



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

Учредители:

Синопальников А.И.; Пискунов Г.Г.; Козлов Р.С.; Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ)

Главный редактор:
Синопальников А.И.

Адрес редакции:

214019, Смоленская обл., г. Смоленск, ул. Кирова, д. 46А

Эл. почта: info@cmac-journal.ru

Адрес для корреспонденции:

214019, г. Смоленск, а/я 5.

Тел./факс: +7(4812)45-06-02

Издатель МАКМАХ:

214019, г. Смоленск,

ул. Кирова 46А, www.iacsmac.ru

Адрес типографии:

214020, Россия, г. Смоленск,

ул. Смольянинова, д. 1

Электронная версия журнала:

https://cmac-journal.ru

Подписка на сайте издателя:

https://service.iacsmac.ru

Журнал зарегистрирован

Федеральной службой по надзору

в сфере связи, информационных

технологий и массовых коммуникаций

(Роскомнадзор).

Запись в реестре зарегистрированных

СМИ: ПИ № ФС 77 –

86269 от 27.11.2023

Не распространяется через пред-

приятия связи

Тираж 3000 экз.

Свободная цена

Дата выхода – 24.07.2025

Журнал входит в Перечень рецен-

зируемых научных изданий, в ко-

торых должны быть опубликованы

основные научные результаты дис-

сертаций на соискание ученой сте-

пени кандидата наук, на соискание

ученой степени доктора наук

Присланные в редакцию статьи про-

ходят рецензирование

Мнение редакции может не совпа-

дать с точкой зрения авторов публи-

куемых 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 тре-

бования Федерального закона от

29.12.2010 №436-ФЗ «О защите

детей от информации, причиняю-

щей вред их здоровью и развитию»

Иллюстрация для обложки представ-

лена: Ольга Николаевна Пинегина

(ФГБУ «НМИЦ ДГОИ им. Дмитрия

Рогачева» Минздрава России)

© Клиническая микробиология

и антимикробная химиотерапия, 2025.

Содержание

Болезни и возбудители

- 4 Козлов Р.С., Голуб А.В.
Комплексная оценка роли нитрофуранов при инфекциях нижних отделов мочевых путей
Рачина С.А., Купрюшина О.А., Стрелкова Д.А., Авдеев С.Н., Власенко А.Е., Яснева А.С., Юданова Т.А., Трофименко И.Н., Антонов В.Н., Агибалова М.Н., Мерзоева З.М., Яцышина С.Б., Тихонова М.А., Елькина М.А., Ананичева Н.А., Бурмистрова Е.Н., Сухорукова М.В., Кашаканова Н.М., Федорова А.Ю., Валиулина Д.С., Семёнова Н.С., Ухорская Ю.А.
- 11 Роль соотношения прокальцитонин/ферритин в дифференциальной диагностике поражения легких вирусной и бактериальной этиологии
Свищева М.В., Колесникова Е.А.
- 18 Клиническое значение бактерий рода *Weissella*: краткий обзор
Рябенко Ю.Н., Рябенко Э.Б.
- 23 Дифтерия и ее профилактика
Ортенберг Э.А., Вешкурцева И.М.
- 27 Интракраниальные абсцессы: некоторые клинико-фармакологические аспекты мультидисциплинарного подхода

Антимикробные препараты

- 33 Струкова Е.Н., Голикова М.В.
Фармакодинамика меропенема и комбинации меропенема с авибактамом при воздействии на *Klebsiella pneumoniae* в динамической системе *in vitro*
- 42 Цефиксим (современный пероральный цефалоспорин III поколения) и его место в клинической практике. Резолюция Совета экспертов

Антибиотикорезистентность

- 51 Резолюция X Всероссийской научно-практической конференции «Стратегия контроля антибиотикорезистентности в стационаре»
Кузьменков А.Ю., Виноградова А.Г., Гуляева Н.А., Свято О.П.
- 54 Модель экономических потерь при некорректной микробиологической диагностике антимикробной резистентности и нерациональном применении антимикробных препаратов
Венчакова В.В., Оганесян Э.Г., Гусева А.О., Ковыршин С.В., Русецкая Е.В., Марочкович О.А., Долго-Сабурова Ю.В., Богомолова Т.С., Чжан Ф.-М., Мэн Ц., Васильева Н.В., Тараскина А.Е.
- 73 Молекулярно-биологические особенности штаммов *Candida albicans* – возбудителей рецидивирующего вульвовагинального кандидоза с различной чувствительностью к противогрибковым лекарственным средствам *in vitro*
Бочарова Ю.А., Кулешов К.В., Чеботарь И.В., Маянский Н.А.
- 88 Феномен изменения чувствительности *Pseudomonas aeruginosa* к азтреонаму при формировании колистинорезистентности *in vitro*

Опыт работы

- Халитова Ю.А., Жестков А.В., Мякишева Ю.В.
- 94 Микробиологический статус пациентов с воспалительными заболеваниями кишечника
Кайтуков А.О., Глушкова Е.В., Брико Н.И., Крыжановский В.Г., Салмина Т.А., Орлова О.Е., Каширина А.Ю.
- 101 Резистентность к антимикробным препаратам стрептококков различных видов в отделениях многопрофильного стационара
Федотов В.Д., Жестков А.В., Лямин А.В., Лавренюк Н.А., Добротина И.С., Фалалеева Е.А.
- 111 Особенности микробиоты у пациентов с различными клиническими фенотипами ХОБЛ и хронического бронхита профессиональной этиологии

Фармакодинамика меропенема и комбинации меропенема с авибактамом при воздействии на *Klebsiella pneumoniae* в динамической системе *in vitro*

Струкова Е.Н., Голикова М.В.

ФГБНУ «НИИ по изысканию новых антибиотиков им. Г.Ф. Гаузе», Москва, Россия

Контактный адрес:

Мария Владимировна Голикова
Эл. почта: smirnovka2007@yandex.ru

Ключевые слова: меропенем, авибактам, *Klebsiella pneumoniae*, карбапенемазы, динамическая система *in vitro*.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Изучение фармакодинамики меропенема при его применении отдельно и в комбинации с авибактамом в динамической системе *in vitro*; оценка эффективности меропенема при его действии на штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие и не продуцирующие карбапенемазы; изучение влияния концентрации бактерий на активность меропенема и его эффект.

