

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.iacmac.ru

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

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

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

Электронная почта:
cmac@antibiotic.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

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2021.

Содержание

Болезни и возбудители

- Баранцевич Н.Е., Леванова В.В., Баранцевич Е.П.
117 Региональные особенности распространения *Candida auris*
- Козлов Р.С., Муравьев А.А., Чагарян А.Н., Иванчик Н.В., Куркова А.А., Кузьменков А.Ю., Трушин И.В., Сухорукова М.В. и исследовательская группа «SPECTRUM»
127 Эпидемиология и антибиотикорезистентность серотипов *S. pneumoniae*, циркулирующих во взрослой популяции на территории Российской Федерации (исследование «SPECTRUM»)
- Демин М.В., Тихомиров Д.С., Бидерман Б.В., Глинщикова О.А., Дроков М.Ю., Сударииков А.Б., Туполева Т.А., Паровичникова Е.Н., Филатов Ф.П.
138 Цитомегаловирус после аллогенной трансплантации гемопоэтических стволовых клеток: реактивация или реинфекция новым штаммом?
- Гавриленко Д.И., Силивончик Н.Н.
147 Транслокация кишечной микрофлоры при циррозе печени: механизм, клиническое значение, маркеры
- 161 Резолюция по итогам совещания экспертов Российской Федерации по вопросам вакцинопрофилактики пневмококковых инфекций у взрослых

Антимикробные препараты

- Петровская Т.А., Тапальский Д.В.
166 Влияние антибиотиков разных групп на возникновение мутационной устойчивости к колистину у *Klebsiella pneumoniae*
- Стецюк О.У., Андреева И.В., Лекманов А.У., Хайкина Е.В.
173 Цефтазидим-авибактам в педиатрии – «портрет» пациента: кому и когда?
- Зигангирова Н.А., Лубенец Н.Л., Зайцев А.В., Пушкарь Д.Ю.
184 Антибактериальные препараты, снижающие риск развития резистентности
- 195 Резолюция совета экспертов по вопросу использования тиамфеникола глицинат ацетилцистеината в лечении внебольничных респираторных инфекций

Антибиотикорезистентность

- Кузьменков А.Ю., Виноградова А.Г., Трушин И.В., Эйдельштейн М.В., Авраменко А.А., Дехнич А.В., Козлов Р.С.
198 AMRmap – система мониторинга антибиотикорезистентности в России

Опыт работы

- Ваганова А.Н., Борисенко С.В., Нестерова Е.В., Трофимова Н.Н., Литвиненко И.В., Петунова Я.Г., Рока В.В., Вербов В.Н.
205 Инокулюм-эффект к цефазолину среди чувствительных к метициллину изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных от пациентов с заболеваниями кожи
- Швыдкая М.Г., Затевалов А.М., Митрохин С.Д., Джандарова Д.Т.
212 Сравнительная характеристика методов культивирования штаммов *Clostridioides difficile* и другой анаэробной флоры из образцов кала в рутинной практике бактериологической лаборатории

Влияние антибиотиков разных групп на возникновение мутационной устойчивости к колистину у *Klebsiella pneumoniae*

Петровская Т.А., Тапальский Д.В.

УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Республика Беларусь

Контактный адрес:

Татьяна Александровна Петровская
Эл. почта: tuzhik84@mail.ru

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, колистин, рифампицин, мутационная резистентность, комбинации антибиотиков.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Определить концентрации колистина, предотвращающие селекцию колистинорезистентных мутантов *K. pneumoniae*, и оценить влияние антибиотиков разных групп на возникновение мутационной устойчивости к колистину.

Материалы и методы. Для 88 штаммов *K. pneumoniae* методом последовательных микроразведений в бульоне определены минимальные подавляющие концентрации (МПК) колистина и выполнена детекция генов карбапенемаз. Селекция колистинорезистентных субпопуляций проведена на сбалансированном по содержанию катионов агаре Мюллера – Хинтона (МХА) с добавлением 16 мг/л колистина. Минимальная концентрация колистина, предотвращающая селекцию мутаций (mutant prevention concentration, MPC), определена на МХА, содержащем 0, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 и 128 мг/л колистина. Дополнительно определены MPC колистина в присутствии фиксированной концентрации второго антибиотика: кларитромицина (2 мг/л), азитромицина (2 мг/л), рифампицина (1 мг/л), клиндамицина (0,5 мг/л), меропенема (8 мг/л), линезолида (2 мг/л), амикацина (1 мг/л), ванкомицина (2 мг/л), доксициклина (2 мг/л).

