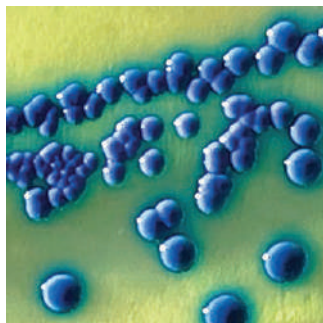




Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

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)52-06-02

Издатель МАКМАХ:

214019, г. Смоленск, ул. Кирова 46А. www.iacmac.ru

Адрес типографии:

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

Электронная версия журнала:

https://cmac-journal.ru

Подписка на сайте издателя:

https://service.iacmac.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 предпринятия связи
Тираж 3000 экз.

Свободная цена

Дата выхода – 04.08.2026

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: Игорь Викторович Чеботарь (НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России)

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2026.

Содержание

Болезни и возбудители

- Шаповалова В.В., Шайдуллина Э.Р., Шипулин Г.А., Эйдельштейн М.В.
4 Анализ таксономической структуры рода *Stenotrophomonas* на основе геномных данных
Андреев В.А., Привольнев В.В., Родин А.В., Новиков И.А., Голуб А.В.
13 Местное лечение раневой инфекции: что нового за последнее десятилетие?
Григорян Д.А., Горбачева А.А., Мацвай А.Д.
25 Современные представления о роли вирусов как этиологического фактора сепсиса
Домблдес Э.А., Чернуха М.Ю., Аветисян Л.Р., Киян Т.А., Жуховицкий В.Г., Гущин В.А., Кондратьева Е.И.
50 Этиологическая структура инфекций респираторного тракта у пациентов различных возрастных групп с первичной цилиарной дискинезией

Антимикробные препараты

- Резолюция по итогам круглого стола
64 Пневмонии. От пенициллина до наших дней: что изменилось за последние сто лет
Зырянов С.К., Бондарева И.Б., Пуцман Г.А., Ченкуров М.С., Савоцкая А.М., Коваль В.Р.
72 Исследования фармакокинетики и фармакодинамики линезолида у недоношенных новорожденных

Антибиотикорезистентность

- Кузьменков М.Ю., Виноградова А.Г., Кузьменков А.Ю.
81 Методы машинного обучения в прогнозировании антибиотикорезистентности
Белькова Ю.А., Козлов Р.С., Рачина С.А.
92 Роль мониторинга применения системных антимикробных препаратов в профилактике селекции лекарственной устойчивости

Опыт работы

- Фалалеева С.О., Ахмедова Э.И., Кирпичева А.В., Новикова Т.О., Курамшина В.Р., Желтова А.Р., Саушкина А.М.
103 Мониторинг этиологической структуры внебольничных инфекций мочевых путей и антибиотикорезистентности ведущего уропатогена – *Escherichia coli* у детей и подростков в Красноярском крае
Полякова Е.А., Мательский Н.А., Горбич О.А., Горбич Ю.Л., Солнцева А.В.
108 Иммуногенетические предикторы тяжелого течения сепсиса: роль функциональных полиморфизмов
Салмин А.В., Семенова О.В., Турсунова Н.В., Емельянова Е.П.
124 Микробиом нижних дыхательных путей у пациентов с туберкулезом легких и ВИЧ-инфекцией
Симончик М.В., Тапальский Д.В., Карпова Е.В., Тапальский С.Д.
131 Антимутантная активность комбинации колистина и рифаксимина при селективной деконтаминации кишечника: валидация в динамической проточной системе

Антимутантная активность комбинации колистина и рифаксимины при селективной деконтаминации кишечника: валидация в динамической проточной системе

Симончик М.В.¹, Тапальский Д.В.¹, Карпова Е.В.¹, Тапальский С.Д.²

¹ ГНУ «Институт физиологии Национальной академии наук Беларуси», Минск, Республика Беларусь

² Белорусский государственный университет информатики и радиоэлектроники, Минск, Республика Беларусь

Контактный адрес:

Дмитрий Викторович Тапальский
Эл. почта: tapalskiy@gmail.com

Ключевые слова: селективная деконтаминация кишечника, ФК/ФД моделирование, антимутантная активность, колистин, рифаксимин, динамические системы *in vitro*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование выполнено при финансовой поддержке Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований (грант М24У-002).

Введение. Селективная деконтаминация кишечника (СДК) нерезорбируемыми антибиотиками рассматривается как перспективный подход к снижению риска инфекций у критически больных пациентов. Однако широкая циркуляция мультирезистентных микроорганизмов, включая карбапенеморезистентные *Klebsiella pneumoniae* и *Pseudomonas aeruginosa*, существенно снижает эффективность традиционных режимов СДК на основе монотерапии колистином. Ключевой причиной неудач является широкое «окно селекции мутантов» – диапазон концентраций антибиотика, недостаточных для подавления роста резистентных субпопуляций. Использование антимутантных комбинаций нерезорбируемых антибиотиков может открыть новые перспективы для оптимизации СДК.

