

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.iasmac.ru

Адрес типографии:

214020, Россия, г. Смоленск, ул. Смольянинова, д. 1

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

Подписка на сайте издателя:
https://service.iasmac.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 предприятия связи
Тираж 3000 экз.

Свободная цена

Дата выхода – 00.00.2025

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

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

Журнал является научным изданием для врачей, в связи с чем на него не распространяются требования Федерального закона от 29.12.2010 №436-ФЗ «О защите детей от информации, причиняющей вред их здоровью и развитию»

Иллюстрация для обложки предоставлена: Ольга Николаевна Пинегина (Микробиологическая лаборатория ЕКДЛ SmartLab АО «Группа компаний «МЕДСИ»)

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2025.

Содержание

Болезни и возбудители

Гордеев А.Б., Бембеева Б.О., Нечаева О.В., Скоробогатый А.В., Денисов П.А., Изюмов Р.В., Николаева А.В., Зубков В.В., Бухарова М.В., Курочкина С.В., Устюжанин А.В., Савичева А.М., Шалепо К.В., Антонов Ю.В., Шумакова В.С., Припутневич Т.В.

428 Молекулярно-биологические особенности штаммов *Streptococcus agalactiae*, выделенных у беременных женщин и рожениц в различных регионах Российской Федерации

Зубарева Н.А., Паршаков А.А., Голуб А.В., Золотухин К.Н., Козлов Р.С., Малкова О.Г., Молдованов А.В., Самородов А.В., Шаповалов К.Г., Шень Н.П.

442 Проблема сепсиса и антибиотикорезистентности глазами студентов медицинских вузов: результаты многоцентрового кросс-секционного опроса

Захаренкова П.В., Рачина С.А., Стрелкова Д.А., Авдеев С.Н., Пименов Н.Н., Захаренков И.А., Власенко А.Е., Фомичева А.А., Неклюдова Г.В., Прошкина А.А., Тарыкина Е.В.

450 Влияние пандемии COVID-19 на повседневную жизнь и эмоциональное состояние медицинских работников: взгляд изнутри

Веселова Е.И., Перегудова А.Б., Тинькова В.В., Тюлькова Т.Е., Ловачева О.В., Казюлина А.А., Самойлова А.Г.

462 Молекулярно-генетические особенности возбудителей при неблагоприятном течении туберкулеза и ВИЧ-инфекции

Казюлина А.А., Панова А.Е., Байракова А.Л., Меренкова А.И., Соболев П.В., Тюлькова Т.Е., Самойлова А.Г.

466 Диагностика и определение резистентности нетуберкулезных микобактерий как основа для принятия клинических решений

Антибиотикорезистентность

Эйдельштейн М.В., Шек Е.А., Леонов В.В., Шайдуллина Э.Р., Романов А.В., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Скленева Е.Ю., Азизов И.С., Дехнич А.В., Козлов Р.С.

475 Структура популяции *Pseudomonas aeruginosa* в Российской Федерации: роль клонов «высокого риска» в распространении карбапенемаз и устойчивости к карбапенемам

Аветисян Л.Р., Чернуха М.Ю., Медведева О.С., Воронкова А.Ю., Красовский С.А., Кондратьева Е.И.

485 Генетические детерминанты антибиотикорезистентности *Staphylococcus aureus*, выделенных от пациентов с хронической инфекцией легких при муковисцидозе

Опыт работы

Кутловская Е.Н., Виноградова А.Г., Лютова Е.Ю., Белорус О.В., Бикбулатова Л.Н., Меньшаков В.В., Захарова М.Г., Новиков С.В., Кузьменков А.Ю. и рабочая группа по мониторингу АМП

494 Региональная система автоматической валидации микробиологических заключений и мониторинга антимикробной резистентности: опыт Ямало-Ненецкого автономного округа

Умпелева Т.В., Цвиренко А.С., Кильдюшева Е.И., Премыслева Г.Е., Скорняков С.Н., Вахрушева Д.В.

506 Сопоставление микробных профилей мокроты и бронхиальных смывов пациентов с туберкулезом легких по данным ПЦР-исследования

Новокович Ю.С., Сапунова И.Д., Мезенцева Н.И., Радионова В.В., Глотов О.С., Асеев М.В., Глотов А.С.

516 Исследование контрольных материалов ФСВОК, предназначенных для ПЦР-диагностики, в оценке качества выявляемости бактерий методом NGS секвенирования гена 16S рРНК

Смирнова С.С., Авдюнин Д.Д., Холманских М.В., Стагильская Ю.С., Жуйков Н.Н., Итани Т.М.

524 Генетическая характеристика изолятов *Staphylococcus aureus*, выделенных в реанимационном отделении инфекционного госпиталя в период пандемии COVID-19

Структура популяции *Pseudomonas aeruginosa* в Российской Федерации: роль клонов «высокого риска» в распространении карбапенемаз и устойчивости к карбапенемам

Эйдельштейн М.В., Шек Е.А., Леонов В.В., Шайдуллина Э.Р., Романов А.В., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Склеенова Е.Ю., Азизов И.С., Дехнич А.В., Козлов Р.С.

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

Контактный адрес:

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

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, клоны высокого риска, антибиотикорезистентность, карбапенемазы, эпидемиология.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

Цель. Определить структуру популяции клинических штаммов *P. aeruginosa* в стационарах различных регионов России и оценить роль клонов «высокого риска» в распространении карбапенемаз и резистентности к карбапенемам.

Материалы и методы. В исследование включены последовательные, неповторяющиеся клинические изоляты *P. aeruginosa* (N = 1379), полученные в 55 стационарах 30 городов России в течение 24 месяцев. Видовую идентификацию изолятов проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. Определение чувствительности к антибиотикам выполняли методом микроразведений в бульоне. Наличие генов приобретенных карбапенемаз групп VIM, IMP, NDM, GES-2/-5 определяли с помощью ПЦР в реальном времени. Субвидовое типирование изолятов и определение их принадлежности к известным сиквенс-типам и клональным комплексам проводили путем идентификации однонуклеотидных полиморфизмов в 7 хромосомных локусах, используемых в схеме мультилокусного секвенирования-типирования (MLST). Для выборочных изолятов, относящихся к основному клону «высокого риска», выполнено полногеномное секвенирование (WGS) с последующей аннотацией генов резистентности.