Результаты. Все штаммы сохраняли чувствительность к колистину (МПК 0,06–1,0 мг/л). Устойчивость к меропенему (МПК > 8 мг/л) выявлена у 48 штаммов (54,5%), из них 46 являлись продуцентами карбапенемаз: КРС – 6 штаммов (6,8%), ОХА-48 – 26 штаммов (29,5%), NDM – 14 штаммов (15,9%). Рост колоний на МХА с 16 мг/л колистина наблюдался для 96,6% штаммов, частота возникновения мутационной устойчивости составила от 6×10^{-9} до 10^{-6} (медиана 2×10^{-7}). Мутационная природа устойчивости к колистину подтверждена для 36,4% штаммов. Значения MPC колистина находились в диапазоне 16–256 мг/л (MPC₅₀ 32 мг/л, MPC₉₀ 256 мг/л) и значительно (в 32–1024 раза) превосходили значения МПК. В присутствии 1 мг/л рифампицина MPC колистина снижались в 4–64 раза (MPC₅₀ 4 мг/л, MPC₉₀ 4 мг/л). В присутствии 2 мг/л доксициклина MPC колистина снижались в 2–64 раза для всех штаммов (MPC₅₀ 8 мг/л, MPC₉₀ 16 мг/л). Присутствие линезолида (2 мг/л) и ванкомицина (2 мг/л) значимо не изменяло MPC колистина. Меропенем в концентрации 8 мг/л не оказывал значимого влияния на MPC колистина для карбапенемазопродуцирующих штаммов *K. pneumoniae*. Ни один из антибиотиков не снижал MPC₅₀ колистина до его клинически достижимых сывороточных концентраций.

Выводы. Выявлена высокая частота формирования мутационной устойчивости к колистину у *K. pneumoniae*. Значения MPC колистина находятся за пределами его клинически достижимых сывороточных концентраций и могут снижаться в присутствии других антибиотиков.

Original Article

Influence of different antibiotic groups on the development of mutational resistance to colistin among *Klebsiella pneumoniae*

Petrovskaya T.A., Tapalski D.V.

Gomel State Medical University, Gomel, Republic of Belarus

Contacts:

Tatyana A. Petrovskaya
E-mail: tuzhik84@mail.ru

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, colistin, rifampicin, mutational resistance, antibiotic combinations.

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

External funding source: no external funding received.

Objective. To determine the concentration of colistin, preventing the selection of colistin-resistant mutants of *K. pneumoniae*, and to evaluate the effect of antibiotics of different groups on the development of mutational resistance to colistin.

Materials and methods. Minimum inhibitory concentrations (MIC) of colistin were determined for 88 *K. pneumoniae* strains by the method of serial microdilutions in broth, and carbapenemase genes were detected. The selection of colistin-resistant subpopulations was performed on cation-adjusted Müller-Hinton agar (MHA) with the addition of 16 mg/l colistin. Mutant prevention concentration (MPC) of colistin is determined on MHA containing 0, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 and 128 mg/l of colistin. Also, MPCs of colistin were determined in the presence of a fixed concentration of the second antibiotic: clarithromycin (2 mg/l), azithromycin (2 mg/l), rifampicin (1 mg/l), clindamycin (0.5 mg/l), meropenem (8 mg/l), linezolid (2 mg/l), amikacin (1 mg/l), vancomycin (2 mg/l), doxycycline (2 mg/l).

Петровская Т.А., Тапальский Д.В.

Results. All strains remained susceptible to colistin (colistin MIC 0.06–1.0 mg/l). Resistance to meropenem (MIC > 8 mg/l) was detected in 48 strains (54.5%), 46 of them were carbapenemase producers: KPC – 6 strains (6.8%), OXA-48 – 26 strains (29.5%), NDM – 14 strains (15.9%). Growth of colonies on MHA with 16 mg/l of colistin was found for 96.6% of the strains. The frequency of mutational resistance occurrence ranged from 6×10^{-9} to 10^{-6} (median: 2×10^{-7}). The mutational nature of colistin resistance was confirmed for 36.4% of the strains. The MPC values of colistin were in the range of 16–256 mg/l; (MPC₅₀ 32 mg/l, MPC₉₀ 256 mg/l) and significantly (32–1024 times) exceeded the MIC values. In the presence of 1 mg/l of rifampicin, the MPC of colistin decreased 4–64 times (MPC₅₀ 4 mg/l, MPC₉₀ 4 mg/l). In the presence of 2 mg/l of doxycycline, MPC of colistin decreased 2–64 times for all strains (MPC₅₀ 8 mg/l, MPC₉₀ 16 mg/l). The presence of linezolid (2 mg/l) and vancomycin (2 mg/l) did not significantly change MPC of colistin. Meropenem at a concentration of 8 mg/l had no significant effect on colistin MPC for carbapenemase-producing *K. pneumoniae* strains. None of the antibiotics lowered the MPC₅₀ of colistin to its clinically achievable serum concentrations.