Цель. Разработка и валидация динамической проточной системы *in vitro* для фармакокинетического/фармакодинамического (ФК/ФД) моделирования клинических режимов СДК и оценка антимутантной активности комбинации нерезорбируемых антибиотиков колистина и рифаксимины в отношении экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*.

Материалы и методы. В исследование включены 10 клинических изолятов *K. pneumoniae* (продуценты NDM, KPC, OXA-48, KPC+NDM) и 10 клинических изолятов *P. aeruginosa* (в том числе 4 продуцента карбапенемазы VIM). Культуральным методом на плотных питательных средах с антибиотиком определены минимальные концентрации колистина и рифаксимины, предотвращающие селекцию резистентных мутантов (МПК_м). Сконструирована однокамерная проточная система, воспроизводящая фармакокинетику нерезорбируемых антибиотиков при энтеральном введении. Моделировались клинические режимы введения колистина, рифаксимины и их комбинации (каждые 8 ч. в течение 7 суток).

Результаты. МПК_м колистина для штаммов *K. pneumoniae* составляли 64–128 мг/л, для *P. aeruginosa* – 8–16 мг/л, что соответственно в 8–256 и 4–16 раз превышало МПК. МПК_м рифаксимины не удалось определить в пределах тестируемых концентраций для подавляющего большинства штаммов (МПК_м ≥ 256 мг/л). В присутствии рифаксимины МПК_м колистина снижалась в 4–8 раз для *K. pneumoniae* и в 2–8 раз для *P. aeruginosa*. В статическом эксперименте колистин (70 мг/л) и рифаксимин (200 мг/л) не предотвращали прорывного роста части штаммов в течение 24–48 ч., тогда как комбинация полностью подавляла рост всех штаммов на протяжении 7 суток. В динамической проточной системе при монотерапии наблюдалась адаптация части микроорганизмов к колистину и рифаксимины, комбинация колистина и рифаксимины обеспечивала полное подавление роста всех тестируемых штаммов на протяжении всего 7-суточного периода наблюдения.

Выводы. Разработанная динамическая проточная система является удобным инструментом для доклинической оценки ФК/ФД параметров антимутантных комбинаций нерезорбируемых антибиотиков. Комбинация колистина и рифаксимины демонстрирует высокую антимутантную активность в условиях, моделирующих режимы СДК, в отношении как *K. pneumoniae*, так и *P. aeruginosa*, что открывает перспективы ее клинического применения в регионах с высокой распространенностью антибиотикорезистентных возбудителей.

Original Article

Antimutant activity of the combination of colistin and rifaximin in selective digestive decontamination: validation in a dynamic flow-through system

Simonchik M.V.¹, Tapalskiy D.V.¹, Karpova E.V.¹, Tapalskiy S.D.²

¹ Institute of Physiology of the National Academy of Sciences of Belarus, Minsk, Republic of Belarus

² Belarusian State University of Informatics and Radioelectronics, Minsk, Republic of Belarus

Симончик М.В. и соавт.

Активность комбинации колистина и рифаксимины при селективной деконтаминации кишечника

Contacts:
Dmitry V. Tapalskiy
E-mail: tapalskiy@gmail.com

Key words: selective digestive decontamination of the digestive tract, PK/PD modeling, antimutant activity, colistin, rifaximin, dynamic *in vitro* systems, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*.

Conflicts of interest: all authors report no conflicts of interest relevant to this article.
External funding source: this study was supported by the Belarusian Republican Foundation for Fundamental Research (grant M24Y-002).

Introduction. Selective digestive decontamination of the digestive tract (SDD) with non-absorbable antibiotics is considered a promising approach to reduce the risk of infections in critically ill patients. However, the widespread circulation of multidrug-resistant microorganisms, including carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* and *Pseudomonas aeruginosa*, significantly reduces the efficacy of conventional SDD regimens based on colistin monotherapy. The key reason for failures is the wide «mutant selection window» – a range of antibiotic concentrations insufficient to suppress the growth of resistant subpopulations. The use of antimutant combinations of non-absorbable antibiotics may open new prospects for SDD optimization.

Objective. Development and validation of a dynamic flow-through *in vitro* system for pharmacokinetic/pharmacodynamic (PK/PD) modeling of clinical SDD regimens and evaluation of the antimutant activity of the combination of non-absorbable antibiotics colistin and rifaximin against extremely antibiotic-resistant strains of *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*.

Materials and methods. The study included 10 clinical isolates of *K. pneumoniae* (producers of NDM, KPC, OXA-48, KPC+NDM) and 10 clinical isolates of *P. aeruginosa* (including 4 VIM carbapenemase producers). Minimum concentrations of colistin and rifaximin that prevent the selection of resistant mutants (MPC) were determined using agar plating with antibiotic. A single-chamber flow-through system was constructed that reproduces the pharmacokinetics of non-absorbable antibiotics during enteral administration. Clinical regimens of colistin, rifaximin, and their combination administration (every 8 hours for 7 days) were modeled.