Материалы и методы. Штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы типа KPC и OXA-48, и штаммы, не продуцирующие карбапенемазы, подвергали воздействию меропенема или его комбинации с авибактамом (только продуценты карбапенемаз) в модифицированной динамической системе *in vitro* диализного типа, воспроизводящей фармакокинетические профили препаратов в легких человека при ежедневном 3-кратном введении на протяжении 5 суток. Оценивали эффект препаратов в отношении общей популяции *K. pneumoniae* при разных стартовых бактериальных титрах (10^6 и 10^8 КОЕ/мл) путем высева проб на твердые среды.

Результаты. В динамической системе *in vitro* эффект меропенема был бактерицидным для штаммов *K. pneumoniae*, не продуцирующих карбапенемазы, с МПК 2-4 мг/л, в то время как штаммы-продуценты карбапенемаз с сопоставимыми МПК меропенема преимущественно демонстрировали быстрый вторичный рост как при высокой, так и при низкой стартовой концентрации бактерий в эксперименте. Добавление авибактама приводило к усилению эффекта меропенема и снижению численности клеток всех штаммов-продуцентов при обоих стартовых инокулятах.

Выводы. На основании данных о чувствительности штаммов *K. pneumoniae* к меропенему, но без проверки их способности к продукции карбапенемаз, невозможно гарантировать успешный исход терапии карбапенемами как при низком (имитация легкой инфекции), так и при высоком (имитация тяжелой инфекции) стартовом титре бактерий. Добавление авибактама позволило значительно усилить эффект меропенема в отношении всех продуцентов карбапенемаз.

Original Article

Pharmacodynamics of meropenem and meropenem combined with avibactam against *Klebsiella pneumoniae* in an *in vitro* dynamic model

Strukova E.N., Golikova M.V.

Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

Contacts:

Maria V. Golikova
E-mail: smirnovka2007@yandex.ru

Key words: meropenem, avibactam, *Klebsiella pneumoniae*, carbapenemases, *in vitro* dynamic model.

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

External funding source: no external funding received.

Objective. To study pharmacodynamics of meropenem alone and in combination with avibactam in an *in vitro* dynamic model; to evaluate effectiveness of meropenem against *K. pneumoniae* strains producing and not producing carbapenemases; to study impact of bacterial inoculum on meropenem activity and its effects.

Materials and methods. *K. pneumoniae* producing KPC and OXA-48 carbapenemases and non-producing strains were exposed to meropenem or its combination with avibactam (carbapenemase-producing strains only) in a modified *in vitro* hollow-fiber infection model (*pneumoniae*) simulating human pharmacokinetics of drugs administrated thrice daily for 5 days. The antimicrobial effect against the total population of *K. pneumoniae* was evaluated at different starting bacterial inocula (10^6 and 10^8 CFU/ml) by plating the samples on the agar media.

Results. In the hollow-fiber infection model, the effect of meropenem was bactericidal for carbapenemase non-producing *K. pneumoniae* with MICs 2–4 mg/L, while carbapenemase-producing strains with comparable MICs of meropenem predominantly demonstrated rapid regrowth at both high and low starting inocula. The addition of avibactam led to an increased effect of meropenem and a decrease in the number of bacterial cells of all three carbapenemase-producing *K. pneumoniae* at both starting inocula.

Conclusions. Based on meropenem susceptibility data of *K. pneumoniae* without checking the ability to carbapenemase production it is impossible to guarantee a successful outcome of carbapenem therapy with both low (imitation of mild infection) and high (imitation of severe infection) inocula. Addition of avibactam significantly enhanced the effect of meropenem on all carbapenemase-producing strains.

Введение

Распространение микроорганизмов, устойчивых к бета-лактамам антибиотикам, является глобальной проблемой современной антибиотикотерапии. Как правило, это штаммы, способные к продукции бета-лактамаз – ферментов, разрушающих бета-лактамы антибиотиков, в том числе и карбапенемы. Последние в свою очередь являются препаратами первой линии и применяются при лечении пациентов с тяжелыми инфекционными заболеваниями. В клинике значение минимальной подавляющей концентрации (МПК) является единственным ориентиром, на основании которого врач может разработать стратегию антибиотикотерапии. Однако значения МПК, к сожалению, не позволяют понять, обладает ли штамм способностью к продукции бета-лактамаз. Так, установленная корреляция между гидролитической активностью карбапенемаз и МПК меропенема была описана с $r^2 = 0,56$, что свидетельствует об относительно невысоком прогностическом потенциале МПК в случае продуцентов карбапенемаз [1]. Некоторые устойчивые к карбапенемам изоляты Enterobacterales остаются фенотипически чувствительными к карбапенемам, независимо от имеющихся механизмов резистентности [2]. Несмотря на пороговое по чувствительности значение МПК меропенема и имипенема для Enterobacterales ≤ 2 мг/л [3], уже более 10 лет рекомендуют снизить это значение хотя бы в 2 раза [4] или учитывать возможность продукции карбапенемаз при МПК $> 0,5$ мг/л [5] или $> 0,125$ мг/л [2, 6]. В нашей работе 2023 г. в динамической системе *in vitro* также было установлено более низкое пороговое значение МПК меропенема при воздействии на штаммы *Klebsiella pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы типа ОХА-48, обеспечивающее бактерицидный эффект антибиотика, которое составило 0,15 мг/л [7]. Тем не менее, пока карбапенемы применяются в лечебной практике, в случае чувствительности патогенов к меропенему (≤ 2 мг/л) [3] велик риск неблагоприятного исхода терапии из-за нераспознанных продуцентов карбапенемаз. Кроме того, предполагается, что продукция бета-лактамаз должна быть активнее при повышении титра бактерий-продуцентов [8], а МПК определяют при стандартном титре 10^5 КОЕ/мл [9], в то время как концентрация клеток бактерий в очаге инфекции может варьировать в широком диапазоне.