Conclusions. A high frequency of formation of mutational resistance to colistin in *K. pneumoniae* was revealed. The MPC values of colistin are outside the range of clinically achievable serum concentrations and may decrease in the presence of other antibiotics.

Введение

Klebsiella pneumoniae с множественной и полной устойчивостью к антибиотикам является одним из главных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи. По данным сети по надзору за резистентностью к антимикробным препаратам в Центральной Азии и Восточной Европе (CAESAR), в 2018 г. нечувствительными к карбапенемам были 78% инвазивных штаммов *K. pneumoniae* в Республике Беларусь и 56% инвазивных штаммов *K. pneumoniae* в Российской Федерации [1]. Колистин – антибиотик с бактерицидным действием в отношении грамотрицательных бактерий, который используется в качестве препарата последнего резерва для лечения инфекций, вызванных карбапенеморезистентными штаммами *K. pneumoniae*. Увеличение потребления полимиксинов может способствовать накоплению резистентных к ним штаммов микроорганизмов [2]. Использование колистина является независимым фактором риска возникновения резистентности к нему у грамотрицательных бактерий в клинических условиях [3]. Показано, что колонизация или инфицирование устойчивыми к колистину штаммами *K. pneumoniae* связаны с предшествующим применением колистина [4]. В ряде исследований по изучению селективной деконтаминации кишечника было обнаружено, что использование колистина не только не предотвращает колонизацию продуцирующими бета-лактамазы расширенного спектра энтеробактериями, но и приводит к появлению устойчивых к колистину штаммов [5, 6].

Устойчивость к колистину у клинических изолятов грамотрицательных бактерий может не выявляться при использовании обычных методов определения чувствительности *in vitro* из-за наличия гетерорезистентности, которая связана с присутствием в бактериальной популяции отдельных малочисленных субпопуляций с более высокими уровнями устойчивости к антибиотику [7]. В случае наличия гетерорезистентности минимальная подавляющая концентрация (МПК) полимиксинов основной части популяции не превышает 2 мг/л, однако отдельные субпопуляции способны выживать и размножаться в присутствии антибиотика в концентра-

ции > 2 мг/л, замещая собой чувствительные клетки и формируя устойчивую популяцию. Наличие гетерорезистентности может обеспечивать высокие уровни устойчивости к полимиксином (МПК > 128 мг/л) [8, 9].

Устойчивость к полимиксином у *K. pneumoniae* часто имеет мутационную природу и проявляется изменениями структуры липополисахарида с ослаблением электростатического взаимодействия колистина с наружной мембраной микробной клетки [10, 11]. Согласно теории «окна селекции мутантов», пролиферация антибиотикорезистентных мутантов возможна только тогда, когда концентрация антибиотика выше его МПК, но ниже минимальной концентрации, предотвращающей селекцию мутантов (mutant prevention concentration, MPC) [12]. Было показано, что определяемые *in vitro* MPC колистина для *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* многократно превышают концентрации активного колистина, создаваемые в организме человека. Предполагается, что монотерапия колистином неизбежно приведет к селективному росту устойчивых к нему субпопуляций [13, 14].

Цель исследования – определить концентрации колистина, предотвращающие селекцию колистинорезистентных мутантов *K. pneumoniae*, и оценить влияние антибиотиков разных групп на возникновение мутационной устойчивости к колистину.

Материалы и методы

В исследование включено 88 штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от амбулаторных и госпитализированных пациентов в 2014–2019 гг. в различных регионах Беларуси. Определение чувствительности к антибиотикам проводилось автоматизированным методом на микробиологическом анализаторе Vitek 2 Compact (bioMérieux, Франция). МПК колистина определяли методом последовательных микроразведений в бульоне Мюллера – Хинтона (Oxoid, Великобритания). Выявление генов металло-бета-лактамаз и сериновых карбапенемаз KPC и OXA-48 выполнялось методом полимеразной

цепной реакции в реальном времени с использованием диагностических наборов «АмплиСенс MDR MBL-FL», «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии» Роспотребнадзора, Россия).

