

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:
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»

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2023.

Содержание

Болезни и возбудители

- 221 Микробиологическая диагностика внебольничных инфекций мочевых путей: резолюция экспертного совещания
Исаева Г.Ш., Исаева Р.А.
- 225 Механизмы межмикробных взаимодействий между пробиотическими микроорганизмами и *Helicobacter pylori*
Тулупов А.А., Бесчастнов В.В., Тюменков Ю.О., Ковалишена О.В., Широкова И.Ю., Белова И.В., Точилина А.Г., Соловьева И.В.
- 239 Пробиотики как средство усиления комменсальной микробиоты кожи при лечении инфицированных ран мягких тканей

Антимикробные препараты

- Захаренкова П.В., Рачина С.А., Козлов Р.С., Мамчич Д.С., Стрелкова Д.А., Шишкина К.К.
- 247 Практика применения антибиотиков населением различных регионов Российской Федерации: качественный, сравнительный анализ
Зырянов С.К., Бутранова О.И., Казанова А.М.
- 260 Фармакокинетика биापенема у пациентов в критических состояниях
Стецюк О.У., Андреева И.В., Шевчик И.А.
- 266 Пероральный цефалоспориин III поколения цефподоксим в терапии респираторных инфекций
Рачина С.А., Алхлавов А.А., Гасанова Д.Р., Голуб А.В.
- 277 Цефодизим: клинико-фармакологическая характеристика и потенциал клинического применения у пациентов с бактериальными инфекциями нижних дыхательных путей

Антибиотикорезистентность

- Карпов О.Э., Гусаров В.Г., Камышова Д.А., Орлова О.А., Петрова Л.В., Хакулова А.Э., Пивкина А.И., Замятин М.Н.
- 283 Оценка эффективности применения стратегии сдерживания антибиотикорезистентности: результаты десятилетнего исследования в многопрофильном стационаре

Опыт работы

- Стрелкова Д.А., Купрюшина О.А., Яснева А.С., Рачина С.А., Авдеев С.Н., Власенко А.Е., Федина Л.В., Иванова О.В., Каледина И.В., Ананичева Н.А.
- 297 Дифференциальная диагностика внебольничной бактериальной пневмонии и вирусного поражения легких у взрослых в стационаре
Попов Д.А., Вострикова Т.Ю.
- 304 Быстрая синдромная диагностика бактериемии – результаты первого опыта
Козлова О.П., Хостелиди С.Н., Смирнов С.А., Сатурнов А.В., Машкевич И.Р., Рысев А.В., Пичугина Г.А., Богомолова Т.С., Выборнова И.В., Васильева Н.В., Лобзин Ю.В., Клишко Н.Н.
- 311 Перитонит, обусловленный *Candida* spp. (описание клинических случаев, анализ регистра и обзор литературы)
Орлова Е.А., Петров В.И., Дорфман И.П., Шаталова О.В., Орлов М.А.
- 321 Антибактериальная терапия обострений хронической обструктивной болезни легких в многопрофильном стационаре

Быстрая синдромная диагностика bacteriemia – результаты первого опыта

Попов Д.А., Вострикова Т.Ю.

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр сердечно-сосудистой хирургии имени А.Н. Бакулева» Минздрава России, Москва, Россия

Контактный адрес:
Дмитрий Александрович Попов
Эл. почта: da_popov@inbox.ru

Ключевые слова: bacteriemia, сепсис, антибиотикотерапия, антибиотикорезистентность, диагностика, ПЦР.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Описать результаты первого опыта применения синдромного подхода к диагностике bacteriemia с использованием мультиплексных панелей для проведения полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР РВ).

Материалы и методы. В проспективное исследование включено 10 последовательных положительных гемокультур, полученных от 10 больных, находящихся в отделении реанимации и интенсивной терапии после кардиохирургических операций. Гемокультуривание осуществлялось во флаконах BacT/ALERT FA Plus с помощью инкубатора BacT/ALERT 3D 120 (bioMérieux, Франция). После сокращенного субкультивирования на кровяном агаре (4-6 часов) производили идентификацию монокультур с помощью MALDI-ToF масс-спектрометра Vitek MS (bioMérieux, Франция) с определением чувствительности к антимикробным препаратам на анализаторе Vitek-2 compact (bioMérieux, Франция). Продукцию карбапенемаз выявляли фенотипически с помощью модифицированного метода инактивации карбапенемов (mCIM-тест), определение молекулярного типа ферментов проводили с помощью иммунохроматографических тестов (NG-Test CARBA 5, NG Biotech, Франция). Параллельно с описанным процессом идентификации микроорганизмов и определения их чувствительности к антибиотикам производили анализ положительных гемокультур с помощью анализатора FilmArray 2.0 и мультиплексных ПЦР РВ панелей BioFire FilmArray BCID2 (bioMérieux, Франция).

