pneumoniae* разных генотипов

pРНК-метилтрансфераз: *armA* (35,97%), *rmtC* (5,16%), *rmtB1* (2,35%) и *rmtF1* (2,34%), придающих устойчивость ко всем аминогликозидам, обнаружены у 45,82% изолятов. Гены карбапенемаз были ассоциированы с плазмидами 11 различных групп: *bla*_{OXA-48} и *bla*_{OXA-244} – с широко распространенными в Европе плазмидами групп IncI (52,30%) и IncM2 (37,20%); *bla*_{NDM-1} выявлен в составе плазмид 7 групп, из которых самыми частыми были IncFIB/IncHI1B (27,66%). При этом у 6 изолятов плазмиды IncFIB/IncHI1B, несущие ген *bla*_{NDM-1} и другие гены устойчивости к антибиотикам разных классов, также содержали гены гипервирулентности: биосинтеза и рецептора аэробактина (*iucABCD-iutA*), сальмохелина (*iroBCDN*), регуляторов мукоидного фенотипа (*rmpA* и *rmpA2*) и метаболического транспортера PEG-344 (*peg-344*), и, следовательно, были классифицированы как «гибридные» плазмиды.

В целом различные маркеры гипервирулентности были выявлены в геномах 52,10% карбапенемазопроизводящих изолятов. Гены аэробактина – основного фактора вирулентности обнаружены у 50,23% изолятов, наиболее часто на гибридных плазмидах группы IncFIB/IncHI1B, *rmpA/rmpA2* – у 19,53% изолятов, *peg-344* – у 13,49% изолятов, сальмохелина (*iroBCDN*) – у 8,00% изолятов. Наличие этих маркеров было характерно не только для штаммов генетической линии CC23, исходно описанной как гипервирулентная, но и для множества резистентных линий, в первую очередь, ST395.

Таким образом в популяции российских штаммов *K. pneumoniae*, вызывающих инфекции у госпитализированных пациентов, отмечается высокая распространенность штаммов, относящихся к известным «международным клоном высокого риска» и сочетающим генетические факторы резистентности к различным антибиотикам и гипервирулентности. Значительное преобладание в структуре популяции штаммов ST395, несущих гены карбапенемаз, БЛРС, рибосомных метилтрансфераз и аэробактина является особенностью для России.

Заключение

Представители порядка Enterobacterales, в первую очередь *K. pneumoniae*, являются наиболее частыми и проблемными с точки зрения антибиотикорезистентности и, соответственно, выбора антибактериальной терапии возбудителями нозокомиальных (внутрибольничных) инфекций в России.

Крайне высокая частота резистентности к современным цефалоспорином у *K. pneumoniae* (> 80%) и *E. coli* (> 60%), исключает возможность их эмпирического применения для лечения серьезных нозокомиальных инфекций, вызванных данной группой бактерий. У *K. pneumoniae* отмечается быстрое нарастание устойчивости к карбапенемам, в основном за счет распространения карбапенемаз трех основных групп: OXA-48, NDM и KPC. Одновременно с ростом частоты продукции карбапенемаз следует отметить увеличение их разнообразия и доли штаммов, несущих гены NDM и KPC карбапенемаз, а также штаммов, несущих гены нескольких карбапенемаз одновременно. Это говорит о необходимости обязательного выявления и дифференциации карбапенемаз в рутинной практике.

Возросший за счет распространения карбапенемаз уровень устойчивости к карбапенемам говорит о необходимости пересмотра стандартных подходов к терапии нозокомиальных инфекций, по крайней мере, у пациентов с жизнеугрожающими инфекциями.

Высокая частота сочетанной устойчивости к традиционно используемым не-β-лактамам антибиотикам – аминогликозидам и фторхинолонам, также не позволяет рекомендовать их широкое применение при нозокомиальных инфекциях. Использование так называемых «препаратов резерва» – тигециклина, полимиксинов и фосфомицина, ограничено перечнем показаний для их применения (тигециклин), недостатками фармакокинетики (тигециклин, полимиксины), меньшей по сравнению с β-лактамами клинической эффективностью и безопасностью (полимиксины), возможностью развития устойчи-

ности в процессе терапии (фосфомицин), и в целом относительно высокой частотой встречаемости устойчивости.