Results. MPC of colistin for *K. pneumoniae* strains ranged from 64 to 128 mg/L, for *P. aeruginosa* – 8 to 16 mg/L, which was 8–256 and 4–16 times higher than the MIC, respectively. MPC of rifaximin could not be determined within the tested concentrations for the vast majority of strains (MPC $\geq$ 256 mg/L). In the presence of rifaximin, the MPC of colistin decreased 4–8-fold for *K. pneumoniae* and 2–8-fold for *P. aeruginosa*. In static experiments, colistin (70 mg/L) and rifaximin (200 mg/L) did not prevent breakthrough growth of some strains within 24–48 hours, whereas the combination completely suppressed the growth of all strains for 7 days. In the dynamic flow-through system during monotherapy, adaptation of some microorganisms to colistin and rifaximin was observed; the combination of colistin and rifaximin ensured complete suppression of growth of all tested strains throughout the entire 7-day observation period.

Conclusions. The developed dynamic flow-through system is a convenient tool for preclinical evaluation of PK/PD parameters of antimutant combinations of non-absorbable antibiotics. The combination of colistin and rifaximin demonstrates high antimutant activity under conditions simulating SDD regimens against both *K. pneumoniae* and *P. aeruginosa*, which opens prospects for its clinical use in regions with high prevalence of antibiotic-resistant pathogens.

Введение

Желудочно-кишечный тракт (ЖКТ) человека является важным резервуаром мультирезистентных микроорганизмов (MDRO), в том числе карбапенеморезистентных Enterobacterales, что существенно повышает риск развития тяжелых внутрибольничных инфекций у пациентов с иммунодефицитом, критических больных и реципиентов трансплантатов [1, 2].

У значимой доли носителей колонизация карбапенеморезистентными Enterobacterales сохраняется длительно: медиана носительства составляет не менее 80 дней, а около трети пациентов остаются колонизированными через год [3].

Концепция селективной деконтаминации ЖКТ (СДК) нерезорбируемыми антибиотиками была предложена еще в 1960–1970-е гг. в рамках работ по колонизационной резистентности и профилактике инфекций у тяжелых больных [4–7]. В дальнейшем многочисленные исследования в отделениях интенсивной терапии показали, что различные схемы СДК могут снижать частоту инфекций и риск смерти в отдельных когортах пациентов, однако сопровождаются сложным влиянием на микробиоту и резистом [5–11].

Длительные наблюдения показали, что СДК изменяет состав кишечной микробиоты, сопровождается накоплением детерминант антибиотикорезистентности и формированием устойчивости к полимиксинам и аминогликозидам, особенно в условиях высокой фоновой распространенности MDRO [11–14]. Систематический обзор ESCMID–EUCIC по деколонизации мультирезистентных грамотрицательных бактерий не рекомендовал рутинное применение схем деколонизации у носителей MDRO ввиду ограниченной и неоднородной эффективности, а также риска усиления резистентности [15].

Недавний метаанализ показал, что использование системных и нерезорбируемых антибиотиков для кишечной деколонизации MDRO редко обеспечивает устойчивый эффект и может сопровождаться отбором еще более резистентных штаммов [16]. Свежий обзор Weirauch T. и соавт., суммировавший данные по стратегиям деколонизации MDRO в ЖКТ, подтвердил, что большинство доступных клинических исследований невелики по объему, часто неконтролируемые, отличаются по дозам, длительности и критериям исходов и нередко конфундированы сопутствующим назначением систем-

ных антибактериальных препаратов. В совокупности эти данные не демонстрируют ни краткосрочных преимуществ по клиническим исходам (развитие инфекции, летальность), ни устойчивого долгосрочного эффекта деколониализации кишечника при использовании нерезорбируемых антибиотиков [17].

Согласно Weirauch T. и соавт., нерезорбируемые антибиотики, включая различные режимы применения колистина и аминогликозидов, обеспечивают только временное снижение плотности колонизации MDRO, при этом в большинстве исследований наблюдалось быстрое восстановление колонизации после прекращения терапии. Наряду с этим показано, что такие схемы существенно модифицируют состав кишечной микробиоты, ослабляют колонизационную резистентность, создают условия для горизонтального переноса генов резистентности и могут повышать риск *Clostridioides difficile*-инфекции при длительном использовании. В результате авторы обзора приходят к выводу, что рутинное применение нерезорбируемых антибиотиков для кишечной деколониализации MDRO нецелесообразно; подобные подходы могут рассматриваться лишь в строго отобранных клинических ситуациях при постоянном микробиологическом мониторинге резистентности [17].

На этом фоне становится очевидной необходимость перехода от эмпирических схем СДК к научно обоснованным стратегиям, основанным на концепциях фармакокинетики/фармакодинамики (ФК/ФД), учете локальных концентраций антибиотиков в просвете кишечника, динамики подавления и восстановления MDRO, а также влияния на сложную экосистему кишечной микробиоты [18–20].