На первом этапе определяли частоту возникновения устойчивости к колистину *in vitro* и ее характер (гетерорезистентность или мутационная устойчивость). Использовали метод Oliver A. и соавт. [15]. Выполняли посев 100 мкл суспензии из суточной культуры, содержащей 5×10^9 микробных клеток/мл, на чашку с агаром Мюллера – Хинтона (МХА) с добавлением 16 мг/л колистина сульфата (Carl Roth, Германия). Расчетная посевная доза составляла 5×10^8 микробных клеток. Посевы инкубировали 24 ч. при 35°C, после чего подсчитывали количество выросших колоний. Частоту возникновения резистентности (ЧР) рассчитывали как соотношение количества выросших колоний к посевной дозе. Из колоний, выросших в присутствии 16 мг/л колистина, накапливали чистые культуры, после чего двукратно выполняли их субкультивирование на среде без антибиотика. Для того чтобы исключить возможную контаминацию во время исследований, для полученных колистинорезистентных изолятов выполнялась реидентификация с использованием диагностической системы API 20E (bioMérieux, Франция), а также определение МПК колистина методом микроразведений в бульоне.

Для фенотипической дифференцировки мутационной устойчивости к колистину от гетерорезистентности из суточных культур готовили суспензии с концентрацией 3000 клеток/мл и делали высевы по 100 мкл на чашку с МХА и чашку с МХА, содержащим 16 мг/л колистина сульфата. Посевы инкубировали 24 ч. при 35°C. Сравнивали количество колоний, выросших на каждой из чашек. При отсутствии роста на среде с колистином или при наличии на ней роста колоний в количестве менее 50% от количества колоний на неселективной чашке сформировавшуюся устойчивость рассматривали как вариант гетерорезистентности. Штаммы со сходным количеством колоний на селективной и неселективной среде или отличающиеся по количеству не более чем на 50% считали мутантными.

На втором этапе для 12 штаммов *K. pneumoniae*, у которых в предварительных экспериментах была подтверждена способность к формированию мутационной устойчивости к колистину, определяли МРС колистина. Из суточных культур готовили суспензии с оптической плотностью 16 по МакФарланд (5×10^9 микробных клеток/мл). С помощью спирального инокулятора и шпателя высевали по 100 мкл суспензии на чашки с МХА, содержащим колистина сульфат в концентрациях 0, 1, 2, 4, 8, 16, 32, 64 и 128 мг/л. Расчетная посевная доза составила 5×10^8 микробных клеток на чашку. Посевы инкубировали 24 ч. при 35°C. МРС определялась как наименьшая концентрация антибиотика, полностью предотвращающая рост колоний резистентных мутантов.

Дополнительно по аналогичной методике определяли МРС колистина в присутствии фиксированной концентрации второго антибиотика. В качестве второго антибиотика в МХА добавляли кларитромицин (2 мг/л),

азитромицин (2 мг/л), рифампицин (1 мг/л), клиндамицин (0,5 мг/л), меропенем (8 мг/л), линезолид (2 мг/л), амикацин (1 мг/л), ванкомицин (2 мг/л), доксициклин (2 мг/л). Используемые концентрации соответствовали рекомендованным EUCAST фармакокинетическим/фармакодинамическим пограничным концентрациям (меропенем, линезолид, амикацин) или пограничным концентрациям для *Haemophilus influenzae* (рифампицин) и *Staphylococcus aureus* (кларитромицин, азитромицин, клиндамицин, ванкомицин, доксициклин) [16].

Результаты

Все штаммы сохраняли чувствительность к колистину (МПК 0,06–1,0 мг/л). Устойчивость к меропенему (МПК > 8 мг/л) выявлена у 48 штаммов (54,5%), из них 46 являлись продуцентами карбапенемаз: KPC – 6 штаммов (6,8%), OXA-48 – 26 штаммов (29,5%), NDM – 14 штаммов (15,9%). Множественная резистентность (MDR, т.е. нечувствительность как минимум к одному антибиотику в трех и более группах антибиотиков [17]) выявлена у 67 штаммов (76,1%), чувствительность ко всем антибиотикам – только у 5 штаммов (5,7%).

Рост колоний на селективной среде, содержащей 16 мг/л колистина, был обнаружен для 85 (96,6%) штаммов. Значение ЧР составило от 6×10^{-9} до 10^{-6} (медиана 2×10^{-7}). После выполнения популяционного профилирования мутационная природа устойчивости к колистину подтверждена для 32 (36,4%) штаммов. Для 53 (60,2%) штаммов возникновение устойчивых к колистину субпопуляций было интерпретировано как проявление гетерорезистентности. У колистинорезистентных мутантов достигнутые значения МПК колистина значительно превышали концентрацию антибиотика в среде, на которой выполнялась селекция мутаций (МПК₅₀ 512 мг/л, МПК₉₀ ≥ 1024 мг/л).