Для преодоления устойчивости бактерий, вызванной продукцией бета-лактамаз, уже давно используют ингибиторы бета-лактамаз в комбинации с бета-лактамами [10, 11, 12]. В данном исследовании мы изучали способность ингибитора карбапенемаз авибактама, уже применяемого в комбинации с цефтазидимом, предотвратить меропенем от разрушения карбапенемазами типа ОХА-48 и КРС. Для этого мы изучали как активность меропенема в присутствии авибактама (МПК) в отношении штаммов *K. pneumoniae*, так и эффективность данной комбинации в динамической системе *in vitro*. Исследования антибактериальной активности меропе-

нема в сочетании с авибактамом ранее проводились, однако они были единичными. Фармакодинамических исследований с применением динамической системы *in vitro* ранее не проводилось.

Цель исследования – изучить эффективность меропенема при его применении отдельно и в комбинации с авибактамом в отношении штаммов *K. pneumoniae*, в том числе продуцирующих карбапенемазы разных типов, в динамической системе *in vitro*.

Материалы и методы

Антибиотики и бактериальные штаммы

Субстанция меропенема была приобретена в Tokyo Chemical Industry (Япония), субстанция авибактама – в AChemBlock (США). В работе использовали клинические изоляты *K. pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы типа КРС (*K. pneumoniae* 1904) и типа ОХА-48 (*K. pneumoniae* 1456 и *K. pneumoniae* 1170), и не продуцирующие карбапенемазы (*K. pneumoniae* 782, *K. pneumoniae* 1676, *K. pneumoniae* 2286).

Оценка значений МПК меропенема при его применении отдельно и в комбинации с авибактамом при стандартном инокуляте 10^5 КОЕ/мл (МПКСИ) и при повышенном инокуляте 10^7 КОЕ/мл (МПКВИ)

Значения МПК устанавливали методом серийных разведений в бульоне Мюллера-Хинтона (МХБ, Veston Dickenson, США), содержащем 24-часовую культуру микроорганизма (концентрация 5×10^5 КОЕ/мл) [9]. МПК меропенема в присутствии авибактама определяли при фиксированной концентрации ингибитора, равной 4 мг/л, в соответствии с рекомендациями Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST) [3]. Таким же образом проводили определение чувствительности при повышенном титре (5×10^7 КОЕ/мл) *K. pneumoniae*.

Эксперименты в динамической системе *in vitro*

В данном исследовании использовали модифицированную динамическую систему *in vitro* диализного типа [13]. Система состоит из камеры с МХБ, биореактора с полыми волокнами, имитирующего очаг инфекции (диализатор Ultraflux AV400S, Fresenius Medical Care, Германия), и камеры с антибиотиком или комбинацией антибиотик/ингибитор. В биореакторе культивируют клетки бактерий и имитируют фармакокинетический (ФК) профиль изучаемого препарата или их комбинации. С помощью программируемых перистальтических насосов происходит введение препарата в биореактор, а также подача свежей питательной среды для воспроизведения заданных ФК профилей. При помощи перистальтических насосов также осуществляется постоянное перемешивание содержимого биореактора для равномерного распределения молекул антибиотика и клеток бактерий.

Перед началом опыта систему стерилизовали, заполняли свежим МХБ и термостатировали при 37°C. В центральную камеру вносили 18-часовую культуру микроорганизма. После 2-часовой инкубации плотность бактериальной суспензии достигала 10⁶ КОЕ/мл или 10⁸ КОЕ/мл, и включалась автоматическая система ввода антибиотика. На протяжении эксперимента из биореактора ежедневно отбирали пробы, последовательно разводили стерильной водой и высевали на чашки с агаризованной средой. Чашки помещали в термостат при температуре 37°C на 24 ч. и подсчитывали колонии. Нижний предел определения составлял 100 КОЕ/мл. По результатам рассчитывали среднеарифметические значения концентрации бактерий и стандартные отклонения (СО).

Моделируемые в динамической системе *in vitro* ФК профили меропенема и авибактама

В динамической системе *in vitro* воспроизводили ФК профили меропенема и авибактама в эпителиальной жидкости легких (ЭЖЛ), построенные при помощи линейной одночастевой модели. Для этого были использованы результаты определения концентраций препаратов в ЭЖЛ у здоровых добровольцев после применения 2000 мг меропенема в виде 3-часовой инфузии каждые 8 ч. и 500 мг авибактама в виде 2-часовой инфузии каждые 8 ч. [14, 15]. Расчетные значения ФК параметров меропенема и авибактама, используемые для воспроизведения их ФК профилей в динамической системе, были следующие: максимальная концентрация (C_{max}) – 38 и 5 мг/л соответственно; время достижения максимальной концентрации (T_{max}) – 2 ч.; период полувыведения (T_{1/2}) – 1,5 ч.

Оценка эффекта меропенема

Эффект меропенема в отношении общей популяции штаммов *K. pneumoniae* оценивали с помощью интегрального параметра АВВС – площади между кривой роста бактерий без антибиотика (или сечение на уровне исходной численности клеток) и кривой гибели/роста бактерий в присутствии антибиотика в пределах 120 ч. [16].

Результаты

Чувствительность *K. pneumoniae* к меропенему и комбинации меропенема с авибактамом

Результаты определения МПК меропенема и комбинации меропенема с авибактамом в отношении *K. pneumoniae* представлены в Таблице 1.

Как видно из таблицы, при невысоких значениях МПК для стандартного бактериального титра с его повышением критически возрастали и МПК меропенема в случае карбапенемазопродуцирующих штаммов, в отличие от штаммов *K. pneumoniae*, не продуцирующих карбапенемазы. Добавление авибактама к меропенему значительно снизило МПК, но тенденция к снижению чувствительности с повышением концентрации бактериальных

Таблица 1. Результаты определения значений МПК меропенема отдельно и в присутствии авибактама при стандартном (СИ) и высоком (ВИ) бактериальных титрах

Тип продуцируемых карбапенемаз	Штамм <i>K. pneumoniae</i>	МПК меропенема, мг/л		МПК меропенема в присутствии 4 мг/л авибактама, мг/л	
		СИ	ВИ	СИ	ВИ
ОХА-48	1456	2	128	0,5	16
ОХА-48	1170	4	64	0,25	16
КРС	1904	8	1024	0,125	8
Нет	1676	4	4	н/д	н/д
Нет	2684	4	4	н/д	н/д
Нет	2286	2	4	н/д	н/д

клеток сохранилась и в этом случае. Чтобы проверить, подтвердится ли этот факт в условиях меняющейся концентрации препаратов, моделировали ситуации со стандартным и повышенным инокулятом в динамической системе *in vitro*.