Результаты. С помощью MALDI-ToF масс-спектрометрии в исследованных гемокультурах были идентифицированы следующие микроорганизмы: *K. pneumoniae* (n = 5), *E. faecalis* (n = 2), *A. baumannii* (n = 1), *Raoultella ornithinolytica* (n = 1) и *S. aureus* (n = 1). К карбапенемам были резистентны 4/5 (80%) изолятов *K. pneumoniae*, еще 1 изолят продуцировал БЛПС и сохранял чувствительность к карбапенемам. Все карбапенеморезистентные *K. pneumoniae* дали положительный результат mCIM-теста, при этом иммунохроматографическим методом была выявлена продукция карбапенемаз молекулярных типов NDM (n = 1), KPC (n = 1), а также комбинаций KPC + OXA-48 (n = 1) и NDM + OXA-48 (n = 1). Все *E. faecalis* были чувствительны к ампициллину, изоляты *A. baumannii* и *R. ornithinolytica* сохраняли чувствительность к карбапенемам, *S. aureus* был чувствительным к цефоспину. С помощью исследуемого метода на основе ПЦР РВ в 10 положительных гемокультурах было идентифицировано до вида 9/10 (90%) патогенов. В оставшемся 1 случае (*R. ornithinolytica*, не входит в перечень детектируемых видов) микроорганизм был отнесен к порядку Enterobacterales. Данные, полученные традиционным методом, полностью совпали с результатами ПЦР РВ-анализа, при этом сроки получения результатов были статистически значимо меньше по сравнению с традиционным микробиологическим исследованием (22 ч. против 49 ч., p < 0,001). В 7/10 (70%) случаев по результатам ПЦР РВ-анализа было принято решение по изменению тактики антибиотикотерапии.

Выводы. ПЦР РВ-анализ с использованием панелей BCID2 – эффективный и надежный инструмент для этиологической диагностики bacteriemia.

Original Article

Rapid syndromic approach to diagnosis of bacteremia – results of the first experience

Popov D.A., Vostrikova T.Yu.

A.N. Bakulev National Medical Research Center for Cardiovascular Surgery, Moscow, Russia

Contacts:
Dmitry A. Popov
E-mail: da_popov@inbox.ru

Objective. To describe results of the first experience of using a syndromic approach to the diagnosis of bacteremia using multiplex panels for real-time polymerase chain reaction (real-time PCR).

Materials and methods. The prospective study included 10 consecutive positive blood cultures obtained from 10 patients in the intensive care unit after cardiac surgery. Hemocultures were carried out in BacT/ALERT FA Plus vials using a BacT/ALERT 3D 120 incubator (bioMérieux, France). After short subcultivation

Попов Д.А., Вострикова Т.Ю.

Key words: bacteremia, sepsis, antibiotic therapy, antibiotic resistance, diagnosis, PCR.

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

External funding source: no external funding received.

on blood agar (4-6 hours), monocultures were identified using a MALDI-ToF mass spectrometer Vitek MS (bioMérieux, France) with sensitivity to antimicrobial drugs determined on a Vitek-2 compact analyzer (bioMérieux, France). The production of carbapenemases was detected phenotypically using a modified carbapenem inactivation method (mCIM test); the molecular type of enzymes was determined using immunochromatographic tests (NG-Test CARBA 5, NG Biotech, France). In parallel with the described process of identifying microorganisms and determining their sensitivity to antibiotics, positive blood cultures were analyzed using a FilmArray 2.0 analyzer and multiplex real-time PCR panels BioFire FilmArray BCID2 (bioMérieux, France).

Results. Using MALDI-ToF mass spectrometry, the following microorganisms were identified in the studied blood cultures: *K. pneumoniae* (n = 5), *E. faecalis* (n = 2), *A. baumannii* (n = 1), *Raoultella ornithinolytica* (n = 1) and *S. aureus* (n = 1). 4/5 (80%) of *K. pneumoniae* isolates were resistant to carbapenems; another 1 isolate produced an ESBL and remained sensitive to carbapenems. All carbapenem-resistant *K. pneumoniae* gave a positive result of the mCIM test, while the immunochromatographic method detected the production of carbapenemases of the molecular types NDM (n = 1), KPC (n = 1), as well as combinations of KPC + OXA-48 (n = 1) and NDM + OXA-48 (n = 1). All *E. faecalis* were sensitive to ampicillin, isolates of *A. baumannii* and *R. ornithinolytica* remained sensitive to carbapenems, *S. aureus* was sensitive to ceftazidime. Using the real-time PCR, 9/10 (90%) pathogens were identified to species level in 10 positive blood cultures. In the remaining 1 case (*R. ornithinolytica*, not included in the list of detected species), the microorganism was assigned to the order Enterobacterales. The data obtained by the traditional method completely coincided with the results of real-time PCR analysis, while the time to obtain results was statistically significantly shorter compared to traditional microbiological method (22 hours versus 49 hours, $p < 0.001$). In 7/10 (70%) cases, based on the results of real-time PCR analysis, a decision was made to change the tactics of antibiotic therapy.