Высокая активность комбинации цефтазидима с авибактамом, в том числе в отношении карбапенемоустойчивых изолятов предполагает необходимость повышения частоты ее использования при серьезных инфекциях, вызванных продуцентами сериновых карбапенемаз, или

добавления азтреонама к данной комбинации в случае продукции металло-β-лактамаз.

При внебольничных инфекциях основной клинически значимой проблемой является сохраняющаяся высокая частота устойчивости к цефалоспорином у наиболее часто возбудителя – *E. coli* (> 30%), а также у *K. pneumoniae* (> 50%).

Литература

1. Reshedko G.K., Ryabkova E.L., Kretchikova O.I., Sukhorukova M.V., Shevchenko O.V., Edelstein M.V., et al. Antimicrobial resistance patterns of gram-negative nosocomial pathogens in Russian ICUs. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapia*. 2008;10(2):96-112. Russian. (Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И., Сухорукова М.В., Шевченко О.В., Эйдельштейн М.В. и соавт. Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров России. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2008;10(2):96-112.)
2. Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Shevchenko O.V., Tapalski D.V., Azizov I.S., D'souza J.W., et al. Prevalence and molecular epidemiology of gram-negative bacteria producing metallo-β-lactamases (MBLs) in Russia, Belarus and Kazakhstan. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapia*. 2012;14(2):132-152. Russian. (Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Шевченко О.В., Тапальский Д.В., Азизов И.С., Д'соуза Дж.В. и соавт. Распространенность и молекулярная эпидемиология грамотрицательных бактерий, продуцирующих металло-β-лактамазы, в России, Беларуси и Казахстане. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2012;14(2):132-152.)
3. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Timokhova A.V., Shek E.A., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacteriaceae isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "MARATHON" 2011-2012. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapia*. 2014;16(4):254-265. Russian. (Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Шек Е.А. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011-2012 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2014;16(4):254-265.)
4. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Mikotina A.V., Dekhnich A.V., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacteriaceae isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "MARATHON" 2013-2014. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapia*. 2017;19(1):49-56. Russian. (Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Дехнич А.В. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2013-2014 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017;19(1):49-56.)
5. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Ivanchik N.V., Skleenova E.Yu., Shajdullina E.R., Azyzov I.S., et al. Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacteriales isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "MARATHON 2015-2016". *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapia*. 2019;21(2):147-159. Russian. (Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Иванчик Н.В., Склеенова Е.Ю., Шайдуллина Э.Р., Азизов И.С. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2015-2016 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019;21(2):147-159.) DOI: 10.36488/стас.2019.2.147-159
6. Edelstein M., Pimkin M., Palagin I., Edelstein I., Stratchounski L. Prevalence and molecular epidemiology of CTX-M extended-spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* and *Klebsiella pneumoniae* in Russian hospitals. *Antimicrob Agents Chemother*. 2003;47(12):3724-3732. DOI: 10.1128/aac.47.12.37243732.2003
7. Palagin I.S., Sukhorukova M.V., Dekhnich A.V., Edelstein M.V., Shevelev A.N., Grinyov A.V., et al. Current state of antibiotic resistance of pathogens causing community-acquired urinary tract infections in Russia: «DARMS» Study (2010-2011). *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapia*. 2012;14(4):280-302. Russian. (Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В., Эйдельштейн М.В., Шевелев А.Н., Гринев А.В. и соавт. Современное состояние антибиотикорезистентности возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России: результаты исследования «ДАРМИС» (2010-2011). *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2012;14(4):280-302.)
8. Palagin I.S., Sukhorukova M.V., Dekhnich A.V., Edelstein M.V., Perepanova T.S., Kozlov R.S. Antimicrobial resistance of pathogens causing community-acquired urinary tract infections in Russia: results of the multicenter