Результаты. Все исследованные изоляты *P. aeruginosa* были отнесены к 264 генетическим линиям, среди которых наибольшее распространение имели четыре клональных комплекса, относящихся к международным «клонам высокого риска»: CC235 (13,05%), CC244 (7,11%), CC654 (5,51%) и CC357 (4,21%). Три из этих линий – CC235, CC357 и CC654 – характеризовались значительно более высокими уровнями устойчивости к большинству антибиотиков, включая карбапенемы, и чаще ассоциировались с нозокомиальными, чем с внебольничными инфекциями. У 14,5% изолятов выявлена продукция карбапенемаз (VIM – 11,02%, GES-5 – 2,61%, IMP – 0,44%, NDM – 0,44%), при этом большинство карбапенемазопродуцирующих штаммов принадлежали к клональным комплексам CC235 (52,0%) и CC654 (35,0%). Изоляты CC235, выделенные в различных регионах России, демонстрировали по данным WGS наибольшее разнообразие детерминант резистентности, включая гены карбапенемаз VIM-2, GES-5 и IMP-1. Напротив, все изоляты CC654 несли ген металло-β-лактамазы VIM-2 и имели сходные генотипы и фенотипы устойчивости к антибиотикам разных классов. По сравнению с результатами предыдущих исследований в России отмечается тенденция к снижению доли CC235, включая карбапенемазопродуцирующие штаммы, при одновременном сохранении стабильной распространенности других клонов «высокого риска» в популяции *P. aeruginosa*.

Выводы. Несмотря на выявленное снижение частоты продукции карбапенемаз и уровня устойчивости к карбапенемам, полученные данные свидетельствуют о том, что штаммы, принадлежащие к клону «высокого риска», остаются основными резервуарами и источниками распространения резистентности, что подчеркивает необходимость поддержания систематического молекулярного надзора и контроля за их циркуляцией.

Original Article

Population structure of *Pseudomonas aeruginosa* in the Russian Federation: role of high-risk clones in spread of carbapenemases and carbapenem resistance

Edelstein M.V., Shek E.A., Leonov V.V., Shaidullina E.R., Romanov A.V., Ivanchik N.V., Mikotina A.V., Skleenova E.Yu., Azizov I.S., Dekhnic A.V., Kozlov R.S.

Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

Contacts:

Mikhail V. Edelstein

E-mail: mikhail.edelstein@antibiotic.ru

Key words: *Pseudomonas aeruginosa*, high-risk clones, antimicrobial resistance, carbapenemases, epidemiology.

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 population structure of clinical *P. aeruginosa* isolates recovered from hospitals in different regions of Russia and to assess the role of high-risk clones in the dissemination of carbapenemases and carbapenem resistance.

Materials and methods. The study included consecutive, non-duplicate clinical isolates of *P. aeruginosa* (N = 1379) obtained from 55 hospitals across 30 Russian cities over a 24-month period. Species identification was performed using MALDI-TOF mass-spectrometry. Antimicrobial susceptibility testing was carried out by broth microdilution. The presence of acquired carbapenemase genes (VIM, IMP, NDM, GES-2/-5) was determined by real-time PCR. Subspecies typing and assignment to known sequence types (STs) and clonal complexes (CCs) were performed by identifying single nucleotide polymorphisms (SNPs) in seven chromosomal loci used in the multilocus sequence typing (MLST) scheme. Whole-genome sequencing (WGS) and resistance gene annotation were performed for selected isolates representing the main high-risk clones.

Results. All *P. aeruginosa* isolates were assigned to 264 genetic lineages, among which four clonal complexes corresponding to internationally recognized high-risk clones were predominant: CC235 (13.05%), CC244 (7.11%), CC654 (5.51%), and CC357 (4.21%). Three of these lineages – CC235, CC357, and CC654 – showed significantly higher levels of resistance to most antibiotics, including carbapenems, and were more frequently associated with nosocomial than community-acquired infections. Carbapenemase production was detected in 14.5% of isolates (VIM, 11.02%; GES-5, 2.61%; IMP, 0.44%; NDM, 0.44%), with the majority of carbapenemase-producing strains belonging to CC235 (52.0%) and CC654 (35.0%). WGS data revealed that CC235 isolates collected from different regions of Russia exhibited the greatest diversity of resistance determinants, including carbapenemase genes VIM-2, GES-5, and IMP-1. In contrast, all CC654 isolates carried the VIM-2 metallo- β -lactamase gene and shared similar genotypic and phenotypic resistance profiles to various antibiotic classes. Compared with previous surveillance data from the Russia, a decreasing trend was observed in the proportion of CC235 isolates, including carbapenemase producers, while the prevalence of other high-risk clones within the *P. aeruginosa* population remained stable.

Conclusions. Despite a decline in carbapenemase production frequency and overall carbapenem resistance, the data show that high-risk clones continue to serve as the main reservoirs and drivers of resistance dissemination, underscoring the importance of maintaining systematic molecular surveillance and control of their circulation.

Введение

Pseudomonas aeruginosa является одним из наиболее частых возбудителей инфекций у госпитализированных пациентов. Для *P. aeruginosa* характерна природная резистентность ко многим антибиотикам, а также исключительная способность формировать вторичную устойчивость к любым антибиотикам вследствие мутаций или приобретения новых генов, что создает значительные проблемы для лечения инфекций, вызываемых данным патогеном [1, 2]. Наибольшую угрозу представляют штаммы, устойчивые к карбапенемам – антибиотикам, которые в начале века считались препаратами резерва, а сейчас используются в качестве средств первой линии для лечения тяжелых госпитальных инфекций, вызванных грамотрицательными бактериями. Резистентность к карбапенемам у *P. aeruginosa* обусловлена различными механизмами: продукцией приобретенных карбапенемаз (VIM, IMP, GES, NDM и др.), гиперэкспрессией природных систем эффлюкса (MexAB-OprM, MexXY-OprM), а также потерей или модификацией поринового белка OprD [3–5]. У клинических изолятов эти механизмы часто сочетаются друг с другом, а также с факторами устойчивости к препаратам других групп, обеспечивая выживание в условиях интенсивного применения антибиотиков и способствуя формированию полирезистентных популяций.