Значения МРС колистина находились в диапазоне 16–256 мг/л и значительно (в 32–1024 раза) превосходили значения МПК (Рисунок 1, Таблица 1). Наиболее выраженный эффект потенцирования антимутантной активности отмечен для рифампицина. В присутствии фиксированной концентрации 1 мг/л этого антибиотика отмечено снижение МРС колистина в 4–64 раза, при этом значения МРС колистина не превышали 8 мг/л для всех штаммов, а МРС₉₀ снижалась с 256 мг/л до 4 мг/л. Также отмечено снижение МРС колистина в 2–64 раза в присутствии доксициклина (2 мг/л) для всех штаммов, МРС₉₀ снижалась с 256 мг/л до 16 мг/л. Присутствие линезолида (2 мг/л) и ванкомицина (2 мг/л) значительно не изменяло МРС колистина. Ни один из включенных в исследование антибиотиков не снижал МРС колистина до его ФК/ФД концентрации 2 мг/л.

Обсуждение

Полученные данные согласуются с результатами других исследований, описывающих частоту формирования мутационной устойчивости к колистину среди антибиотикочувствительных и карбапенемазопродуци-

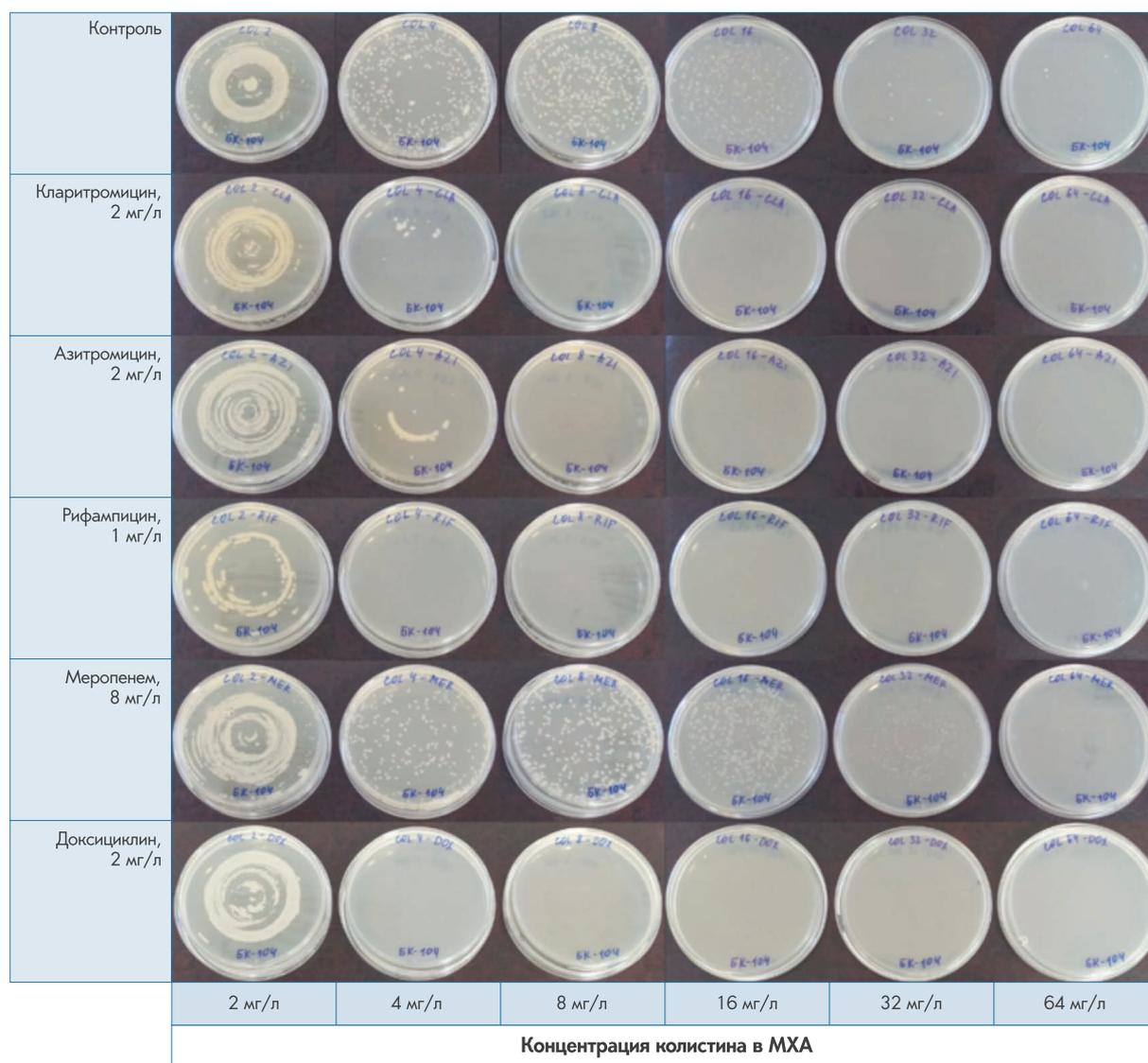


Рисунок 1. Влияние фиксированных концентраций антибиотиков на минимальную концентрацию колистина, предотвращающую селекцию резистентных мутантов (МРС)

Штамм *Klebsiella pneumoniae* БК-104, продуцент карбапенемазы ОХА-48.

рующих штаммов *K. pneumoniae*. Так, в работе Lee J. и соавт. показано развитие мутационной устойчивости к колистину у всех включенных в исследование штаммов *K. pneumoniae* с частотой $2,16 \times 10^{-6}$ – $4,28 \times 10^{-6}$, штаммы сохраняли устойчивость к колистину при последующем субкультивировании на средах, не содержащих антибиотиков [18]. В исследовании Meletis G. и соавт. гетерорезистентность к колистину выявлена у 12 из 16 (75%) колистиночувствительных штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих карбапенемазы КРС и VIM-1, ЧР составляла от $3,2 \times 10^{-7}$ до $3,5 \times 10^{-5}$ [10]. В исследовании Cannatelli A. и соавт. мутационная устойчивость к колистину у штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих карбапенемазы КРС-3 и ОХА-48, развивалась с частотой $4,7 \times 10^{-8}$ – $7,0 \times 10^{-7}$ [19].