Conclusions. Real-time PCR analysis using BCID2 panels is an effective and reliable tool for the etiological diagnosis of bacteremia.

Введение

Своевременное и адекватное назначение противомикробных препаратов при тяжелых инфекциях и сепсисе имеет важное значение, так как задержка эффективной терапии может сопровождаться увеличением риска неблагоприятного исхода [1]. Глобальные процессы роста антибиотикорезистентности с распространением устойчивых микроорганизмов резко усложнили процесс выбора эффективных режимов стартовой эмпирической антибиотикотерапии и явились катализатором разработки и внедрения в клиническую практику методов быстрой микробиологической диагностики, включающих как выявление возбудителей и определение их видовой принадлежности, так и определение прямых и/или косвенных характеристик их чувствительности к антимикробным препаратам [2].

Посев крови в настоящее время является основным методом для выявления бактериемии, которая может сопровождать течение инфекционного процесса. Оптимальный результат диагностики бактериемии достигается при использовании стандартизированных флаконов фабричного производства с обогащенной питательной средой, содержащих сорбенты антимикробных субстанций [3].

Известным ограничением метода гемокультивирования является длительность исследования – даже в лучших лабораториях с момента доставки проб на исследование до получения информации о наличии роста микроорганизмов проходит не менее 6–8 ч., необходимых для размножения микроорганизмов; дополнительное время требуется для идентификации патогена и определения его чувствительности к антибиотикам. С учетом зачастую некруглосуточного режима работы

микробиологических лабораторий общее время исследования может достигать нескольких суток. Вместе с тем, неотложное информирование лечащего врача о наличии факта роста проб крови, а также данные микроскопического исследования первичной гемокультуры с окраской по Граму дают исключительно важную информацию для объективизации антибиотикотерапии [4].

Существенно ускорить процесс идентификации возбудителей бактериемии возможно с помощью метода MALDI-ToF масс-спектрометрии при сокращенном субкультивировании, центрифугировании в пробирках с гелем, фильтрации или экстракции образца [3], а быстрее получить результаты определения чувствительности к антибактериальным препаратам – путем прямой постановки диско-диффузионного метода или прямой инокуляции карт микробиологического анализатора [5, 6].

Известен также ряд других подходов, среди которых следует выделить молекулярные методы на основе полимеразной цепной реакции в режиме реального времени (ПЦР РВ) [7].

В настоящее время в России зарегистрированы для клинического использования мультиплексные ПЦР панели BioFire FilmArray BCID2 (bioMérieux, Франция), предназначенные для быстрой идентификации ряда наиболее часто встречающихся возбудителей инфекций кровотока (бактерий и дрожжевых грибов) с одновременным определением важнейших генетических маркеров устойчивости к антибиотикам из положительной гемокультуры. Данная панель реализует технологию мультиплексной вложенной ПЦР РВ, позволяющую одновременно детектировать 33 микроорганизма-мишени и 10 генов устойчивости к антимикробным препаратам в

Таблица 1. Перечень детектируемых микроорганизмов и детерминант резистентности

Грамотрицательные бактерии	Грамположительные бактерии	Грибы	Детерминанты резистентности
<i>Acinetobacter calcoaceticus-baumannii</i> комплекс	<i>Enterococcus faecalis</i> <i>Enterococcus faecium</i>	<i>Candida albicans</i> <i>Candida auris</i>	Гены карбапенемаз: IMP, KPC, OXA-48-like, NDM, VIM
<i>Bacteroides fragilis</i>	<i>Listeria monocytogenes</i>	<i>Candida glabrata</i> <i>Candida krusei</i>	Гены бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС): CTX-M
<i>Haemophilus influenzae</i>	<i>Staphylococcus</i> spp.	<i>Candida parapsilosis</i> <i>Candida tropicalis</i>	Гены метициллинорезистентности: <i>mecA/C</i> , <i>mecA/C</i> с областью MREJ (MRSA)
<i>Neisseria meningitidis</i>	<i>Staphylococcus aureus</i> <i>Staphylococcus epidermidis</i> <i>Staphylococcus lugdunensis</i>	<i>Cryptococcus neoformans/gattii</i>	Гены колистинорезистентности: <i>mcr-1</i> Гены ванкомицинорезистентности: <i>vanA/B</i>
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	<i>Streptococcus</i> spp.		
<i>Stenotrophomonas maltophilia</i>	<i>Streptococcus agalactiae</i> <i>Streptococcus pneumoniae</i> <i>Streptococcus pyogenes</i>		
Порядок Enterobacterales			
<i>Enterobacter cloacae</i> комплекс			
<i>Escherichia coli</i>			
<i>Klebsiella aerogenes</i>			
<i>Klebsiella oxytoca</i>			
<i>Klebsiella pneumoniae</i>			
Группа <i>Proteus</i> spp.			
<i>Salmonella</i> spp.			
<i>Serratia marcescens</i>			

течение примерно 1 ч. после получения положительной гемокультуры. Перечень детектируемых мишеней представлен в Таблице 1 [8].