Особую эпидемиологическую значимость представляют отдельные генетические линии – сиквенс-типы (ST) и клональные комплексы (CC), известные как клоны «высокого риска» (high-risk clones). Для них характерны широкая географическая распространенность, а также выраженная способность к накоплению и передаче различных детерминант устойчивости, включая гены карбапенемаз, что делает эти клоны важнейшими объектами молекулярного надзора. Среди глобально распространенных клонов *P. aeruginosa* наибольшее значение имеют CC235 и CC111 – основные резервуары генов карбапенемаз, объединяющие большинство карбапенеморезистентных штаммов. Другие линии, такие как CC175, CC244, CC357 и CC654, демонстрируют различную распространенность в разных странах и регионах мира и имеют неодинаковое эпидемиологическое значение в контексте формирования устойчивости к карбапенемам и антибиотикам других классов [4–7].

Результаты предыдущих исследований, проведенных в рамках программы надзора за антибиотикорезистентностью возбудителей инфекций у госпитализированных пациентов в России, продемонстрировали существенный рост частоты продукции карбапенемаз у клинических изолятов *P. aeruginosa* в период с 2002 по 2015 г., а также преобладание CC235 среди нозо-

комиальных штаммов, устойчивых к карбапенемам [1]. В то же время, по данным европейских исследований, в последние годы в ряде стран отмечается тенденция к снижению устойчивости к карбапенемам и распространности клонов «высокого риска» *P. aeruginosa*, ассоциированных с продукцией карбапенемаз [7], что подчеркивает актуальность изучения динамики клонов в российской популяции.

Целью настоящего исследования явилось изучение структуры популяции клинических штаммов *P. aeruginosa* в стационарах различных регионов России и оценка роли клонов «высокого риска» в распространении генов карбапенемаз и резистентности к карбапенемам.

Материалы и методы

Клинические изоляты

Последовательные, неповторяющиеся (по одному от каждого пациента) изоляты *P. aeruginosa* (N = 1379) были выделены в рамках рутинных диагностических исследований из репрезентативных образцов биоматериала, госпитализированных пациентов в 55 стационарах 30 городов в 7 Федеральных округах (ФО) России с 1 января 2021 г. по 31 декабря 2022 г. Разделение изолятов на внебольничные и нозокомиальные проводилось согласно формальному критерию Всемирной организации здравоохранения по времени возникновения инфекции [8]. Выделенные изоляты были направлены в центральную лабораторию НИИ антимикробной химиотерапии для последующего изучения в рамках многоцентрового исследования «МАРАФОН». Идентификацию изолятов до вида проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии с использованием систем Autof MS 2000 (Autobio, Китай) и Microflex LT MALDI Biotyper (Bruker Daltonik, Германия).

Определение чувствительности к антибиотикам

Определение чувствительности к антибиотикам проводили методом последовательных микроразведений в бульоне Мюллера–Хинтон в соответствии с стандартом ISO 20776-1:2019 / ГОСТ Р ИСО 20776-1-2022 [9, 10]. Клинические категории чувствительности изолятов к АМП определяли на основании пограничных значений минимальных подавляющих концентраций (МПК) в соответствии с российскими рекомендациями «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» (Версия 2025-02) [11]. Для контроля качества определения чувствительности использовали штаммы *Escherichia coli* ATCC 25922, *E. coli* ATCC 35218, *P. aeruginosa* ATCC 27853 и *Klebsiella quasipneumoniae* ATCC 700603. Чувствительность к азтреонаму-авибактаму оценивали на основании эпидемиологического порогового значения (ECOFF \leq 16 мг/л), установленного EUCAST [12].

Определение генов карбапенемаз

Выявление генов карбапенемаз у изолятов *P. aeruginosa* проводили методом ПЦР в режиме реального

времени (ПЦР-РВ) с использованием коммерческих наборов «АмплиТест MBL VIM/NDM/IMP» и «АмплиТест MDR NDM/KPC/OXA-48» (ФГБУ «ЦСП» ФМБА России) и системы DTrime 5X1 (ДНК-Технология, Россия). Выявление и дифференциацию β -лактамаз расширенного спектра группы GES (Gly170) и карбапенемаз группы GES-2 (Asn170) и группы GES-5 (Ser170) проводили путем детекции соответствующих нуклеотидных полиморфизмов в позициях 493 и 494 генов *bla*_{GES} с помощью метода ПЦР-РВ, как описано ранее [13]. В качестве положительных контролей использовали штаммы *P. aeruginosa* с известными β -лактамазами из коллекции НИИ антимикробной химиотерапии.

Определение генов фосфолипазы ExoU

Выявление генов *exoU*, кодирующих секретрируемую системой секреции III типа фосфолипазу ExoU – один из важнейших факторов вирулентности *P. aeruginosa*, и дифференциацию известных вариантов данного фермента (Leu/Pro-447) проводили путем детекции соответствующей нуклеотидной транзиции (1340-Т/С) в гене *exoU* с помощью ПЦР-РВ [14]. В качестве положительных контролей использовали штаммы *P. aeruginosa* ST235 ExoU+(Leu-447) и ST253 ExoU+(Pro-447).

Молекулярное типирование

Для оценки генетического разнообразия изолятов *P. aeruginosa* и определения их принадлежности к известным ST и CC, включая международные клоны «высокого риска», использовали метод высокопроизводительного SNP-типирования, основанный на анализе однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в 7 хромосомных локусах (*acsA*, *aroE*, *guaA*, *mutL*, *nuoD*, *ppsA* и *trpE*), входящих в схему мультилокусного секвенирования-типирования (МЛСТ) [15]. Детекцию SNP в указанных локусах проводили с помощью аллель-специфичной ПЦР-РВ с универсальными флуорогенными праймерами (AmpliFluor). Для подготовки и проведения ПЦР в формате 384-луночных планшетов использовали систему QIAgility (QIAGEN, Германия) и DTPPrime 5X1 (ДНК-Технология, Россия). В качестве контролей использовали штаммы *P. aeruginosa* известных сиквенс-типов. Кластерный анализ SNP профилей осуществляли с помощью онлайн ресурса SNPTpa (<http://snpt.antibiotic.ru>) [16] и программы PHYLOViZ 2 (<http://www.phyloviz.net>) [17].