Согласно теории «окна селекции мутантов», пролиферация антибиотикорезистентных мутантов возможна только тогда, когда концентрация антибиотика выше его минимальной подавляющей концентрации (МПК), но ниже минимальной концентрации, предотвращающей селекцию мутантов (МПК_м) [21]. Было показано, что определяемые *in vitro* МПК_м колистина для *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* многократно превышают концентрации, создаваемые в организме человека [22, 23]. Предполагается, что монотерапия колистином неизбежно будет приводить к отбору устойчивых к нему субпопуляций [24].

Одним из перспективных путей преодоления ограничений классической СДК является использование комбинаций антибиотиков с дополняющими механизмами действия, препятствующих возникновению мутационной антибиотикорезистентности. Одним из наиболее перспективных кандидатов для включения в состав топического компонента СДК представляется рифаксимин – нерезорбируемый антибиотик из группы рифамицинов [25]. Он успешно применяется для СДК у пациентов с циррозом печени для профилактики спонтанного бактериального перитонита [26, 27].

Многочисленные доклинические исследования показывают выраженный синергизм комбинаций рифамици-

нов с полимиксинами в отношении грамотрицательных бактерий, включая штаммы с множественной лекарственной устойчивостью [28, 29]. Показана способность фиксированных концентраций рифампицина снижать МПК_м колистина для штаммов *A. baumannii* в 4–8 раз, что особенно важно для предотвращения селекции резистентных мутантов [28, 30].

Несмотря на теоретические предпосылки и обнадеживающие данные доклинических исследований *in vitro*, для внедрения комбинации рифаксимицина с колистином в клиническую практику СДК необходимы целенаправленные доклинические исследования, основанные на фармакокинетико-фармакодинамическом (ФК/ФД) моделировании [20].

«Золотым стандартом» для сложных исследований микробиома *in vitro* является модель SHIME (Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem). Это многокамерная система, имитирующая различные отделы ЖКТ, заселенная сообществом микроорганизмов, может использоваться для оценки влияния антибиотиков на колонизационную резистентность и резистом [31]. Однако для целей скрининга антимутантных комбинаций антибиотиков для СДК модель SHIME имеет существенные недостатки, главными из которых являются высокая стоимость и сложность эксплуатации, низкая пропускная способность и невозможность быстрого скрининга комбинаций антибиотиков в разных режимах дозирования [18].

Для первоначальной оценки способности комбинации предотвращать селекцию резистентности у целевых патогенов полная физиологическая модель ЖКТ может быть избыточной. Эти ограничения диктуют необходимость в более простых, воспроизводимых и производимых моделях для доклинической оценки ФК/ФД параметров антимутантных комбинаций.

Однокамерные динамические проточные системы представляют компромиссное решение, поскольку позволяют с высокой точностью воспроизводить сложные, динамически изменяющиеся концентрации антибиотиков в просвете кишечника, имитируя клинические режимы энтерального введения, и при этом обладают значительно более высокой пропускной способностью, позволяя тестировать несколько комбинаций и режимов дозирования [19]. Подобные системы уже успешно применяются для разработки противотуберкулезных препаратов и оптимизации режимов дозирования противомикробных агентов [32, 33]. Такое моделирование создает основу для рационального подбора режимов селективной деконтаминации, которые в дальнейшем могут быть протестированы в клинических исследованиях у строго определенных групп пациентов с крайне высоким риском MDRO ассоциированных инфекций, где потенциальная польза способна перевесить известные риски. Для первоначальной оценки способности комбинации предотвращать селекцию резистентности у целевых патогенов в условиях энтерального введения оптимальны однокамерные динамические проточные системы, позволяющие с высокой точностью воспроизводить дина-

мически изменяющиеся концентрации антибиотиков при клинических режимах дозирования [18, 19].

Цель исследования – разработка и валидация динамической проточной системы *in vitro* для фармакокинетического/фармакодинамического (ФК/ФД) моделирования клинических режимов СДК и оценка антимутантной активности комбинации нерезорбируемых антибиотиков колистина и рифаксимины в отношении экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*.

Материалы и методы

В исследование включены 20 клинических изолятов, выделенных в течение 2020–2021 гг. в медицинских учреждениях Республики Беларусь: *K. pneumoniae* (n = 10) и *P. aeruginosa* (n = 10). Все изоляты выделены от госпитализированных пациентов с внутрибольничными инфекциями: пневмонией (40%), инфекциями кровотока (30%), инфекциями мочевыводящих путей (20%), другими инфекциями (10%). Штаммы характеризовались фенотипом множественной (MDR) или экстремальной (XDR) антибиотикорезистентности. Идентификация микроорганизмов проводилась методом масс-спектрометрии MALDI-TOF MS на системе VITEK MS (bioMérieux, Франция). До проведения исследования штаммы хранились при температуре -70°C в среде с криопротектором.