Синдромный подход к диагностике бактериемии в сочетании с программами управления антимикробной терапией делает возможным переход от эмпирической к целенаправленной антимикробной терапии уже в первые сутки после постановки диагноза, что, в итоге, существенно улучшает клинические исходы у пациентов. Так, в метаанализе Timbrook T. и соавт. показано, что применение быстрых молекулярных методов с возможностью получения результата в течение 24 ч. и менее (включая мультиплексную ПЦР, MALDI-ToF масс-спектрометрию, метод гибридизации на ДНК микрочипах и метод флуоресцентной *in situ* гибридизации) совместно с программами управления антимикробной терапией сопровождается статистически значимым снижением риска летального исхода у пациентов с инфекциями кровотока (ОШ 0,64; 95% ДИ 0,51–0,79), снижением времени до начала эффективной антибиотикотерапии на 5 ч. и продолжительности пребывания в стационаре в среднем на 2,5 дня [9].

Цель данного исследования – описание первого опыта применения синдромного подхода к диагностике бактериемии с использованием мультиплексных ПЦР РВ панелей.

Материалы и методы

В проспективное исследование включено 10 последовательных положительных гемокультур, полученных от 10 больных, находящихся в отделении реанимации и интенсивной терапии после кардиохирургических операций. Работа выполнялась с использованием образцов, направляемых в лабораторию по назначениям лечащих врачей, и не предполагала дополнительных интервенционных вмешательств. Показаниями к исследованию крови на стерильность было наличие верифицированного очага инфекции или подозрения на него в сочета-

нии с соответствующими клинико-лабораторными признаками инфекционного воспаления.

Образцы крови, взятые в асептических условиях из периферической вены, асептически вносили в парные флаконы для аэробного гемокультивирования BacT/ALERT FA Plus (bioMérieux, Франция), содержащие обогащенную питательную среду и сорбент для антимикробных субстанций, после чего инкубировали их в аппарате BacT/ALERT 3D 120 (bioMérieux, Франция). При этом в автоматическом режиме происходил мониторинг состояния индикатора, находящегося в дне флакона и реагирующего на нарастание концентрации углекислого газа, синтезируемого микроорганизмами в процессе своего роста. При изменении цвета индикатора инкубатор подавал сигнал, после чего производили микроскопию положительных гемокультур и их высев на дифференциально-диагностические среды. После сокращенного субкультивирования на кровяном агаре (4–6 ч.) производили идентификацию монокультур с помощью MALDI-ToF масс-спектрометра Vitek MS (bioMérieux, Франция) с определением чувствительности к антимикробным препаратам на анализаторе Vitek-2 compact (bioMérieux, Франция). Продукцию карбапенемаз у энтеробактерий выявляли фенотипически с помощью модифицированного метода инактивации карбапенемов (mCIM-тест), определение молекулярного типа ферментов проводили с помощью иммунохроматографических тестов (NG-Test CARBA 5, NG Biotech, Франция) [10].

Параллельно с описанным процессом идентификации микроорганизмов и определения их чувствительности к антибиотикам производили анализ положительных гемокультур с помощью анализатора FilmArray 2.0 и мультиплексных ПЦР РВ панелей BioFire FilmArray BCID2 (bioMérieux, Франция) в соответствии с рекомендациями производителя. Для этого панель устанавливали в специальный штатив, после чего последовательно вносили в нее раствор для гидратации лиофилизированных реагентов и 200 мкл тестируемого образца, смешанного с лизирующим буфером. Панель заполняется всеми

растворами в требуемом объеме за счет имеющегося в ней дозированного вакуума. Все компоненты, необходимые для выполнения исследования, входят в комплект поставки тестовых наборов. После описанной пробоподготовки, занимающей не более 1–2 мин., панель загружали в анализатор и запускали его в работу; далее вмешательство оператора не требовалось. По окончании анализа его результаты могут быть распечатаны, а также переданы в лабораторную информационную систему.

Данные представлены в виде абсолютных значений, медианы и интерквартильного размаха (25-й и 75-й процентиля), а также долей. Для выявления статистически значимых различий при сравнении групп непрерывных данных использован метод Манна-Уитни. Различия в сравниваемых группах при $p < 0,05$ приняты статистически значимыми.