Полногеномное секвенирование

Выделение геномной ДНК бактерий проводили с помощью наборов SkyAMP Genomic DNA Kit (SkyGen, Россия). Подготовку геномных библиотек для секвенирования методом коротких парно-концевых прочтений проводили с помощью наборов SG GM Ultra (Raissol, Россия), библиотек для секвенирования методом длинных прочтений – с помощью наборов Rapid Barcoding Kit SQK-RBK114.24 (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Полногеномное секвенирование (WGS) выборочных карбапенемазопродуцирующих изолятов *P. aeruginosa*, относящихся к основным

клонам «высокого риска», проводили на платформах FaStaSeq 300 с ячейками FCX (GeneMind, Китай) и GridION X5 с ячейками FLO-MIN114 (Oxford Nanopore Technologies, Великобритания). Сборку геномов осуществляли с использованием пакетов SPAdes v.4.2.0 (для коротких прочтений) [18] и Flye v.2.9.3-b1797 (для длинных прочтений) [19] и Unicycler v.0.5.0 (для гибридных сборок) [20]. Аннотацию генетических детерминант резистентности в полногеномных последовательностях проводили с помощью AMRFinderPlus v.4.0.19 [21].

Статистический анализ данных

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием онлайн платформы для анализа данных AMRCloud (<https://amrcloud.net/>) [22] и следующих статистических методов: расчета абсолютных и относительных частот, медианных значений, доверительных интервалов по методу Уилсона, множественных сравнений с использованием точного теста Фишера. Различия считали статистически значимыми при $p < 0,05$.

Результаты и обсуждение

По результатам генотипирования все исследованные клинические изоляты *P. aeruginosa* отнесены к 264 различным ST. Несмотря на выявленное генетическое разнообразие, 29,88% изолятов принадлежали к 4 основным международным клональным комплексам «высокого риска» CC235 (13,05%), CC244 (7,11%), CC654 (5,51%), CC357 (4,21%) (Рисунок 1).

Несмотря на более крупную выборку нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa* (N = 923), их генетическая структура оказалась менее разнообразной (201 генотип; индекс Симпсона D = 0,963; 95% ДИ: 0,956–0,969), что контрастировало с популяцией внебольничных штаммов (N = 456), характеризовавшейся более широким спектром генотипов (171 генотип; D = 0,980; 95% ДИ: 0,974–0,985). При этом распространенность основных клонов «высокого риска», CC235 и CC654, для которых, как указано ниже, характерна наиболее высокая частота устойчивости к различным антибиотикам и продукции карбапенемаз, была статистически значимо выше при нозокомиальных, чем при внебольничных инфекциях, что свидетельствует о преимущественно внутрибольничном распространении штаммов этих генотипов (Таблица 1).

Наиболее широкая географическая распространенность отмечена для штаммов четырех генетических линий CC235, CC244, CC654 и CC357, которые были выявлены соответственно в 22, 18, 14 и 14 городах России. При этом CC235 был самым частым генотипом во всех ФО. Вместе с тем, распространенность клонов «высокого риска» существенно отличалась на уровне отдельных городов и стационаров (Рисунок 3). Преобладание CC235 отмечено в стационарах Томска (72,7%), Казани (35,7%), Мурманска (30,8%), Кургана (30,8%), Новосибирска (25,5%), Улан-Удэ (23,9%), Пензы

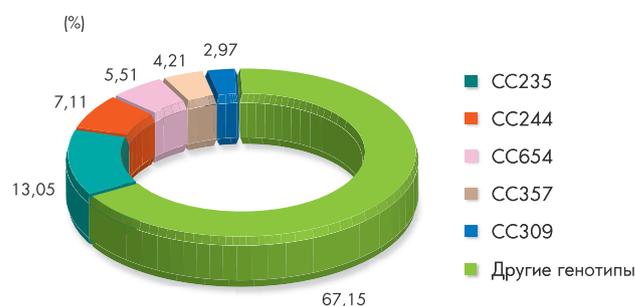


Рисунок 1. Доля различных генетических линий в структуре популяции клинических штаммов *P. aeruginosa* в России

Таблица 1. Распространенность различных генотипов *P. aeruginosa* при внебольничных и нозокомиальных инфекциях

Генотип	Внебольничные: число (%)	Нозокомиальные: число (%)	P (точный тест Фишера)
CC235	46/456 (10,1%)↓	134/923 (14,5%)↑	0,022*
CC244	31/456 (6,8%)	67/923 (7,3%)	0,824
CC309	13/456 (2,8%)	28/923 (3,0%)	1,0
CC357	12/456 (2,63%)↓	46/923 (5,0%)↑	0,045*
CC654	14/456 (3,1%)↓	62/923 (6,7%)↑	0,005*
Другие	340/456 (74,6%)↑	586/923 (63,5%)↓	< 0,001*

* Статистически значимые различия.

(21,4%) и Белгорода (20,4%); CC654 был доминирующим генотипом – в стационарах Ульяновска (33,3%) и Перми (32,1%); CC357 – в стационарах Омска (28,6%), Смоленска (21,7%) и Тольятти (13,2%). CC244 был вторым по частоте встречаемости в большинстве городов. В стационарах Москвы и Санкт-Петербурга выявлено максимальное генетическое разнообразие клинических изолятов *P. aeruginosa*: 129 и 41 сиквенс-типов, включая штаммы, относящиеся ко всем перечисленным клонам «высокого риска».

Клоны «высокого риска», прежде всего, CC235, CC357 и CC654, отличались значительно более высокими показателями устойчивости ко всем β-лактамам и не-β-лактамам антибиотикам по сравнению со штаммами других генотипов (Таблица 2). Большинство изолятов CC235, CC357 и CC654 были устойчивы не только к цефалоспорином: цефтазидиму (80,4% – 96,0%) и цефепиму (63,1% – 93,4%) и карбапенемам: имипенему (86,0% – 100%) и меропенему (70,4% – 94,7%), но и к новым комбинациям β-лактамов с ингибиторами β-лактамаз: имипенему-релебактаму (65,34% – 91,9%), цефтазидиму-авибактаму (58,7% – 94,7%) и цефтолозану-тазобактаму (72,7% – 91,9%). Единственным препаратом, проявляющим активность в отношении всех изолятов, оставался колистин.