Фармакодинамика меропенема при его воздействии на штаммы *K. pneumoniae*, не продуцирующие карбапенемазы, в динамической системе *in vitro*

При моделировании в динамической системе *in vitro* клинического режима дозирования меропенема, применяемого в виде монотерапии, различие между кривыми изменения численности общей популяции клеток *K. pneumoniae*, не продуцирующих карбапенемазы, для всех трех штаммов было незначительным (Рисунок 1). Эффект меропенема был бактерицидным на первые (стартовый титр 10⁶ КОЕ/мл) или вторые (10⁸ КОЕ/мл) сутки.

Фармакодинамика меропенема при его воздействии на штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы, в динамической системе *in vitro*

В случае *K. pneumoniae*, продуцирующих карбапенемазы, при стартовом инокуляте ~10⁸ КОЕ/мл наблюдали сходное для всех изученных штаммов слабое снижение общей популяции на 1–2 порядка в первые 6 ч., после чего следовал активный вторичный рост, и численность клеток достигала примерно 10¹⁰ КОЕ/мл (Рисунок 2). Когда плотность бактериальной популяции на старте эксперимента составляла ~10⁶ КОЕ/мл, картина была иной: штамм-продуцент карбапенемаз типа ОХА-48 *K. pneumoniae* 1456, который характеризовался минимальным значением МПК меропенема (2 мг/л), демонстрировал слабое снижение общей численности клеток на 2 порядка в первые часы и активный вторичный рост до ~10¹⁰ КОЕ/мл к 24 ч. эксперимента (Рисунок 2А). Численность клеток штамма-продуцента карбапенемаз типа ОХА-48 *K. pneumoniae* 1170 с МПК меропенема 4 мг/л

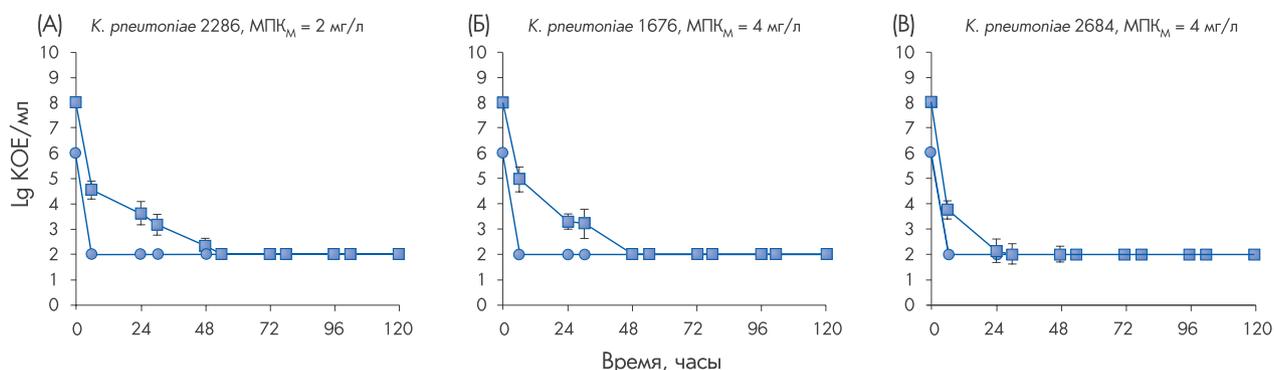


Рисунок 1. Кривые изменения численности клеток *K. pneumoniae*, не продуцирующих карбапенемазы, под действием меропенема. Квадратами обозначена стартовая бактериальная плотность 10^8 КОЕ/мл, кругами – 10^6 КОЕ/мл.

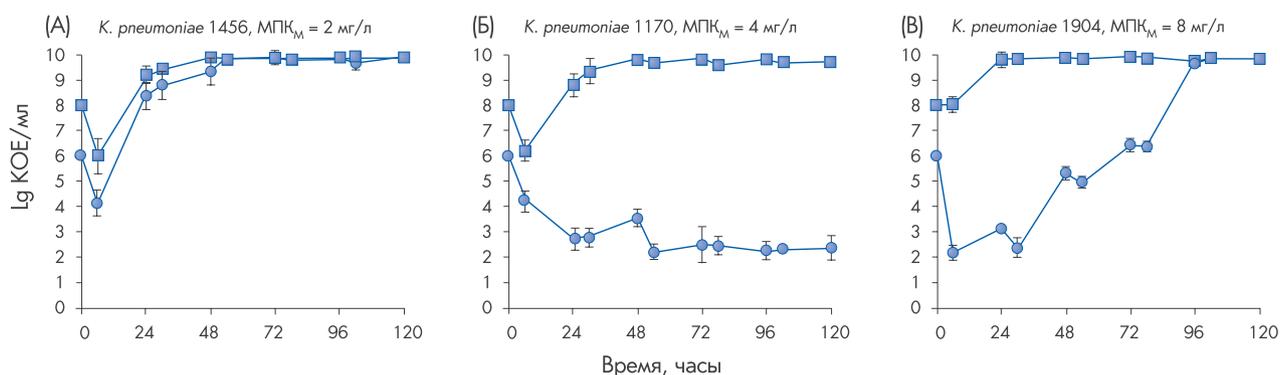


Рисунок 2. Кривые изменения численности клеток *K. pneumoniae*, продуцирующих карбапенемазы, под действием меропенема. Квадратами обозначена стартовая бактериальная плотность 10^8 КОЕ/мл, кругами – 10^6 КОЕ/мл.

снижалась более чем на 4 порядка и оставалась у предела количественного определения (10^2 КОЕ/мл) вплоть до окончания эксперимента (Рисунок 2Б). Для штамма *K. pneumoniae* 1904, продуцирующего карбапенемазу типа КРС, который характеризовался самым высоким значением МПК меропенема (8 мг/л), антимикробный эффект был выраженным: численность клеток снизилась с $\sim 10^6$ КОЕ/мл до предела количественного определения (10^2 КОЕ/мл), но на 48 ч. начался вторичный рост, и к концу эксперимента численность клеток практически достигала исходного значения (Рисунок 2В).