Результаты

С помощью исследуемого метода на основе ПЦР РВ в 10 положительных гемокультурах было идентифицировано до вида 9/10 (90%) патогенов. В оставшемся одном случае было определено, что возбудитель бактериемии относится к порядку Enterobacterales. Результаты идентификации микроорганизмов и определения детерминант антибиотикорезистентности представлены в Таблице 2.

С помощью MALDI-ToF масс-спектрометрии в исследованных гемокультурах были идентифицированы следующие микроорганизмы: *K. pneumoniae* ($n = 5$), *E. faecalis* ($n = 2$), *A. baumannii* ($n = 1$), *Raoultella ornithinolytica* ($n = 1$) и *S. aureus* ($n = 1$). К карбапенемам были резистентны 4/5 (80%) изолятов *K. pneumoniae*, еще 1 изолят продуцировал БЛРС и сохранял чувстви-

тельность к карбапенемам. Все карбапенеморезистентные *K. pneumoniae* дали положительный результат mCIM-теста, при этом иммунохроматографическим методом была выявлена продукция карбапенемаз молекулярных типов NDM ($n = 1$), KPC ($n = 1$), а также комбинаций KPC + OXA-48 ($n = 1$) и NDM + OXA-48 ($n = 1$). Все *E. faecalis* были чувствительны к ампициллину, изоляты *A. baumannii* и *R. ornithinolytica* сохраняли чувствительность к карбапенемам, *S. aureus* был чувствительным к цефокситину. Таким образом, данные, полученные традиционным методом, полностью совпали с результатами ПЦР РВ-анализа.

В Таблице 3 приведены временные затраты, потребовавшиеся для выявления положительной гемокультуры с момента доставки образцов биоматериала в лабораторию, а также время до получения результатов идентификации патогенов и определения их чувствительности к антибиотикам и детекции генетических детерминант резистентности.

Из представленных данных следует, что сроки получения результатов ПЦР-анализа были статистически значимо меньше, чем время до выдачи окончательного результата при проведении традиционного микробиологического исследования (22 ч. против 49 ч., $p < 0,001$).

В 7/10 (70%) случаев по результатам исследования с помощью панели BCID2 было принято решение по изменению тактики антибиотикотерапии.

Клинический пример

Ребенок Б., сразу после рождения поступил в ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А.Н. Бакулева» Минздрава России по жизненным показаниям в связи с наличием диагноза критической коарктации аорты, перимембранозного дефекта межжелудочковой перегородки на фоне откры-

Таблица 2. Сопоставление результатов традиционных методов и панели BCID2

№ п/п	Результат идентификации (MALDI-ToF MS)	Чувствительность к антибиотикам, детерминанты антибиотикорезистентности (фенотипический метод)	Результат идентификации (BCID2)	Детерминанты антибиотикорезистентности (BCID2)
1.	MSSA	Fox S	<i>S. aureus</i>	-
2.	<i>K. pneumoniae</i>	Carb R, NDM	<i>K. pneumoniae</i> group	CTX-M, NDM
3.	<i>K. pneumoniae</i>	Carb R, KPC, OXA-48	<i>K. pneumoniae</i> group	KPC, OXA-48
4.	<i>A. baumannii</i>	Carb S	<i>A. baumannii</i> complex	
5.	<i>K. pneumoniae</i>	БЛРС	<i>K. pneumoniae</i> group	CTX-M
6.	<i>K. pneumoniae</i>	Carb R, KPC	<i>K. pneumoniae</i> group	KPC
7.	<i>E. faecalis</i>	Amp S	<i>E. faecalis</i>	-
8.	<i>R. ornithinolytica</i>	Carb S	Enterobacterales	-
9.	<i>E. faecalis</i>	Amp S	<i>E. faecalis</i>	-
10.	<i>K. pneumoniae</i>	Carb R, NDM	<i>K. pneumoniae</i> group	CTX-M, NDM, OXA-48

БЛРС – бета-лактамазы расширенного спектра; Amp – ампициллин; Carb – карбапенем; CTX-M – бета-лактамазы расширенного спектра молекулярного типа CTX-M; Fox – цефокситин; KPC – карбапенемаза молекулярного типа KPC; MSSA – метициллиночувствительный *S. aureus*; NDM – карбапенемаза молекулярного типа NDM; OXA-48 – карбапенемаза молекулярного типа OXA-48; R – резистентный; S – чувствительный.