Высокие значения МРС колистина, многократно превосходящие его МПК, хорошо соотносятся с результатами подобных исследований. Для выделенных от животных колистиночувствительных штаммов *Escherichia coli* значения МРС колистина находились в диапазоне 32–128 мг/л [20]. Для клинических изолятов *A. baumannii* значения МРС колистина находились в диапазоне от 32 до ≥ 128 мг/л [13, 14, 21]. Для клинических изолятов *K. pneumoniae* значения МРС колистина превышали 128 мг/л [13].

При внутривенном введении 225 мг метансульфоната колистина каждые 8 или 12 ч. в течение минимум 2 дней максимальная концентрация колистина в сыворотке крови (C_{max}) составляет 2,93 мг/л, а минимальная (C_{min}) – 1,03 мг/л [22]. Таким образом, при рекомен-

Таблица 1. Минимальные концентрации колистина, предотвращающие селекцию резистентных мутантов (MPC), в присутствии антибиотиков различных групп

Штамм	Карба- пенемаза	МПК коли- стина, мг/л	MPC коли- стина, мг/л	MPC колистина в присутствии второго антибиотика, мг/л								
				кларитромицин, 2 мг/л	азитромицин, 2 мг/л	рифампицин, 1 мг/л	клиндамицин, 0,5 мг/л	меропенем, 8 мг/л	линезолид, 2 мг/л	амикацин, 1 мг/л	ванкомицин, 2 мг/л	доксисицилин, 2 мг/л
B-377	KPC	0,5	256	8	8	4	64	256	64	64	256	32
БК-104	OXA-48	1	256	8	16	4	128	256	256	256	256	4
БК-114	OXA-48	0,5	32	8	8	4	4	16	16	16	16	4
БК-123	OXA-48	0,5	128	64	128	4	256	256	256	256	256	8
БК-080	NDM	1	32	8	8	8	8	32	32	32	32	8
БК-117	NDM	1	128	64	64	4	32	32	32	64	256	8
БК-148	NDM	0,25	32	8	8	4	8	16	16	8	16	8
K-20	нет	0,5	16	8	8	4	4	8	8	8	8	8
K-25	нет	0,5	32	8	8	4	8	4	64	8	32	4
K-37	нет	1	128	2	4	2	256	2	256	2	256	2
K-76	нет	1	128	2	4	4	64	-	256	4	64	16
K-81	нет	0,5	16	4	8	4	8	-	16	8	32	4
	MPC ₅₀		32	8	8	4	8	16	32	8	32	8
	MPC ₉₀		256	64	4	256	256	256	256	256	256	16

дованной дозе сывороточная концентрация колистина находится на уровне окна селекции мутантов и не препятствует возникновению мутационной устойчивости. Наиболее выраженный эффект снижения MPC колистина наблюдался в присутствии 1 мг/л рифампицина (MPC₉₀ = 4 мг/л) или 2 мг/л доксицилина (MPC₉₀ = 16 мг/л). Полученные в присутствии фиксированной концентрации второго антибиотика значения MPC колистина также находились за пределами клинически достижимых концентраций.