- study "DARMIS-2018". *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaya himioterapiya*. 2019;21(2):134-146. Russian. (Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В., Эйдельштейн М.В., Перепанова Т.С., Козлов Р.С. Антибиотикорезистентность возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России: результаты многоцентрового исследования «ДАРМИС-2018». *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019;21(2):134-146.) DOI: 10.36488/стас.2019.2.134-146
9. ISO 20776-1:2006 "Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. Part 1. Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases".
 10. GOST R ISO 20776-1-2010 Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems. Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. Part 1. Reference method for testing the in vitro activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases. Russian. (Национальный Стандарт ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы in vitro. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод лабораторного исследования активности антимикробных агентов против быстрорастущих аэробных бактерий, вызывающих инфекционные болезни.)
 11. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 13.0. 2023. Available at: www.eucast.org/clinical_breakpoints/. Accessed May, 2024.
 12. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Ver 2.0. 2017. Available at: www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Resistance_mechanisms/EUCAST_detection_of_resistance_mechanisms_170711.pdf. Accessed May, 2024.
 13. van der Zwaluw K., de Haan A., Pluister G.N., Bootsma H.J., de Neeling A., Schouls L.M. The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a simple and low cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in Gram-negative rods. *PLoS One*. 2015;10:e0123690. DOI: 10.1371/journal.pone.0123690
 14. Shaidullina E., Shek E., Mikotina A., Mardanov A., Edelstein M. Development of a high-throughput single nucleotide polymorphism (SNP) typing assay for *Klebsiella pneumoniae*. Proceedings of 30th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases. Paris, April 18-21, 2020. P. 3298. Abstract P6858.
 15. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A., Dvorkin M., Kulikov S., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol*. 2012;19(5):455-477. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021
 16. Kolmogorov M., Yuan J., Lin Y., Pevzner P.A. Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs. *Nat Biotechnol*. 2019;37(5):540-546. DOI: 10.1038/s41587-019-0072-8
 17. Wick R.R., Judd L.M., Gorrie C.L., Holt K.E. Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads. *PLoS Comput Biol*. 2017;13(6):e1005595. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005595
 18. Gurevich A., Saveliev V., Vyahhi N., Tesler G. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies. *Bioinformatics*. 2013;29(8):1072-1075. DOI: 10.1093/bioinformatics/btt086
 19. Manni M., Berkeley M.R., Seppey M., Zdobnov E.M. BUSCO: assessing genomic data quality and beyond. *Curr Protoc*. 2021;1(12):e323. DOI: 10.1002/cpz1.323
 20. Douglass A.P., O'Brien C.E., Offei B., Coughlan A.Y., Ortiz-Merino R.A., Butler G., Byrne K.P., Wolfe K.H. Coverage-versus-length plots, a simple quality control step for de novo yeast genome sequence assemblies. *G3 (Bethesda)*. 2019;9(3):879-887. DOI: 10.1534/g3.118.200745
 21. Wyres K.L., Wick R.R., Gorrie C., Jenney A., Follador R., Thomson N.R., Holt K.E. Identification of *Klebsiella* capsule synthesis loci from whole genome data. *Microb Genom*. 2016;2(12):e000102. DOI: 10.1099/mgen.0.000102
 22. Lam M.M.C., Wick R.R., Watts S.C., Cerdeira L.T., Wyres K.L., Holt K.E. A genomic surveillance framework and genotyping tool for *Klebsiella pneumoniae* and its related species complex. *Nat Commun*. 2021;12(1):4188. DOI: 10.1038/s41467-021-24448-3
 23. Robertson J., Nash J.H.E. MOB-suite: software tools for clustering, reconstruction and typing of plasmids from draft assemblies. *Microb Genom*. 2018;4(8):000206. DOI: 10.1099/mgen.0.000206
 24. Kuzmenkov A.Yu., Vinogradova A.G., Trushin I.V., Avramenko A.A., Eidelstein M.V., Dehnic A.V., Kozlov R.S. AMRcloud: a new paradigm in monitoring of antibiotic resistance. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaya himioterapiya*. 2019;21(2):119-124. Russian. (Кузьменков А.Ю., Виноградова А.Г., Трушин И.В., Авраменко А.А., Эйдельштейн М.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. AMRcloud: новая парадигма мониторинга антибиотикорезистентности. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019;21(2):119-124.) DOI: 10.36488/стас.2019.2.119-124