Таблица 3. Сравнение временных затрат на получение результата идентификации гемокультур и определения их чувствительности к антибиотикам

№ пробы п/п	Время, ч				Коррекция терапии по результатам BCID2
	До получения «+» гемокультуры	До результата BCID2	До идентификации патогена	До определения чувствительности к антибиотикам	
1.	10	11	53	63	Да
2.	8	24	27	49	Да
3.	13	26	29	49	Нет
4.	8	27	27	48	Нет
5.	14	23	25	44	Да
6.	12	21	26	47	Да
7.	18	19	46	71	Да
8.	21	36	44	68	Нет
9.	19	20	31	50	Да
10.	20	21	24	47	Да
Me (25-75)	13,5 (9,5-19,3)	22 (19,8-26,3)	28 (25,8-44,5)	49 (47-64,3)	-

того артериального протока и открытого овального окна. Сопутствующая патология – уретерогидронефроз, поликистоз правой почки (выявлены внутриутробно), синдром Ау-Клайна (наследственный аутосомно-доминантный генетический синдром, характеризующийся множественными врожденными пороками развития, включая пороки сердца и почек). В первые сутки жизни экстренно выполнена операция резекции коарктации аорты с наложением анастомоза конец-в-конец, а также суживание легочной артерии. Течение раннего послеоперационного периода происходило на фоне медленно разрешающейся сердечной и дыхательной недостаточности. На 5-й день после операции отмечено присоединение ИВЛ-ассоциированной инфекции нижних дыхательных путей, в посевах трахеального аспирата получен рост *Escherichia coli* – продуцента БЛРС, в связи с чем была начата терапия меропенемом. На 6-е сутки после операции ребенок был экстубирован и планово переведен из отделения реанимации в хирургическое отделение в удовлетворительном состоянии. На 15-е сутки после операции отмечена остро возникшая отрицательная динамика состояния ребенка с появлением клинико-лабораторных признаков инфекции (гипертермия $> 38^{\circ}\text{C}$, лейкоцитоз $33 \times 10^9/\text{л}$ со сдвигом влево до 11% незрелых форм нейтрофилов, уровень прокальцитонина в сыворотке крови 13,22 нг/мл), обусловленных развитием некротического энтероколита. Ребенок повторно поступил в отделение реанимации, переведен на искусственную вентиляцию легких, начата комплексная интенсивная терапия. Взяты посевы крови, к антибактериальной терапии меропенемом эмпирически добавлен ванкомицин. Через 12 ч. (в ночное время) получен рост гемокультуры, при микроскопии – грамотрицательные палочки. Утром следующего рабочего дня первичная гемокультура была высеяна на плотные питательные среды, а также исследована с применением мультиплексной панели BCID2 на анализаторе FilmArray, через 1 ч. 7 мин. получен результат иденти-

фикации патогена с расшифровкой механизма антибиотикорезистентности – *K. pneumoniae*, продуцент сериновых карбапенемаз молекулярного типа KPC. Время с момента взятия крови на посев до получения результата ПЦР РВ составило 21 ч. Меропенем отменен, таргетно назначен цефтазидим/авибактам. Через 6 ч. после посева первичной гемокультуры на плотные питательные среды путем сокращенного субкультивирования и идентификации патогена с помощью метода MALDI-ToF масс-спектрометрии подтвержден результат, полученный с помощью ПЦР РВ. Утром следующего рабочего дня выявлен положительный результат mСIM-теста, с помощью теста CARBA 5 подтверждена продукция данным клиническим изолятом карбапенемаз молекулярного типа KPC, получены результаты определения чувствительности к антибиотикам. Окончательный результат микробиологического исследования получен через 47 ч. после доставки образцов крови в лабораторию. Таким образом, применение мультиплексной панели BCID2 и анализатора FilmArray позволило произвести коррекцию антибиотикотерапии на 26 ч. раньше, чем при использовании традиционных методов диагностики.

На фоне проводимой антибиотикотерапии состояние ребенка стабилизировано. После окончания курса цефтазидима/авибактама и купирования признаков инфекции больной был переведен для прохождения следующего этапа лечения в стационар урологического профиля.

Заключение

Лечение больных с тяжелыми инфекциями является весьма сложным и ответственным процессом, особенно в условиях высокого уровня антибиотикорезистентности современных патогенов. В этой связи быстрое получение качественных результатов микробиологического обследования больных является определяющим фактором

успеха лечения и благоприятного исхода. Бактериемия – важнейший клинический феномен, отражающий этиологию основного инфекционного процесса, а также в ряде случаев являющийся одним из критериев тяжести состояния. Максимально быстрое получение гемокультуры и определение ее микробиологических характеристик у больных с бактериемией относятся к первоочередным задачам лаборатории.