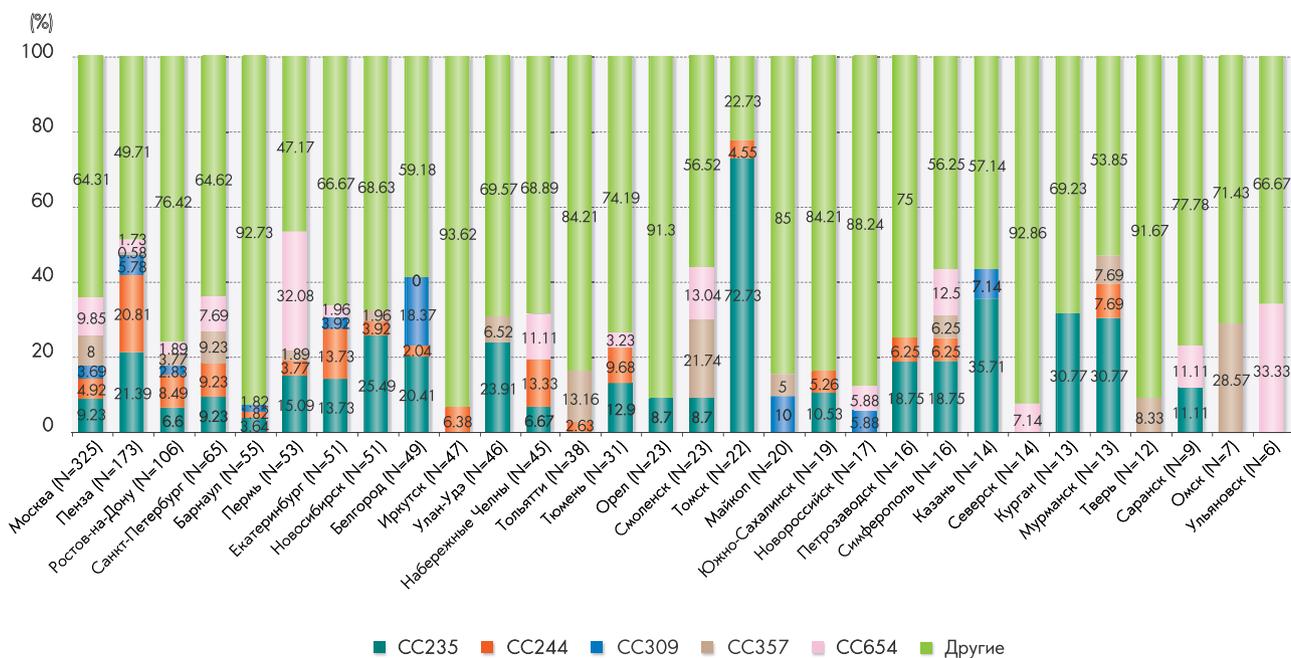
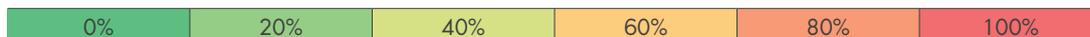


Рисунок 2. Распространенность различных генотипов *P. aeruginosa* в разных городах

Таблица 2. Распространенность устойчивости к различным антибиотикам у штаммов *P. aeruginosa* разных генотипов

Антибиотик	Процент резистентных изолятов (95% ДИ)					
	CC235 (N = 180)	CC244 (N = 98)	CC309 (N = 41)	CC357 (N = 58)	CC654 (N = 76)	Другие генотипы (N = 926)
Азтреонам	47,49 (40,3–54,78)	32,65 (24,18–42,44)	7,5 (2,58–19,86)	91,38 (81,36–96,26)	25 (16,63–35,78)	15,68 (13,48–18,16)
Амикацин	82,22 (75,98–87,12)	23,47 (16,18–32,76)	2,5 (0,44–12,88)	75,86 (63,47–85,04)	55,26 (44,1–65,92)	6,05 (4,69–7,77)
Имипенем	86,03 (80,2–90,36)	32,65 (24,18–42,44)	45 (30,71–60,17)	93,1 (83,57–97,29)	100 (95,19–100)	20,65 (18,16–23,38)
Имипенем-релебактам	65,34 (58,05–71,98)	19,39 (12,78–28,31)	15 (7,06–29,07)	72,41 (59,8–82,25)	91,89 (83,42–96,23)	5,45 (4,16–7,12)
Колистин	0 (0–2,09)	0 (0–3,77)	0 (0–8,76)	0 (0–6,21)	0 (0–4,81)	0 (0–0,41)
Меропенем	70,39 (63,33–76,59)	26,53 (18,8–36,04)	12,5 (5,46–26,11)	87,93 (77,12–94,03)	94,74 (87,23–97,93)	10,38 (8,57–12,51)
Пиперациллин-тазобактам	89,39 (84,02–93,1)	41,84 (32,56–51,73)	30 (18,07–45,43)	89,66 (79,21–95,17)	98,68 (92,92–99,77)	25,62 (22,91–28,53)
Тобрамицин	92,22 (87,37–95,31)	28,57 (20,57–38,19)	15 (7,06–29,07)	89,66 (79,21–95,17)	93,42 (85,51–97,16)	9,72 (7,97–11,8)
Цефепим	63,13 (55,85–69,85)	29,59 (21,46–39,26)	12,5 (5,46–26,11)	89,66 (79,21–95,17)	93,42 (85,51–97,16)	10,27 (8,48–12,39)
Цефтазидим-авибактам	58,66 (51,34–65,62)	22,45 (15,32–31,66)	10 (3,96–23,05)	89,66 (79,21–95,17)	94,74 (87,23–97,93)	5,73 (4,41–7,42)
Цефтазидим	80,45 (74,02–85,59)	36,73 (27,86–46,61)	10 (3,96–23,05)	91,38 (81,36–96,26)	96,05 (89,03–98,65)	14,7 (12,57–17,13)
Цефтолозан-тазобактам	72,73 (65,71–78,77)	12,24 (7,15–20,19)	12,5 (5,46–26,11)	89,66 (79,21–95,17)	91,89 (83,42–96,23)	4,14 (3,03–5,64)
Ципрофлоксацин	94,97 (90,72–97,33)	38,78 (29,73–48,67)	2,5 (0,44–12,88)	89,66 (79,21–95,17)	100 (95,19–100)	17,53 (15,22–20,12)

Цветовая шкала:



Таким образом, устойчивость к большинству антибиотиков, включая карбапенемы и новые комбинации цефалоспоринов с ингибиторами β-лактамаз, в популяции клинических штаммов *P. aeruginosa* в России связана с клонами «высокого риска», в первую очередь, с генетическими линиями CC235 и CC654.