МПК меропенема, колистина и рифаксимины определялись референсным методом серийных микроразведений в катион-сбалансированном бульоне Мюллера-Хинтона (CAMHB, Oxoid, Великобритания) в соответствии с международным стандартом ISO 20776-1:2019. Учет результатов проводился с использованием камеры визуального считывания Thermo V4007 (Thermo Fisher Scientific, США) после 18–20 ч. инкубации при 35 ± 1°C. Контроль качества выполнялся с использованием референс-штаммов *E. coli* ATCC 25922 и *P. aeruginosa* ATCC 27853.

МПК_м определяли методом, описанным Cai Y. и соавт. [23], с некоторыми изменениями (Рисунок 1).

Готовили 90-мм полистироловые чашки Петри с агаром Мюллера-Хинтона (MHA, Oxoid, Великобритания), содержащим колистина сульфат (Carl Roth, Германия), рифаксимин (Сауман Chemical Company, США) в двукратно возрастающих концентрациях 2, 4, 8, 16, 32, 64, 128 мг/л. Также готовили чашки с MHA, содержащим равные концентрации одновременно двух антибиотиков. Суточные культуры исследуемых штаммов, выращенные на плотной среде (питательный агар, HiMedia, Индия), смывали изотоническим раствором хлорида натрия. Готовили густые бактериальные суспензии, содержащие 5 × 10⁹ микробных клеток/мл (оптическая плотность 16 МакФарланд). С использованием L-образного шпателя и спирального инокулятора наносили 100 мкл полученной суспензии на чашки с MHA и антибиотиками. Расчетная доза для инокуляции составила 5 × 10⁸ микробных клеток на чашку. Посевы инкубировали 24 ч. при 35°C. После инкубации оценивали наличие и харак-

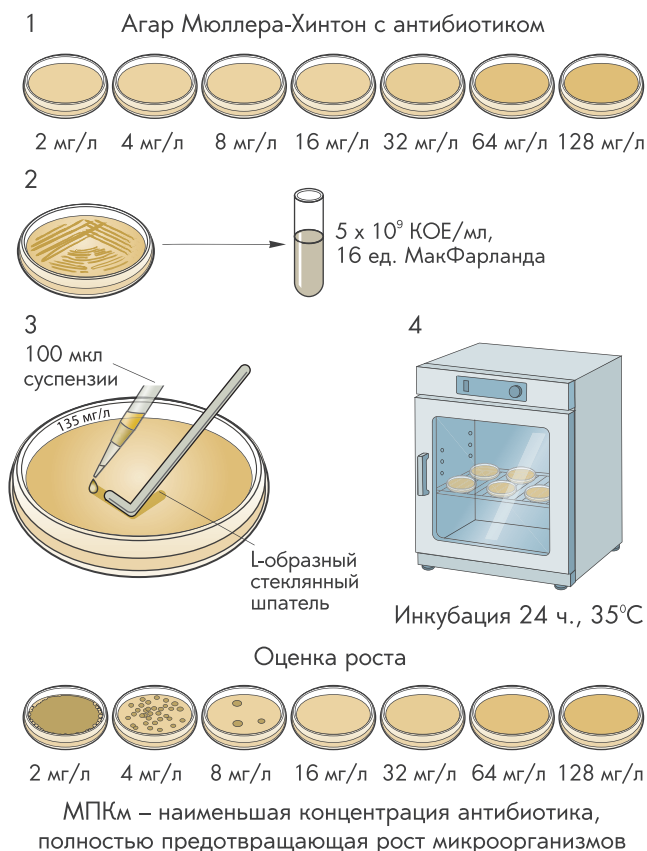


Рисунок 1. Определение минимальных концентраций антибиотиков, предотвращающих селекцию резистентных мутантов (схема исследования)

тер роста на чашках. В качестве МПК_м принимали наименьшую концентрацию антибиотика, полностью предотвращающую рост даже единичных колоний.

Статический эксперимент по определению возникновения мутационной устойчивости проводился в пробирках на шейкере-инкубаторе при постоянной температуре 35°C и условиях аэрации. В пробирки вносили по 5 мл CAMHB с добавлением колистина в концентрации 70 мг/л, рифаксимины в концентрации 200 мг/л, комбинации колистина (70 мг/л) и рифаксимины (200 мг/л). В качестве контроля роста использовалась среда CAMHB без антибиотиков. Исходный инокулом составлял 10⁷ КОЕ/мл. Наблюдение за ростом проводилось в течение 7 суток. Результаты фиксировались по времени появления видимого роста (помутнения) в культуральной среде. При появлении роста переносили культуру на плотную питательную среду с добавлением антибиотиков для верификации устойчивых изолятов.

Для проведения ФК/ФД моделирования была сконструирована, собрана и откалибрована однокамерная динамическая проточная система, способная в режиме реального времени моделировать пероральное поступление антибиотиков в кишечник и их постепенную элиминацию (Рисунок 2).