Произошедшее несколько десятилетий назад широкое внедрение в клиническую практику автоматических инкубаторов гемокультур, использующих высококачественные питательные среды, позволило оптимизировать этап получения первичных гемокультур, более 90% которых выявляется в течение 1 суток после доставки проб в лабораторию [3]. Дальнейший процессинг первичной гемокультуры должен дать информацию о виде возбудителя и его важнейших клинических характеристиках – чувствительности к антимикробным препаратам, а также в ряде случаев о наличии тех или иных детерминант антибиотикорезистентности. Одним из весьма перспективных направлений при этом является использование мультиплексных ПЦР PB технологий, в том числе панелей BioFire BCID2. Высокая диагностическая эффективность панели BCID2 подтверждена данными метаанализа Peri A. и соавт. [11]. Ряд современных публикаций также свидетельствует о высокой клинической ценности полу-

чаемых при этом результатов, позволяющих кардинально изменить подход к процессу назначения и коррекции антибиотикотерапии у больных с бактериемией. Быстрое получение результатов, включающих как вид патогена, так и его генетические детерминанты антибиотикорезистентности, позволяет в большинстве случаев таргетно выбирать стартовый антибиотик, так как время исследования составляет всего около 1 ч. Такой подход способствует снижению рисков неблагоприятных исходов у пациентов с бактериемией. В частности, в своем исследовании Satlin M. и соавт. продемонстрировали статистически значимое ($p = 0,007$) сокращение 14- и 30-дневной летальности у пациентов с бактериемией, вызванной карбапенеморезистентными энтеробактериями в случае применения панели BCID. Использование панели BCID с возможностью детектировать гены карбапенемазы было ассоциировано со снижением 30-дневной летальности (ОШ = 0,37, 95% ДИ 0,16–0,84) [12].

По данным проведенного нами исследования использование панелей BCID2 позволило статистически значимо (с 49 до 22 ч., $p < 0,001$) сократить время с момента индикации положительной гемокультуры до получения данных, позволяющих выбрать необходимую тактику антибиотикотерапии. Выигрыш во времени мог бы быть еще больше в случае возможности круглосуточного проведения ПЦР-анализа, при этом на нашем

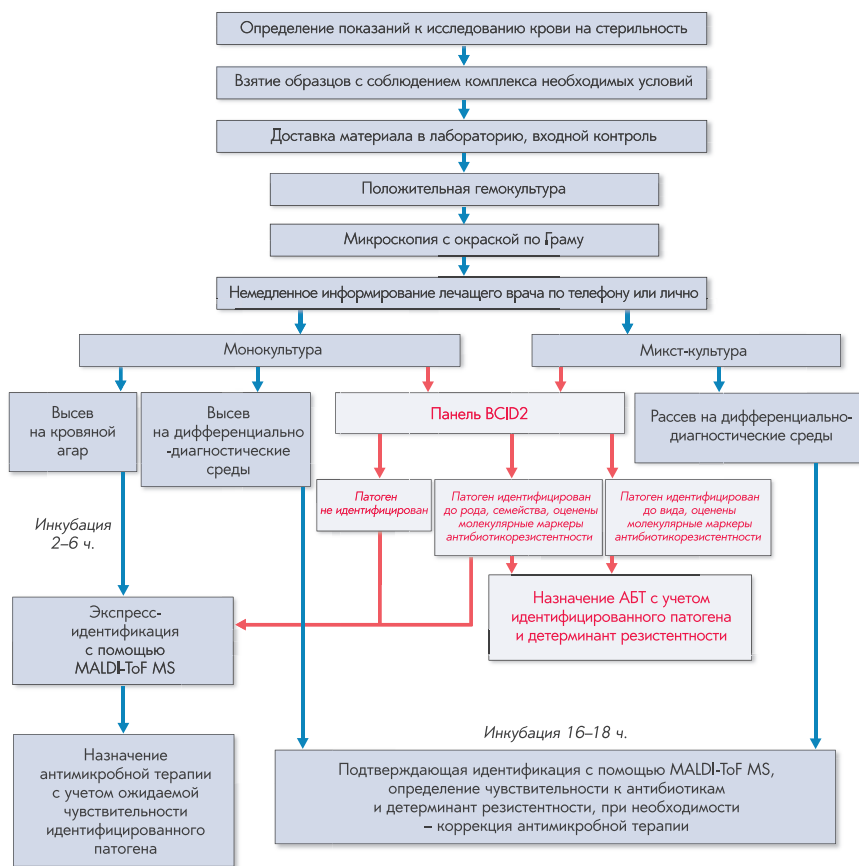


Рисунок 1. Алгоритм посева крови

материале время до получения результата составило бы около 14,5 ч. с момента доставки флаконов с пробами крови из клинических подразделений в лабораторию.

Следует отметить, что использование панелей BCID2 в равной степени эффективно как в отношении монокультур, так и в отношении полимикробных гемокультур, работа с которыми при использовании тра-

диционных микробиологических методов сопряжена с существенными временными затратами. В этой связи, а также с учетом существующих клинических рекомендаций и опыта, накопленного в процессе научно-практической работы, авторами этой статьи предложен обновленный клинико-лабораторный алгоритм (Рисунок 1), позволяющий оптимизировать посев крови.