Эффект снижения MPC колистина для *K. pneumoniae* в присутствии фиксированной концентрации рифампицина 1 мг/мл был также обнаружен Nordqvist H. и соавт. Были получены значения MPC колистина 8–16 мг/л, что выше клинически достижимых концентраций колистина в сыворотке крови [21]. Ранее нами была показана способность макролидов потенцировать активность колистина в отношении колистинорезистентных штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих различные типы карбапенемаз [23]. Влияние азитромицина и кларитромицина на MPC колистина оказалось не столь выраженным, однако для всех штаммов отмечено снижение MPC в 2 и более раз. Для штаммов K-37 и K-76 значения MPC колистина в присутствии 1 мг/л кларитромицина снижались в 64 раза до 2 мг/л, что соответствует клинически достижимым сывороточным концентрациям.

Комбинация колистина с карбапенемами широко используется для лечения инфекций, вызванных экстремально резистентными грамотрицательными микроорганизмами [24]. Вместе с тем меропенем в концентрации 8 мг/л не оказывал значимого влияния на MPC колистина карбапенемазопродуцирующих штаммов *K. pneumoniae*, снижение MPC отмечено только для штаммов, чувствительных к меропенему.

Заключение

Полученные результаты свидетельствуют о высокой частоте формирования мутационной устойчивости к колистину у *K. pneumoniae*. Значения MPC колистина для *K. pneumoniae* находились в диапазоне 16–256 мг/л и значительно превосходили клинические достижимые сывороточные концентрации колистина. Отмечено снижение MPC колистина в присутствии фиксированных концентраций кларитромицина, азитромицина, рифампицина, доксицилина. Меропенем в фиксированной фармакокинетической/фармакодинамической концентрации не оказывал значимого влияния на MPC колистина для штаммов, продуцирующих карбапенемазы.