Продукция карбапенемаз выявлена у 200 (14,5%) изолятов *P. aeruginosa*. Подавляющее большинство изолятов *P. aeruginosa*, продуцирующих карбапенемазы, относились к двум генетическим линиям CC235 (52,0%) и CC654 (35,0%). Частота продукции VIM металло-β-лактамаз (MBL) у штаммов CC235 и CC654 составила 34,44% и 92,11% соответственно. Помимо двух вышеуказанных генетических линий, MBL VIM типа были выявлены у единичных изолятов CC309 (14,6%) и других генотипов (1,4%). Продукция сериновых карбапенемаз группы GES-5 (Ser170) выявлена у 19,44% изолятов CC235 и практически не встречалась у штаммов других генотипов, за исключением 1 изолята CC357. MBL IMP типа обнаружены у 6 изолятов CC235; сочетание MBL VIM и IMP типов – у 1 изолята CC235, MBL NDM типа – у 6 изолятов двух редких генотипов (Рисунок 3).

Анализ данных полногеномного секвенирования выборочных изолятов, из различных субъектов России, вы-

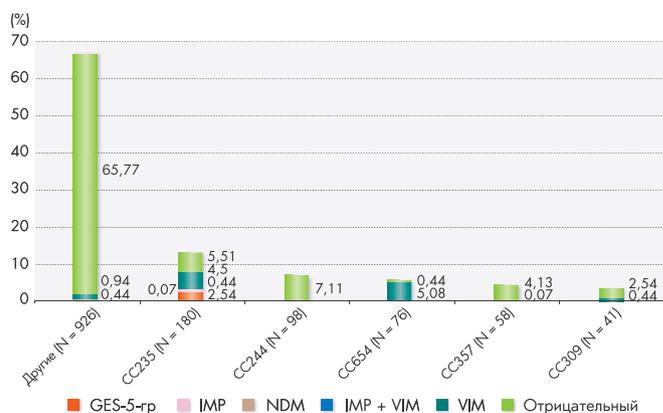


Рисунок 3. Распространенность различных карбапенемаз у штаммов *P. aeruginosa* разных генотипов

явил отчетливые различия в профилях и частоте встречаемости генетических детерминант резистентности между CC235 (N = 12) и CC654 (N = 10). Изоляты эволюционно более ранней генетической линии CC235 обладали идентичным профилем природных генов резистентности, включая гены природных β-лактамаз – *bla*_{OXA-48B} (группа *bla*_{OXA-50}) и *bla*_{PDC-35} (*ampC*) и гены устой-

Таблица 3. Генетические детерминанты и фенотипические профили устойчивости к антибиотикам клинических изолятов CC235, выделенных в разных субъектах России

Изолят	79952	80858	90438	91072	93200	94657	95042	95321	105145	105319	106880	111226
Город	Воронеж	Пенза	Пенза	Смоленск	Санкт-Петербург	Якутск	Томск	Екатеринбург	Якутск	Смоленск	Ижевск	Новосибирск
Приобретенные детерминанты резистентности												
<i>bla</i> _{VIM-2}		+	+	+	+	+		+	+	+		+
<i>bla</i> _{IMP-1}							+				+	
<i>bla</i> _{GES-5}	+											+
<i>aac</i> (3)-Ic		+	+	+			+	+	+	+		+
<i>aac</i> (6')-Ib4	+										+	
<i>aac</i> (6')-II		+	+	+	+	+		+	+	+		+
<i>aadA6</i>	+	+	+	+	+	+				+	+	
<i>ant</i> (2'')-Ia							+					+
<i>aph</i> (3'')-Ib							+					+
<i>aph</i> (3')-VIa							+					+
<i>aph</i> (6)-Id							+					+
<i>floR2</i>	+										+	
<i>tet</i> (G)	+										+	
<i>sul1</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>oprD-stop</i>	+								+			
<i>gyrA</i> (T83I)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+	
<i>parC</i> (S87L)							+					
<i>parE</i> (S457G)		+	+	+	+	+		+	+	+		+

Изолят	79952	80858	90438	91072	93200	94657	95042	95321	105145	105319	106880	111226
Город	Воронеж	Пенза	Пенза	Смоленск	Санкт-Петербург	Якутск	Томск	Екатеринбург	Якутск	Смоленск	Ижевск	Новосибирск
Профиль чувствительности к антибиотикам												
Пиперацилин-тазобактам	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R	R	R
Цефепим	I	R	R	R	R	R	R	R	R	R	I	R
Цефтазидим	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Цефтолозан-тазобактам	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Цефтазидим-авибактам	S	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Имипенем	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Меропенем	R	R	R	R	R	R	R	I	R	R	R	R
Азтреонам	I	I	I	R	I	I	R	I	R	I	I	I
Азтреонам-авибактам*	WT	WT	WT	NWT	WT	WT	NWT	WT	NWT	WT	WT	WT
Амикацин	R	R	R	R	R	S	R	S	R	R	S	R
Тобрамицин	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ципрофлоксацин	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Колистин	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

* WT – дикий тип (МПК ≤ ECOFF 16 мг/л), NWT – не дикий тип (МПК > ECOFF 16 мг/л).

чивости к фосфомицину (*fosA*), хлорамфениколу (*catB7*) и аминогликозидам (*aph(3')-IIB*), однако отличались по спектру генов приобретенных карбапенемаз (*bla_{VIM-2}*, *bla_{IMP-1}*, *bla_{GES-5}*), аминогликозид-модифицирующих ферментов и значимых мутаций в генах *gyrA*, *parC*, *parE* (устойчивость к фторхинолонам) и *oprD* (устойчивость к имипенему) (Таблица 3). Изоляты более поздней генетической линии CC654 несли не только идентичные видоспецифические гены резистентности: *bla_{OXA-396}* (группа *bla_{OXA-50}*), *bla_{PRC-3}* (*ampC*), *fosA*, *catB7* и *aph(3')-IIB*, но и одинаковый набор приобретенных детерминант устойчивости, за исключением отсутствия у отдельных изолятов нонсенс мутаций в *oprD* (Таблица 4).