Литература

1. Ferrer R., Martin-Loeches I., Phillips G., Osborn T.M., Townsend S., Dellinger R.P., et al. Empiric antibiotic treatment reduces mortality in severe sepsis and septic shock from the first hour: results from a guideline-based performance improvement program. *Crit Care Med.* 2014;42(8):1749-1755. DOI: 10.1097/CCM.0000000000000330
2. Beloborodov V.B., Goloschapov O.V., Gusarov V.G., Dekhnich A.V., Zamyatin M.N., Zubareva N.A., et al. Diagnostics and antimicrobial therapy of the infections caused by multiresistant microorganisms, update 2022 (methodological recommendation). *Messenger of anesthesiology and resuscitation.* 2022;19(2):84-114. Russian. (Белобородов В.Б., Голощапов О.В., Гусаров В.Г., Дехнич А.В., Замятин М.Н., Зубарева Н.А. и соавт. Диагностика и антимикробная терапия инфекций, вызванных полирезистентными штаммами микроорганизмов, обновление 2022 г. (методические рекомендации). *Вестник анестезиологии и реаниматологии.* 2022;19(2):84-114.) DOI: 10.21292/2078-5658-2022-19-2-84-114
3. Popov D.A., Nadtochey E.A., Vostrikova T.Yu., Ovsenko S.T. Accelerated techniques of pathogen identification from positive blood cultures by MALDI-TOF mass spectrometry. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia.* 2016;18(4):296-307. Russian. (Попов Д.А., Надточей Е.А., Вострикова Т.Ю., Овсенко С.Т. Ускоренные методы идентификации положительных гемокультур с применением MALDI-ToF масс-спектрометрии. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2016;4:296-307.)
4. Barenfanger J., Graham D.R., Kolluri L., Sangwan G., Lawhorn J., Drake C.A., et al. Decreased mortality associated with prompt Gram staining of blood cultures. *Am J Clin Pathol.* 2008;130(6):870-876. DOI: 10.1309/AJCPVMDQU2ZJDPBL
5. Jonasson E., Matuschek E., Kahlmeter G. The EUCAST rapid disc diffusion method for antimicrobial susceptibility testing directly from positive blood culture bottles. *J Antimicrob Chemother.* 2020;75(4):968-978. DOI: 10.1093/jac/dkz548
6. Höring S., Massarani A.S., Löffler B., Rödel J. Rapid antibiotic susceptibility testing in blood culture diagnostics performed by direct inoculation using the VITEK®-2 and BD Phoenix™ platforms. *Eur J Clin Microbiol Infect Dis.* 2019;38(3):471-478. DOI: 10.1007/s10096-018-03445-3
7. Peri A.M., Stewart A., Hume A., Irwin A., Harris P.N.A. New microbiological techniques for the diagnosis of bacterial infections and sepsis in ICU including point of care. *Curr Infect Dis Rep.* 2021;23(8):12. DOI: 10.1007/s11908-021-00755-0
8. BIOFIRE Blood Culture Identification 2 Panel (BCID2) for diagnostics of bloodstream infections. Available at: <https://www.biomerieux-russia.com/клиническая-диагностика/продукт/панель-biofire@-bcid2/>. Accessed July 17, 2023. Russian. (Панель BIOFIRE Blood Culture Identification 2 Panel (BCID2) для диагностики инфекции кровотока. Доступно по адресу: <https://www.biomerieux-russia.com/клиническая-диагностика/продукт/панель-biofire@-bcid2/>. Ссылка активна на 17 июля 2023 г.)
9. Timbrook T.T., Morton J.B., McConeghy K.W., Caffrey A.R., Mylonakis E., LaPlante K.L. The effect of molecular rapid diagnostic testing on clinical outcomes in bloodstream infections: a systematic review and meta-analysis. *Clin Infect Dis.* 2017;64(1):15-23. DOI: 10.1093/cid/ciw649
10. Popov D.A. Comparative review of the modern methods for carbapenemases detection. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia.* 2019;2:125-133. Russian. (Попов Д.А. Сравнительная характеристика современных методов определения продукции карбапенемаз. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2019;2:125-133.) DOI: 10.36488/стас.2019.2.125-133
11. Peri A.M., Ling W., Furuya-Kanamori L., Harris P.N.A., Paterson D.L. Performance of BioFire Blood Culture Identification 2 Panel (BCID2) for the detection of bloodstream pathogens and their associated resistance markers: a systematic review and meta-analysis of diagnostic test accuracy studies. *BMC Infect Dis.* 2022;22(1):794. DOI: 10.1186/s12879-022-07772-x
12. Satlin M.J., Chen L., Gomez-Simmonds A., Marino J., Weston G., Bhowmick T., et al. Impact of a rapid molecular test for *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase and ceftazidime-avibactam use on outcomes after bacteremia caused by carbapenem-resistant Enterobacterales. *Clin Infect Dis.* 2022;75(12):2066-2075. DOI: 10.1093/cid/ciac354