Емкость с питательной средой содержит катион-сбалансированный бульон Мюллера-Хинтон, который подается в основную камеру посредством перистальтического насоса. Основная камера совмещена с магнитным смесителем и служит местом культивирования микроорганизмов и моделирования концентраций антибиотиков. Система функционирует без активной аэрации, моделируя микроаэрофильные условия толстой кишки. Емкость с раствором антибиотика содержит растворы антибиотиков, которые вводятся в основную камеру через перистальтический насос согласно заданной программе. Емкость для сброса предназначена для сбора отработанной среды, удаляемой из основной камеры. Все компоненты выполнены из стекла и соединены между собой силиконовыми шлангами (внутренний диаметр 2 мм). Объем основной камеры составляет 40 мл и ограничивается глубиной погружения выводящего патрубка, что обеспечивает стабильность моделирования и воспроизводимость результатов. Материалы являются термостойкими и стерилизуются воздушным методом при 180°C в течение 60 мин. в соответствии с требованиями асептической работы. Для компенсации давления газа во флаконах в пробки дополнительно вмонтированы патрубки с закрепленными на них бактериальными фильтрами (шприц-фильтры с диаметром пор 0,22 мкм; Millipore, США), предотвращающими контаминацию системы при сохранении газообмена.

Система включает три дистанционно управляемых перистальтических насоса, позволяющих обеспечить дозированное введение питательной среды (перфузию) в основную камеру, циклическое введение раствора антибиотика согласно клинической схеме дозирования и контролируемую элиминацию жидкости из основной камеры. Управление насосами осуществляется через микроконтроллер ESP32, который позволяет запускать

и отключать насосы. Программирование режимов работы и запуск системы осуществляется посредством Wi-Fi-модуля через мобильное приложение. Магнитный смеситель приводится в движение коллекторным двигателем RS-550 с ШИМ контроллером, обеспечивая постоянное перемешивание содержимого основной камеры при 150–200 об/мин. Точность дозирования отдельных компонентов достигается благодаря шаговым двигателям NEMA17 с соответствующими драйверами.

При проведении моделирования объем кишечного содержимого человека принимали равным 2000 мл как укрупненный модельный параметр для совокупности тонкой и проксимальной части толстой кишки, используемый для численной оценки процессов абсорбции и элиминации в кишечнике [34]. Объем основной камеры в динамической проточной системе составляет 40 мл, что соответствует масштабу 1:50.

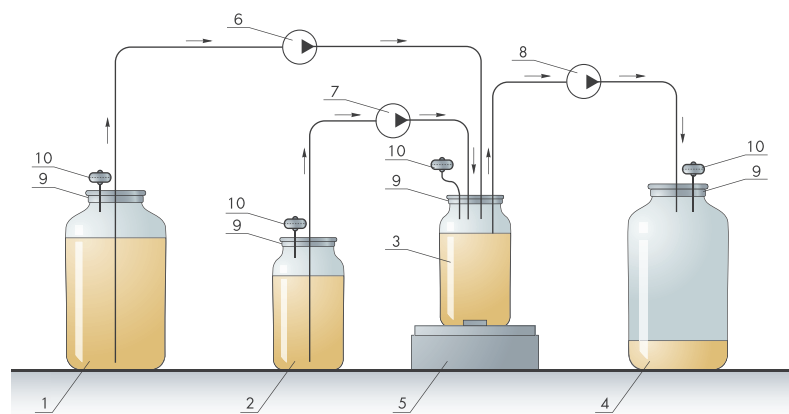
Непрерывная перфузия САМНВ осуществлялась со скоростью 5% в час (2 мл/ч), что моделирует кинетику элиминации антибиотика вследствие перистальтики.

Разовая доза колистиметата натрия при клиническом применении составляет 2 млн МЕ (66 мг), вводится каждые 8 ч. в течение 5–7 суток. При масштабировании 1:50 в системе моделировалась доза 1,32 мг, вводимая в основную камеру каждые 8 ч. в течение 7 суток. Разовая доза рифаксимины при клиническом применении составляет 200 мг, вводится каждые 8 ч. В системе моделировалась доза 4 мг, вводимая в основную камеру каждые 8 ч.

Стартовая концентрация микробных клеток в основной камере составляла 5×10^5 КОЕ/мл. Система размещалась в камере термостата и инкубировалась при 35°C на протяжении всего периода моделирования. Критерием микробиологической эффективности



А



Б

1 – флакон со средой для подачи в основную камеру; 2 – раствор антибиотика; 3 – основная камера; 4 – флакон для сброса из основной камеры; 5 – магнитная мешалка; 6, 7, 8 – дистанционно управляемые перистальтические насосы; 9 – пробка силиконовая; 10 – фильтр бактериальный

Рисунок 2. Дистанционно управляемая программируемая динамическая проточная система, моделирующая режимы энтерального введения антимикробных лекарственных средств в режиме селективной деконтаминации кишечника

А – внешний вид, Б – принципиальная схема.