В геномах всех изолятов CC235 был выявлен остров патогенности *ExoU island A*, несущий специфический аллельный вариант гена фосфолипазы *ExoU (Leu447)*. *ExoU*, секретируемая системой секреции III типа (T3SS) и обладающая прямым цитотоксическим действием, является одним из наиболее важных факторов патогенности *P. aeruginosa*, наличие которого связывают с повышенной частотой неблагоприятных исходов лечения и смертности при системных инфекциях. Другие аллельные варианты *ExoU (Pro447)* обнаружены у 20,8% изолятов *P. aeruginosa*, относящихся к 40 различным генотипам, в том числе у всех изолятов CC357 и CC309. Однако у штаммов двух других наиболее значимых

в России генетических линий: CC654 и CC244, гены *ExoU* выявлены не были (Рисунок 4).

Заключение

Полученные данные свидетельствуют о том, что в России, как и в ряде других стран Европы, наблюдается тенденция к снижению доли штаммов *P. aeruginosa*, устойчивых к карбапенемам и другим β-лактамам антибиотикам. Это снижение в значительной степени связано с уменьшением распространенности изолятов, продуцирующих карбапенемазы, главным образом штаммов клона CC235. Последний, однако, остается наиболее распространенным генотипом и основным резервуаром генов карбапенемаз (*VIM-2*, *GES-5* и, реже, *IMP-1*) в большинстве регионов России. При этом сохраняется стабильная распространенность других клонов «высокого риска» – CC654, ассоциированного с продукцией металло-β-лактамазы *VIM-2*, и CC357, характеризующегося преимущественно неферментативными механизмами устойчивости к β-лактамам. Указанные генетические линии (CC235, CC357 и CC654) демонстрируют значительно более высокие уровни устойчивости ко всем группам β-лактамов и не-β-лактамов антибиотиков, кроме полимиксинов, по сравнению с изолятами других генотипов и чаще ассоциируются с нозокомиаль-

Таблица 4. Генетические детерминанты и фенотипические профили устойчивости к антибиотикам клинических изолятов CC654, выделенных в разных субъектах России

Изолят	82092	87588	87803	88353	95803	95975	97044	99164	102607	105295
Город	Москва	Набережные Челны	Казань	Краснодар	Тверь	Ижевск	Москва	Москва	Владивосток	Казань
Приобретенные детерминанты резистентности										
<i>bla_{TEM-2}</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>aph(3')-VI</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>aph(3'')-Ib</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>aph(6)-Id</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>floR2</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>tet(A)</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>tet(G)</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>sul1</i>	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>gyrA</i> (T83I)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>parC</i> (S87L)	+	+	+	+	+	+	+	+	+	+
<i>oprD-stop</i>	+			+				+		
Профиль чувствительности к антибиотикам										
Пиперацillin-тазобактам	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Цефепим	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Цефтазидим	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Цефтолозан-тазобактам	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Цефтазидим-авибактам	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Имипенем	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Меропенем	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Азтреонам	R	I	I	I	I	R	I	R	R	I
Азтреонам-авибактам*	WT	WT	WT	WT	WT	WT	WT	WT	NWT	WT
Амикацин	R	S	S	R	R	R	R	R	R	R
Тобрамицин	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Ципрофлоксацин	R	R	R	R	R	R	R	R	R	R
Колистин	S	S	S	S	S	S	S	S	S	S

* WT – дикий тип (МПК ≤ ECOFF 16 мг/л), NWT – не дикий тип (МПК > ECOFF 16 мг/л).

ными, чем с внебольничными инфекциями. С учетом выявленных особенностей структуры популяции и механизмов устойчивости полученные результаты подчеркивают необходимость поддержания системного молекулярного надзора за распространением клонов «высокого риска», что имеет ключевое значение для оптимизации стратегий профилактики и контроля нозокомиальных инфекций.

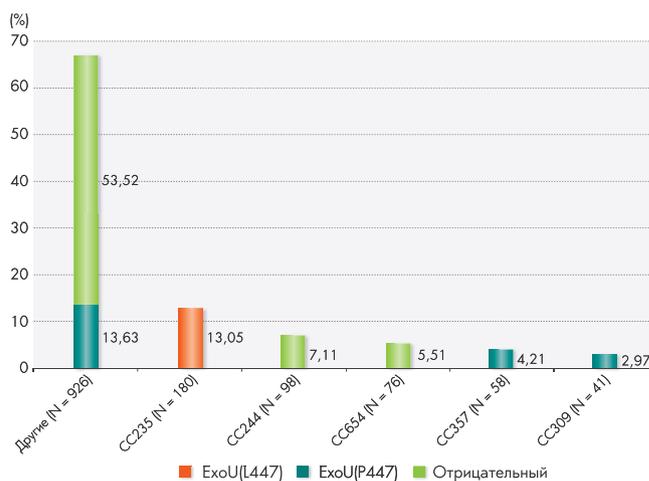


Рисунок 4. Распространенность вариантов фосфолипазы ExoU у штаммов *P. aeruginosa* разных генотипов