Фармакодинамика комбинации меропенема с авибактамом при воздействии на штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы, в динамической системе *in vitro*

При моделировании комбинированной терапии с сочетанным применением меропенема с авибактамом штамм *K. pneumoniae* 1456 с максимальной МПК комбинации 0,5 мг/л при стартовом инокуляте $\sim 10^6$ КОЕ/мл демонстрировал резкое снижение общей численности клеток на 4 порядка. Однако клетки полностью не элиминировались из системы и наблюдалось систематиче-

ское повышение и последующее снижение их количества на фоне введения антибиотика. Численность клеток при этом не превышала $\sim 10^5$ КОЕ/мл. При высокой стартовой микробной нагрузке численность клеток *K. pneumoniae* 1456 снижалась плавно на 4 порядка в течение первых двух суток, затем происходило медленное повышение концентрации клеток до $\sim 10^6$ КОЕ/мл (Рисунок 3А). Штамм *K. pneumoniae* 1170 (МПК меропенема в присутствии 4 мг/л авибактама 0,25 мг/л) был полностью элиминирован из системы за первые 6 ч. при низком стартовом титре. При повышенном стартовом инокуляте выраженный эффект меропенема наблюдался только в первые сутки, затем численность клеток медленно возрастала, приближаясь к концу эксперимента к 10^6 КОЕ/мл (Рисунок 3Б). В случае штамма *K. pneumoniae* 1904, являющегося продуцентом карбапенемаз типа КРС (МПК комбинации 0,125 мг/л), происходило одинаково быстрое снижение численности клеток в экспериментах как с низкой, так и с высокой бактериальной плотностью – примерно на 4–5 порядков с последующим слабым вторичным ростом, в результате которого численность клеток едва достигала 10^4 КОЕ/мл (Рисунок 3В).

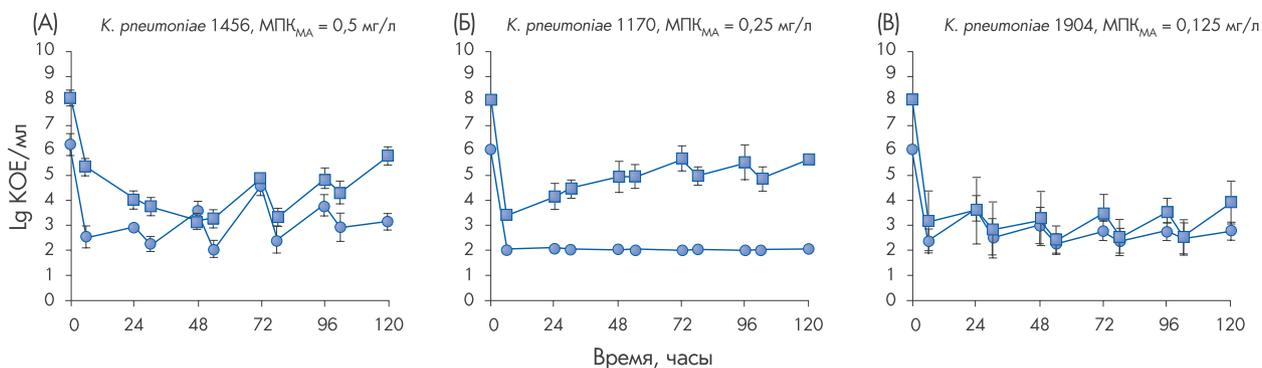


Рисунок 3. Кривые изменения численности клеток *K. pneumoniae*, продуцирующих карбапенемазы, под действием комбинации меропенема с авибактамом

Квадратами обозначена стартовая бактериальная плотность 10^8 КОЕ/мл, кругами – 10^6 КОЕ/мл.

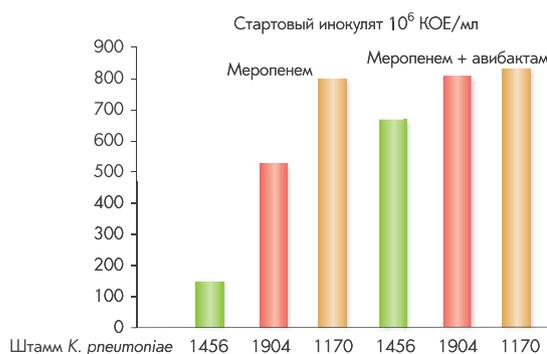
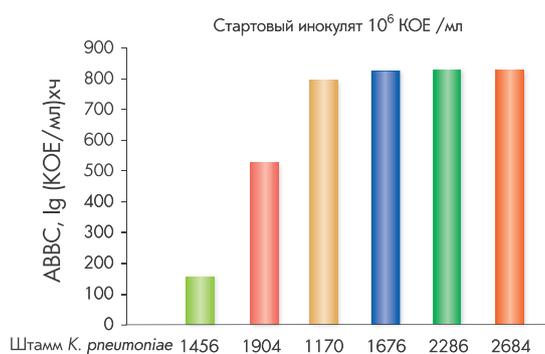
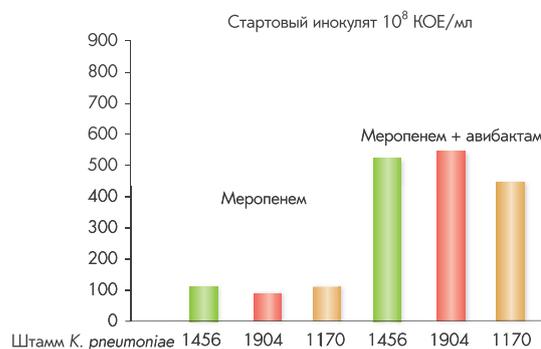
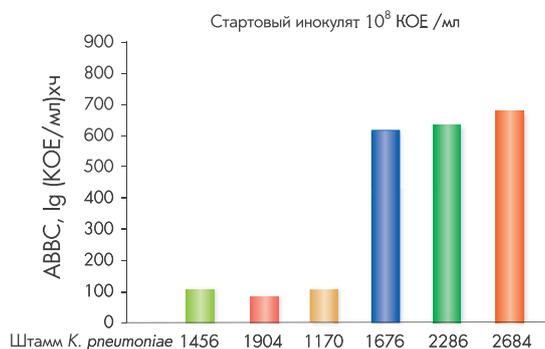