считали подавление видимого роста на протяжении всего периода наблюдения (7 суток). При выявлении признаков роста и в случае отсутствия по завершении 7 суток эксперимента проводили количественный высеv содержимого основной камеры на плотную питательную среду.

Для валидации динамической проточной системы была проведена спектрофотометрическая оценка концентраций рифампицина, создаваемых в основной камере в различные временные промежутки. Использовали фармацевтическую субстанцию рифампицина (Rifampicin, Art. No. 4163.3, Carl Roth, Германия). Выбор рифампицина для валидации динамической проточной системы обоснован его физико-химическими свойствами (выраженными оптическими свойствами в видимом диапазоне, стабильностью концентрации при длительной инкубации в условиях эксперимента), которые делают этот антибиотик удобным модельным маркером для колориметрического контроля концентраций.

Результаты

МПК и МПК_м антибиотиков

В Таблицах 1 и 2 представлены значения МПК антибиотиков и МПК_м колистина, рифаксимины и их комбинации для штаммов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*.

Для штаммов *K. pneumoniae* МПК меропенема находились в диапазоне 32–512 мг/л, что соответствует выраженной устойчивости независимо от типа карбапенемазы. МПК колистина составляли ≤ 2 мг/л у 5 штаммов (категория «чувствительный») и > 2 мг/л у 5 штаммов (категория «устойчивый»). Диапазон МПК рифаксимины – 16–64 мг/л. МПК_м колистина многократно (в 8–256 раз) превышали МПК, тогда как МПК_м рифаксимины не удалось определить в тестируемом диапазоне концентраций (МПК_м ≥ 256 мг/л для всех штаммов). Это указывает на то, что для блокирования селекции резистентных мутантов при монотерапии требуются концентрации, существенно превышающие МПК и практически недостижимые при клиническом применении в режиме СДК.

Таблица 1. Значения МПК и МПК_м антибиотиков для штаммов *K. pneumoniae*

Штамм	Карбапенемаза	МПК, мг/л			МПК _м , мг/л		
		МЕР	КОЛ	РИФ	КОЛ	РИФ	КОЛ + РИФ
БК-173	NDM	32	1	32	64	≥ 256	8+8
БК-174	KPC	256	8	32	64	≥ 256	16+16
БК-175	NDM	256	8	32	64	≥ 256	16+16
БК-186	NDM	64	2	64	128	≥ 256	16+16
БК-197	NDM	64	2	64	128	≥ 256	16+16
БК-208	NDM	256	4	16	64	≥ 256	16+16
БК-209	OXA-48	128	4	32	64	≥ 256	16+16
БК-217	NDM	256	4	32	128	≥ 256	16+16
БК-223	KPC+NDM	512	0,5	64	128	≥ 256	8+8
БК-224	KPC+NDM	512	0,5	64	64	≥ 256	8+8

МЕР – меропенем, КОЛ – колистин, РИФ – рифаксимин.

Таблица 2. Значения МПК и МПК_м антибиотиков для штаммов *P. aeruginosa*

Штамм	Карбапенемаза	МПК, мг/л			МПК _м , мг/л		
		МЕР	КОЛ	МЕР	КОЛ	МЕР	КОЛ + РИФ
БП-031	MBL VIM	1024	2	64	8	≥256	4+4
БП-059	MBL VIM	512	2	64	8	≥256	8+8
БП-079	-	64	1	32	8	≥256	8+8
БП-083	-	32	1	32	16	≥256	8+8
БП-093	-	16	0,5	32	8	≥256	8+8
БП-094	-	32	0,5	64	16	≥256	8+8
БП-095	MBL VIM	128	2	32	16	≥256	8+8
БП-100	MBL VIM	1024	2	64	8	≥256	8+8
БП-104	-	16	1	64	16	≥256	8+8
БП-111	-	16	2	16	8	64	8+8

МЕР – меропенем, КОЛ – колистин, РИФ – рифаксимин.

На этом фоне показательна активность комбинации колистина с рифаксимином. При совместном тестировании обоих антибиотиков в равных концентрациях МПК_М комбинации для всех штаммов снижались до 8+8 или 16+16 мг/л по каждому компоненту, что было в 4–32 раза ниже, чем индивидуальные МПК_М антибиотиков. Таким образом, «окно селекции мутантов» для колистина и рифаксимины чрезвычайно широко, тогда как использование их комбинации существенно снижает пороговые концентрации до значений, потенциально достижимых в условиях энтеральной СДК.

Для штаммов *P. aeruginosa* МПК меропенема варьировали от 16 до 1024 мг/л, наиболее высокие значения МПК отмечены у VIM-продуцирующих изолятов (МПК 128–1024 мг/л). Все штаммы сохраняли чувствительность к колистину (МПК 0,5–2 мг/л, категория «чувствительный»). МПК рифаксимины для *P. aeruginosa* составляли 16–64 мг/л, что сопоставимо с показателями для *K. pneumoniae*.