Литература

1. Skleenova E.Yu., Azizov I.S., Shek E.A., Edelstein M.V., Kozlov R.S., Dekhnich A.V. *Pseudomonas aeruginosa* in the Russian Federation: history of one of the most successful nosocomial pathogens. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapiia*. 2018;20(3): 164-171. Russian. (Склеенова Е.Ю., Азизов И.С., Шек Е.А., Эйдельштейн М.В., Козлов Р.С., Дехнич А.В. *Pseudomonas aeruginosa* в РФ: история одного из наиболее успешных нозокомиальных патогенов. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2018;20(3):164-171.) DOI: 10.21508/KMACH.2018.20.3.164
2. Skurikhina Yu.E., Turkutyukov V.B. Microbiological and molecular-genetic aspects of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa* and *Acinetobacter baumannii*. *Epidemiologia i vakcinoprofilaktika*. 2019;18(6): 34-38. Russian. (Скурихина Ю.Е., Туркутюков В.Б. Микробиологические и молекулярно-генетические аспекты антибиотикорезистентности *Pseudomonas aeruginosa* и *Acinetobacter baumannii*. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2019;18(6):34-38.) DOI: 10.31631/2073-3046-2019-18-6-34-38
3. Queenan A.M., Bush K. Carbapenemases: the versatile β -lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2007;20:440-458. DOI: 10.1128/CMR.00001-07
4. Oliver A., Mulet X., López-Causapé C., Juan C. The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Drug Resist Updat*. 2015;21-22:41-59. DOI: 10.1016/j.drug.2015.08.002
5. Oliver A., Rojo-Molinero E., Arca-Suarez J., Bešli Y., Bogaerts P., Cantón R., et al. *Pseudomonas aeruginosa* antimicrobial susceptibility profiles, resistance mechanisms and international clonal lineages: update from ESGARS-ESCMID/ISARPAE Group. *Clin Microbiol Infect*. 2024;30(4):469-480. DOI: 10.1016/j.cmi.2023.12.026
6. Wang M.G., Liu Z.Y., Liao X.P., Sun R.Y., Li R.B., Liu Y., et al. Retrospective data insight into the global distribution of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics (Basel)*. 2021;10(5):548. DOI: 10.3390/antibiotics10050548
7. Sastre-Femenia M.À., Fernández-Muñoz A., Gomis-Font M.A., Taltavull B., López-Causapé C., Arca-Suárez J., et al. *Pseudomonas aeruginosa* antibiotic susceptibility profiles, genomic epidemiology and resistance mechanisms: a nation-wide five-year time lapse analysis. *Lancet Reg Health Eur*. 2023;34:100736. DOI: 10.1016/j.lanpe.2023.100736
8. World Health Organization. *Prevention of hospital-acquired infections. A practical guide*. 2nd ed. 2002. Available at: https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/67350/WHO_CDS_CSR_EPH_2002.12.pdf. Accessed May 2024.
9. ISO 20776-1:2006. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. Part 1: Reference method for testing the *in vitro* activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases.
10. GOST R ISO 20776-1-2010. Clinical laboratory testing and *in vitro* diagnostic test systems. Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices. Part 1: Reference method for testing the *in vitro* activity of antimicrobial agents against rapidly growing aerobic bacteria involved in infectious diseases. Russian. (ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010. Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы *in vitro*. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности к антимикробным средствам. Часть 1. Референтный метод лабораторного исследования активности антимикробных агентов против быстрорастущих аэробных бактерий, вызывающих инфекционные болезни.)
11. Interregional Association for Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy (IACMAC), Smolensk State Medical University (SGMU). Russian guidelines: Determination of microbial susceptibility to antimicrobial agents. Version 2025-01. Smolensk: IACMAC, SGMU; 2025. 208 p. Russian. (Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии (МАКМАХ), Смоленский государственный медицинский университет (СГМУ). Российские рекомендации. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам. Версия 2025-01. Смоленск: МАКМАХ, СГМУ; 2025. 208 с.)
12. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 13.0. 2023. Available at: www.eucast.org/clinical_breakpoints/. Accessed May 2025.
13. Shek E.A., Skleenova E.Yu, Zhuravlev V.S, Edelstein M.V. Development of the assay for detection and discrimination of GES-type β -lactamases and assessment of their prevalence in gram-negative nosocomial pathogens in Russia. *Proceedings of the Molecular Diagnostics 2017. Moscow, Russia; April 18-20, 2017. P. 224-225.* (Шек Е.А., Склеенова Е.Ю., Журавлев В.С., Эйдельштейн М.В. Разработка метода для детекции и дискриминации β -лактамаз GES-типа и оценка их распространения среди грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в России. Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием Молекулярная диагностика 2017. Москва, Россия; 18-20 апреля 2017. С. 224-225.)
14. Shek E.A., Edelstein M.V., Kozlov R.S. Development of a high throughput single nucleotide polymorphism (SNP) typing method for *Pseudomonas aeruginosa*. *Proceedings of the 28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID)*. Madrid, Spain; April 21-24, 2018. ePoster #O0753.
15. *Pseudomonas aeruginosa* MLST Database [database online]. Available at: <https://pubmlst.org/paeruginosa/>. Accessed May 2024.

16. Fedintsev A., Sheck E., Avramenko A., Trushin I., Edelstein M. Development of an online database and web application for analysis of SNP typing data of *Acinetobacter baumannii*. Proceedings of the 26th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Amsterdam, Netherlands; April 9-12, 2016. ePoster #EP0313.
17. Nascimento M., Sousa A., Ramirez M., Francisco A.P., Carriço J.A., Vaz C. PHYLOViZ 2.0: Providing scalable data integration and visualization for multiple phylogenetic inference methods. *Bioinformatics*. 2017;33(1):128-129. DOI: 10.1093/bioinformatics/btw582
18. Bankevich A., Nurk S., Antipov D., Gurevich A., Dvorkin M., Kulikov S., et al. SPAdes: a new genome assembly algorithm and its applications to single-cell sequencing. *J Comput Biol*. 2012;19(5):455-477. DOI: 10.1089/cmb.2012.0021
19. Kolmogorov M., Yuan J., Lin Y., Pevzner P.A. Assembly of long, error-prone reads using repeat graphs. *Nat Biotechnol*. 2019;37(5):540-546. DOI: 10.1038/s41587-019-0072-8
20. Wick R.R., Judd L.M., Gorrie C.L., Holt K.E. Unicycler: resolving bacterial genome assemblies from short and long sequencing reads. *PLoS Comput Biol*. 2017;13(6):e1005595. DOI: 10.1371/journal.pcbi.1005595
21. Feldgarden M., Brover V., Gonzalez-Escalona N., Frye J.G., Haendiges J., Haft D.H., et al. AMRFinderPlus and the Reference Gene Catalog facilitate examination of the genomic links among antimicrobial resistance, stress response, and virulence. *Sci Rep*. 2021;11(1):12728. DOI: 10.1038/s41598-021-91456-0
22. Kuzmenkov A.Yu., Vinogradova A.G., Trushin I.V., Avramenko A.A., Eidelstein M.V., Dekhnich A.V., et al. AMRcloud: a new paradigm in monitoring of antibiotic resistance. *Klinicheskaa mikrobiologia i antimikrobnaa himioterapia*. 2019;21(2):119-124. Russian. (Кузьменков А.Ю., Виноградова А.Г., Трушин И.В., Авраменко А.А., Эйдельштейн М.В., Дехнич А.В. и соавт. AMRcloud: новая парадигма мониторинга антибиотикорезистентности. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2019;21(2):119-124.) DOI: 10.36488/смаc.2019.2.119-124