Рисунок 4. Значения параметра АВВС, отражающего уровень эффекта меропенема, при воздействии на штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие и не продуцирующие карбапенемазы, в разных стартовых титрах

Рисунок 5. Значения параметра АВВС, отражающего уровень эффекта меропенема по сравнению с эффектом комбинации меропенема с авибактамом, при воздействии на штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие карбапенемазы, в разных стартовых титрах

Сравнительный анализ антимикробного эффекта меропенема при его применении отдельно или в комбинации с авибактамом

Для анализа фармакодинамики меропенема, наблюдаемой при его действии на карбапенемазопродуцирующие штаммы *K. pneumoniae* с разной чувствительностью к меропенему (МПК от 2 до 8 мг/л), в динамической системе *in vitro* моделировали ФК антибиотика в ЭЖЛ. Мерой эффекта в отношении общей популяции служил интегральный параметр АВВС. Величины этого эффекта показаны на Рисунке 4.

В случае повышенного инокулята ($\sim 10^8$ КОЕ/мл) произошло четкое разделение между штаммами-продуцентами карбапенемаз и штаммами, не продуцирующими ферменты. Так, значение параметра АВВС для продуцентов составляло не более $100 \log(\text{КОЕ/мл}) \times \text{ч}$, что указывает на низкий эффект антибиотика. В то же время для штаммов, не продуцирующих карбапенемазы, значения параметра АВВС составляли $\geq 600 \log(\text{КОЕ/мл}) \times \text{ч}$, что указывает на высокую эффективность антибиотика.

В случае стартового инокулята $\sim 10^6$ КОЕ/мл результаты оказались неоднозначными, поскольку эффект меропенема в отношении штаммов-продуцентов карбапенемаз не зависел от их чувствительности к антибиотикам. В экспериментах с наиболее чувствительным из трех штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих карбапенемазы, меропенем был неэффективен, соответствующее значение АВВС было низким и составляло $\sim 150 \log(\text{КОЕ/мл}) \times \text{ч}$. В то же время в экспериментах с двумя более устойчивыми штаммами антибиотик хорошо работал и обеспечивал достижение значения АВВС, равного 500 или $800 \log(\text{КОЕ/мл}) \times \text{ч}$ для штаммов 1904 или 1170 соответственно. В экспериментах со штаммом 1170 эффект меропенема был сопоставим с таковым при воздействии на штаммы, не продуцирующие карбапенемазы.

Как было показано выше, добавление авибактама заметно усилило антимикробный эффект меропенема для обоих стартовых бактериальных титров трёх штаммов-продуцентов. Рисунок 5 иллюстрирует повышение значения АВВС при добавлении авибактама как для стартового инокулята $\sim 10^6$ КОЕ/мл, так и для $\sim 10^8$ КОЕ/мл (данные по меропенему совпадают с данными на Рисунке 4 для более наглядного сравнения).

Обсуждение

В данном исследовании мы изучали фармакодинамику меропенема при его действии на штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие и не продуцирующие карбапенемазы. Кроме того, проводили эксперименты с комбинацией меропенема с авибактамом с целью оценить ее антимикробный потенциал для борьбы со штаммами, продуцирующими карбапенемазы. Все испытания проводились при двух уровнях стартовой плотности бактерий, низкой и высокой (различие в 100 раз), чтобы смоделировать ситуации с легкой (низкая концентрация патогена в очаге) и тяжелой (высокая концентрация па-

тогена в очаге) инфекциями соответственно. Это позволит определить, есть ли различия в эффективности меропенема и его комбинации с авибактамом при разных стартовых концентрациях клеток бактерий, а также зависит ли эффект препаратов от способности штамма продуцировать карбапенемазы.

Согласно результатам исследования, эффективность меропенема зависит от способности штамма *K. pneumoniae* к продукции карбапенемаз. В случае со штаммами-продуцентами антибиотик не был эффективен при высокой стартовой микробной нагрузке. При низкой стартовой микробной нагрузке эффективность антибиотика сохранялась для одного из трех штаммов, причем относительно более устойчивого к меропенему. Слабый эффект меропенема в отношении самого чувствительного к нему штамма-продуцента карбапенемаз представляется странным. Объяснением этому феномену может служить предположение, что штамм *K. pneumoniae* 1456 способен к резкому увеличению интенсивности экспрессии гена, кодирующего карбапенемазы, находясь под воздействием меропенема, такие примеры были описаны ранее [17]. Согласно данным о чувствительности изученных штаммов к меропенему, представленным в Таблице 1, значения МПК меропенема резко возрастали при их определении в отношении продуцентов карбапенемаз при высокой микробной нагрузке. Такого феномена, когда активность антибиотика снижается при повышении концентрации клеток бактерии (инокулюм-эффект) [18], для штаммов, не продуцирующих карбапенемазы, обнаружено не было.

Штаммы, продуцирующие бета-лактамазы, но при этом характеризующиеся низкими значениями МПК антибиотиков, циркулируют в медицинских учреждениях [2]. И нет однозначных данных, подтверждающих, что значение МПК возрастает со способностью штамма к продукции ферментов [1]. Таким образом, при приемлемых уровнях МПК и без возможности определить способность патогена к продукции карбапенемаз, вероятно, следует оценивать чувствительность к карбапенемам при повышенном бактериальном титре, чтобы даже не зная основного механизма устойчивости к карбапенему, понимать перспективность терапии.

Главным выводом является то, что значения МПК, определенные в стандартных условиях, не позволяют адекватно оценить возможную эффективность терапии меропенемом, поскольку не учитывают, является ли штамм продуцентом карбапенемаз. Согласно нашим данным, эта характеристика штамма является не менее важной, чем значение МПК меропенема. Эти результаты согласуются с результатами клинических исследований, в которых при выборе терапии карбапенемами на основании приемлемых значений МПК в ряде случаев наблюдали отсутствие ожидаемого антимикробного эффекта или даже смерть пациентов, если они были инфицированы продуцентами карбапенемаз [19, 20]. То же самое наблюдалось с анаэробными бактериями [21]. Однако продолжается дискуссия о том, что должно быть приоритетом для выбора терапии карбапенемами: МПК препа-

рата или отсутствие способности патогена к продукции карбапенемаз. Так, в одной работе прогностическое моделирование показало, что значения МПК карбапенемов позволяют прогнозировать клинические исходы у пациентов [4]. Пациенты, инфицированные микроорганизмами с МПК меропенема или имипенема < 2 мг/л, вне зависимости от способности к продукции карбапенемаз, имели больше шансов на благоприятный клинический исход, чем в случае более высоких значений МПК.