Литература

- Central Asian and Eastern European surveillance of antimicrobial resistance. Annual report 2019. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2019. Available at: www.euro.who.int/en/health-topics/disease-prevention/antimicrobial-resistance/publications/2019/central-asian-and-european-surveillance-of-antimicrobial-resistance.-annual-report-2019. Accessed March, 2021.
- Stefaniuk E.M., Tyski S. Colistin resistance in Enterobacterales strains – a current view. *Pol J Microbiol.* 2019;68(4):417-427. DOI: 10.33073/pjm-2019-055
- Ah Y.M., Kim A.J., Lee J.Y. Colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae*. *Int J Antimicrob Agents.* 2014;44(1):8-15. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2014.02.016
- Hrabak J., Niemczykova J., Chudackova E., Fridrichova M., Studentova V., Cervena D., et al. KPC-2-producing *Klebsiella pneumoniae* isolated from a Czech patient previously hospitalized in Greece and *in vivo* selection of colistin resistance. *Folia Microbiol (Praha).* 2011;56:361-365. DOI: 10.1007/s12223-011-0057-6
- Halaby T., Al Naiemi N., Kluytmans J., van der Palen J., Vandenbroucke-Grauls C.M. Emergence of colistin resistance in Enterobacteriaceae after the introduction of selective digestive tract decontamination in an intensive care unit. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57:3224-3229. DOI: 10.1128/AAC.02634-12
- Brink A.J., Coetzee J., Corcoran C., Clay C.G., Hari-Makkan D., Jacobson R.K., et al. Emergence of OXA-48 and OXA-181 carbapenemases among Enterobacteriaceae in South Africa and evidence of *in vivo* selection of colistin resistance as a consequence of selective decontamination of the gastrointestinal tract. *J Clin Microbiol.* 2013;51:369-372. DOI: 10.1128/JCM.02234-12
- El-Halfawy O.M., Valvano M.A. Antimicrobial heteroresistance: an emerging field in need of clarity. *Clin Microbiol Rev.* 2015;28:191-207. DOI: 10.1128/CMR.00058-14
- Meletis G., Tzampaz E., Sianou E., Tzavaras I., Sofianou D. Colistin heteroresistance in carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *J Antimicrob Chemother.* 2011;66(4):946-947. DOI: 10.1093/jac/dkr007
- Band V.I., Satola S.W., Burd E.M., Farley M.M., Jacob J.T., Weiss D.S. Carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* exhibiting clinically undetected colistin heteroresistance leads to treatment failure in a murine model of infection. *mBio* 2018;9(2):e02448-17. DOI: 10.1128/mBio.02448-17
- Meletis G., Skoura L. Polymyxin resistance mechanisms: from intrinsic resistance to *mcr* genes. *Recent Pat Antiinfect Drug Discov.* 2018;13(3):198-206. DOI: 10.2174/1574891X14666181126142704
- Aghapour Z., Gholizadeh P., Ganbarov K., Bialvaei A.Z., Mahmood S.S., Tanomand A., et al. Molecular mechanisms related to colistin resistance in Enterobacteriaceae. *Infect Drug Resist.* 2019;12:965-975. DOI: 10.2147/IDR.S199844
- Blondeau J.M., Hansen G., Metzler K., Hedlin P. The role of PK/PD parameters to avoid selection and increase of resistance: mutant prevention concentration. *J Chemother.* 2004;16(3):1-19. DOI: 10.1080/1120009X.2004.11782371
- Choi M.J., Ko K.S. Mutant prevention concentrations of colistin for *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *J Antimicrob Chemother.* 2014;69(1):275-277. DOI: 10.1093/jac/dkt315
- Cai Y., Li R., Liang B., Bai N., Liu Y., Wang R. *In vitro* antimicrobial activity and mutant prevention concentration of colistin against *Acinetobacter baumannii*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2010;54(9):3998-3999. DOI: 10.1128/AAC.00264-10
- Oliver A., Cantón R., Campo P., Baquero F., Blázquez J. High frequency of hypermutable *Pseudomonas aeruginosa* in cystic fibrosis lung infection. *Science.* 2000;288(5469):1251-1254. DOI: 10.1126/science.288.5469.1251
- European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 11.0 2021. Available at: www.eucast.org/clinical_breakpoints/. Accessed March, 2021.
- Magiorakos A.P., Srinivasan A., Carey R.B., Carmeli Y., Falagas M.E., Giske C.G., et al. Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clin Microbiol Infect.* 2012;18(3):268-281. DOI: 10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x
- Lee J.Y., Choi M.J., Choi H.J., Ko K.S. Preservation of acquired colistin resistance in Gram-negative bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;60(1):609-612. DOI: 10.1128/AAC.01574-15
- Cannatelli A., Santos-Lopez A., Giani T., Gonzalez-Zorn B., Rossolini G.M. Polymyxin resistance caused by *mgrB* inactivation is not associated with significant biological cost in *Klebsiella pneumoniae*. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015;59(5):2898-2900. DOI: 10.1128/AAC.04998-14
- Palupi M.F., Darusman H.S., Maheshwari H., Wibawan I.W.T., Sudarnika E. *In vitro* mutant prevention concentration of colistin sulfate against pathogenic *Escherichia coli*. *HVM Bioflux.* 2018;10(4):163-168.
- Nordqvist H., Nilsson L., Claesson C. Mutant prevention concentration of colistin alone and in combination with rifampicin for multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2016;35(11):1845-1850. DOI: 10.1007/s10096-016-2736-3
- Markou N., Markantonis S.L., Dimitrakis E., Panidis D., Boutzouka E., Karatzas S., et al. Colistin serum concentrations after intravenous administration in critically ill patients with serious multidrug-resistant, gram-negative bacilli infections: a prospective, open-label, uncontrolled study. *Clin Ther.* 2008;30:143-151. DOI: 10.1016/j.clinthera.2008.01.015

23. Tapalski D.V., Petrovskaya T.A., Kozlova A.I., Edelstein M.V. Potentiation of antimicrobial activity of colistin with antibiotics of different groups against multidrug- and extensively drug-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. *Klinicheskaia mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2020;22(2):128-136. Russian. (Тапальский Д.В., Петровская Т.А., Козлова А.И., Эйдельштейн М.В. Потенцирование антибактериальной активности колистина в отношении жественно- и экстремально-резистентных клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* антибиотиками разных групп. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2020;22(2):128-136.) DOI: 10.36488/смас.2020.2.128-136
24. Zavascki A. P., Bulitta J.B., Landersdorfer C.B. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013;11:1333-1353. DOI: 10.1586/14787210.2013.845523