Очевидно, что применение меропенема имеет риск нежелательных последствий для пациента, даже если штамм возбудителя чувствителен к меропенему, но неизвестна его способность к продукции карбапенемаз. В этой связи, с целью минимизации возможных рисков неэффективности лечения меропенемом, следует использовать его в комбинации с ингибитором карбапенемаз, например авибактамом. В нашем исследовании для штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих карбапенемазы, комбинация меропенема с авибактамом позволяла значительно снизить величину его МПК (Таблица 1). Эта комбинация также позволяла увеличить эффект меропенема и в динамической системе, подавить рост штаммов, продуцирующих карбапенемазы (Рисунок 3). Меропенем в сочетании с авибактамом не применяется в клинической практике и является новой, малоизученной комбинацией. Лишь в нескольких работах изучалась активность меропенема в присутствии авибактама при действии на штаммы бактерий, продуцирующих карбапенемазы, где был показан высокий потенциал данной комбинации в экспериментах *in vitro* [22] и даже *in vivo* [23], а также в отношении продуцентов металло-бета-лактамаз [24]. По результатам исследований комбинация имела хороший антимикробный потенциал.

Высокая эффективность комбинации с авибактамом другого антибиотика, цефтазидима, была показана ранее при лечении пациентов с бактериемией, вызванной карбапенеморезистентными энтеробактериями, в особенности *K. pneumoniae* [10, 25].

Ограничением данного исследования является использование небольшого количества штаммов *K. pneumoniae*.

Заключение

Несмотря на одинаковую чувствительность к меропенему изученных штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих и не продуцирующих карбапенемазы, эффект антибиотика в динамической системе *in vitro* в отношении этих штаммов значительно различался. Штаммы-продуценты карбапенемаз демонстрировали отсутствие или слабый эффект меропенема в динамической системе *in vitro*, в то время как в отношении штаммов *K. pneumoniae*, не продуцирующих карбапенемазы, меропенем характеризовался бактерицидным действием. Таким образом, на основании знаний о чувствительности штаммов *K. pneumoniae*, но без проверки их способности к продукции карбапенемаз, невозможно гарантировать успешный исход терапии карбапенемами, особенно при высоком бактериальном титре в очаге инфекции. Преодолеть резистентность, вызванную продукцией карбапенемаз, можно путем комбинирования меропенема с ингибитором авибактамом.

Исследование поддержано грантом Российского научного фонда (соглашение № 23-25-00524 от 13.01.2023 г.).

Литература

1. Abodakpi H., Chang K.T., Sánchez Díaz A.M., Cantón R., Lasco T.M., Chan K., et al. Prevalence of extended-spectrum beta-lactamase and carbapenemase-producing bloodstream isolates of *Klebsiella pneumoniae* in a tertiary care hospital. *J Chemother.* 2018;30(2):115-119. DOI: 10.1080/1120009X.2017.1399233
2. Fattouh R., Tijet N., McGeer A., Poutanen S.M., Melano R.G., Patel S.N. What is the appropriate meropenem MIC for screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in low-prevalence settings? *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;28;60(3):1556-1559. DOI: 10.1128/AAC.02304-15
3. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 14.0 2024. Available at: www.eucast.org/clinical_breakpoints/. Accessed November 12, 2024.
4. Esterly J.S., Wagner J., McLaughlin M.M., Postelnick M.J., Qi C., Scheetz M.H. Evaluation of clinical outcomes in patients with bloodstream infections due to gram-negative bacteria according to carbapenem MIC stratification. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56:4885-4890. DOI: 10.1128/AAC.06365-11
5. Robert J., Pantel A., Merens A., Meiller E., Lavigne J.P., Nicolas-Chanoine M.H.; ONERBA's carbapenem resistance study group. Development of an algorithm for phenotypic screening of carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* in the routine laboratory. *BMC Infect Dis.* 2017;7(1):78. DOI: 10.1186/s12879-016-2174-y
6. Beloborodov V.B., Gusarov V.U., Dekhnich A.M., Zamyatin M.N., Zubareva N.A., Zyryanov S.K., et al. Methodological recommendations "Diagnosis and antimicrobial therapy of infections caused by poly-resistant microorganisms". Approved 11/10/2019. Russian. Available at:

- <http://antibiotics.ru/files/pdf/2019/guidelines-daticmm-20191204.pdf>. Accessed November 12, 2024. Russian. (Белобородов В.Б., Гусаров В.Г., Дехнич А.В., Замятин М.Н., Зубарева Н.А., Зырянов С.К. и соавт. Методические рекомендации «Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными микроорганизмами». Утверждены 11.10.2019 г. Доступно по адресу: <http://antibiotics.ru/files/pdf/2019/guidelines-daticmm-20191204.pdf>. Ссылка активна на 12 ноября 2024 г.)
7. Alieva K.N., Golikova M.V., Dovzhenko S.A., Kobrin M.B., Strukova E.N., Ageevets V.A., et al. Testing the mutant selection window hypothesis with meropenem: *in vitro* model study with OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae*. *PLoS One*. 2023;18(8):e0288660. DOI: 10.1371/journal.pone.0288660
 8. Burgess D.S., Hall 2nd R.G. *In vitro* killing of parenteral beta-lactams against standard and high inocula of extended-spectrum beta-lactamases and non-ESBL producing *Klebsiella pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2004;49:41-46. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2003.11.007
 9. The national standard of the Russian Federation GOST R ISO 20776-1-2022. Investigation of the susceptibility of infectious agents, and evaluation of the functional characteristics of products for the study of susceptibility to antimicrobial agents. Part 1. A reference method of micro-dilutions in broth for laboratory studies of the activity of antimicrobial agents in relation to fast-growing aerobic bacteria that cause infectious diseases. Russian. Available at: https://rosgosts.ru/file/gost/11/100/gost_r_iso_20776-1-2022.pdf. Accessed November 12, 2024. Russian. (Национальный стандарт Российской Федерации ГОСТ Р ИСО 20776-1-2022. Исследование чувствительности инфекционных агентов, и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод микроразведений в бульоне для лабораторного исследования активности антимикробных агентов по отношению к быстрорастущим аэробным бактериям, вызывающим инфекционные заболевания. Доступно по адресу: https://rosgosts.ru/file/gost/11/100/gost_r_iso_20776-1-2022.pdf. Ссылка активна на 12 ноября 2024 г.)
 10. Wilson G.M., Fitzpatrick M., Walding K., Gonzalez B., Schweizer M.L., Suda K.J., et al. Meta-analysis of clinical outcomes using ceftazidime/avibactam, ceftolozane/tazobactam, and meropenem/vaborbactam for the treatment of multidrug-resistant Gram-negative infections. *Open Forum Infect Dis*. 2021;8(2):651. DOI: 10.1093/ofid/ofaa651
 11. Vázquez-Ucha J.C., Arca-Suárez J., Bou G., Beceiro A. New carbapenemase inhibitors: clearing the way for the beta-lactams. *Int J Mol Sci*. 2020;21(23):9308. DOI: 10.3390/ijms21239308
 12. Yahav D., Giske C.G., Grāmatniece A., Abodakpi H., Tam V.H., Leibovici L. New β -lactam- β -lactamase inhibitor combinations. *Clin Microbiol Rev*. 2020;34:e00115-20. DOI: 10.1128/CMR.00115-20
 13. Patent No. RU 2787393. Golikova M. V., Firsov A.A., Strukova E.N., Portnoy Y.A. Modified *in vitro* dynamic system (m-c) for pharmacokinetics-pharmacodynamic studies with antimicrobial drugs. Available at: https://yandex.ru/patents/doc/RU2787393C1_20230109. Accessed November 12, 2024. Russian. (Патент № RU 2787393. Голикова М. В., Фирсов А. А., Струкова Е. Н., Портной Ю. А. Модифицированная динамическая система *in vitro* (м-дс) для фармакокинетико-фармакодинамических исследований с антимикробными препаратами. Доступно по адресу: https://yandex.ru/patents/doc/RU2787393C1_20230109. Ссылка активна на 12 ноября 2024 г.)
 14. Nicolau D.P., Siew L., Armstrong J., Li J., Edeki T., Leary M., Das S. Phase 1 study assessing the steady-state concentration of ceftazidime and avibactam in plasma and epithelial lining fluid following two dosing regimens. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(10):2862-2869. DOI: 10.1093/jac/dkv170
 15. Wenzler E., Gotfried M.H., Loutit J.S., Durso S., Griffith D.C., Dudley M.N., Rodvold K.A. Meropenem-RPX7009 concentrations in plasma, epithelial lining fluid, and alveolar macrophages of healthy adult subjects. *Antimicrob Agents Chemother*. 2015;59(12):7232-7239. DOI: 10.1128/AAC.01713-15
 16. Firsov A.A., Zinner S.H., Vostrov S.N., Portnoy Y.A., Lubenko I.Y. AUC/MIC relationships to different endpoints of the antimicrobial effect: multiple-dose *in vitro* simulations with moxifloxacin and levofloxacin. *J Antimicrob Chemother*. 2002;50:533-539. DOI: 10.1128/AAC.47.5.1604-1613.2003
 17. Zhao Q., Sha L., Wu Z., Meng L., Yang F., Wu L., et al. Evolution of carbapenem resistance in *Klebsiella pneumoniae* and *Escherichia coli* carrying bla(NDM-1) gene: imipenem exposure results in sustained resistance memory of strains *in vitro*. *Ann Clin Microbiol Antimicrob*. 2023;12;22(1):46. DOI: 10.1186/s12941-023-00598-8
 18. Lenhard J.R., Bulman Z.P. Inoculum effect of β -lactam antibiotics. *J Antimicrob Chemother*. 2019;74(10):2825-2843. DOI: 10.1093/jac/dkz226
 19. Weisenberg S.A., Morgan D.J., Espinal-Witter R., Larone D.H. Clinical outcomes of patients with *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase producing *K. pneumoniae* after treatment with imipenem or meropenem. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2009;64:233-235. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2009.02.004
 20. Oliva A., Al Ismail D., Arcari G., Miele M.C., Casali E., Sacco F., et al. Ceftazidime/avibactam-resistant meropenem-susceptible KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: analysis of cases and evaluation of *in vitro* activity of fosfomicin-containing combinations. *J Glob Antimicrob Resist*. 2023;33:321-327. DOI: 10.1016/j.jgar.2023.03.012
 21. Cordovana M., Kostrzewa M., Soki J., Witt E., Ambretti S., Pranada A.B. *Bacteroides fragilis*: a whole MALDI-based workflow from identification to confirmation of carbapenemase production for routine laboratories. *Anaerobe*. 2018;54:246-253. DOI: 10.1016/j.anaerobe.2018.04.004

22. Allander L., Vickberg K., Fermér E., Söderhäll T., Sandegren L., Lagerbäck P., Tängdén T. Impact of porin deficiency on the synergistic potential of colistin in combination with β -lactam/ β -lactamase inhibitors against ESBL- and carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2024;6;68(11): e0076224. DOI: 10.1128/aac.00762-24
23. El Hafi B., Rasheed S.S., Abou Fayad A.G., Araj G.F., Matar G.M. Evaluating the efficacies of carbapenem/ β -lactamase inhibitors against carbapenem-resistant gram-negative bacteria *in vitro* and *in vivo*. *Front Microbiol.* 2019;10:933. DOI: 10.3389/fmicb.2019.00933
24. Li X., Chen Z., Jiao J., Wang S., Wang Y., Wu W., et al. *In vitro* and *in vivo* activity of meropenem+avibactam against MBL-producing carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2023;21(1):91-98. DOI: 10.1080/14787210.2022.2153117
25. Tumbarello M., Trecarichi E.M., Corona A., De Rosa F.G., Bassetti M., Mussini C., et al. Efficacy of ceftazidime-avibactam salvage therapy in patients with infections caused by *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase-producing *K. pneumoniae*. *Clin Infect Dis.* 2019;68(3):355-364. DOI: 10.1093/cid/ciy492