МПК_М колистина для штаммов *P. aeruginosa* составляли 8–16 мг/л, что в 4–16 раз превышало МПК. Эти значения ниже, чем для *K. pneumoniae* (64–128 мг/л).

МПК_М рифаксимины не удалось определить в тестируемом диапазоне для 9 из 10 штаммов (МПК_М ≥ 256 мг/л). Применение комбинации колистина с рифаксимином снижало МПК_М колистина для всех штаммов *P. aeruginosa* до 4 или 8 мг/л, что в 2–8 раз ниже индивидуальной МПК_М колистина в монотерапии. Важно отметить, что для штаммов-продуцентов VIM, у которых МПК меропенема превышали 500 мг/л, МПК_М комбинации составляли 4 + 4 мг/л (БП-031) и 8 + 8 мг/л (БП-059, БП-095, БП-100), то есть достигали значений, потенциально реализуемых при энтеральном введении нерезорбируемых антибиотиков. Таким образом, и для *P. aeruginosa* комбинация колистина с рифаксимином существенно снижает «окно селекции мутантов».

Статический эксперимент

Результаты статического эксперимента, в котором штаммы *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* инкубировали 7 суток при 35°C в САМНВ с фиксированными концентрациями антибиотиков (колистин 70 мг/л, рифаксимин 200 мг/л, их комбинация 70+200 мг/л), представлены в Таблицах 3 и 4.

Таблица 3. Время появления видимого роста для штаммов *K. pneumoniae* в условиях статического эксперимента

Штамм	Колистин (70 мг/л)	Рифаксимин (200 мг/л)	Колистин + Рифаксимин (70 + 200 мг/л)	Контроль роста
<i>K. pneumoniae</i> БК-173	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>K. pneumoniae</i> БК-174	роста нет	48 ч.	роста нет	24 ч.
<i>K. pneumoniae</i> БК-175	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>K. pneumoniae</i> БК-186	48 ч.	48 ч.	роста нет	24 ч.
<i>K. pneumoniae</i> БК-197	роста нет	24 ч.	роста нет	24 ч.
<i>K. pneumoniae</i> БК-208	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>K. pneumoniae</i> БК-209	роста нет	24 ч.	роста нет	24 ч.
<i>K. pneumoniae</i> БК-217	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>K. pneumoniae</i> БК-223	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>K. pneumoniae</i> БК-224	48 ч.	роста нет	роста нет	24 ч.

Таблица 4. Время появления видимого роста для штаммов *P. aeruginosa* в условиях статического эксперимента

Штамм	Колистин (70 мг/л)	Рифаксимин (200 мг/л)	Колистин + Рифаксимин (70 + 200 мг/л)	Контроль роста
<i>P. aeruginosa</i> БП-031	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>P. aeruginosa</i> БП-059	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>P. aeruginosa</i> БП-079	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>P. aeruginosa</i> БП-083	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>P. aeruginosa</i> БП-093	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>P. aeruginosa</i> БП-094	48 ч.	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>P. aeruginosa</i> БП-095	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>P. aeruginosa</i> БП-100	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>P. aeruginosa</i> БП-104	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.
<i>P. aeruginosa</i> БП-111	роста нет	роста нет	роста нет	24 ч.

Во всех контрольных пробирках видимый рост регистрировался уже через 24 ч., подтверждая жизнеспособность всех штаммов. В концентрации 70 мг/л колистин подавлял видимый рост 8 из 10 штаммов *K. pneumoniae* на протяжении всего 7-суточного периода наблюдения. У 2 штаммов (БК-186, БК-224) видимый рост появлялся через 48 ч., что свидетельствует о селекции колистиноустойчивых мутантов. Примечательно, что прорывной рост наблюдался у штамма БК-186 с относительно высокой МПК_м колистина (128 мг/л) – использованная концентрация оказалась ниже МПК_м, а также у штамма БК-224 (МПК_м 64 мг/л), для которого использованная концентрация формально превышала агаровую МПК_м, но в жидкофазных условиях длительной экспозиции оказалась недостаточной.

В концентрации 200 мг/л рифаксимин подавлял рост у 6 из 10 штаммов *K. pneumoniae*. Прорывной рост зарегистрирован у 4 штаммов: БК-197 и БК-209 – уже через 24 ч., БК-174 и БК-186 – через 48 ч. Быстрое (в пределах 24 ч.) появление мутантов у БК-197 и БК-209 указывает на высокую частоту спонтанных мутаций, предположительно в гене *groV*, у этих штаммов.

Комбинация колистина (70 мг/л) и рифаксимины (200 мг/л) полностью предотвратила появление видимого роста у всех 10 штаммов *K. pneumoniae* на протяжении 7 суток. Даже штаммы, способные к быстрой (24–48 ч.) генерации устойчивых субпопуляций при монотерапии одним из антибиотиков, не смогли преодолеть комбинированное воздействие. Это отражает независимость механизмов резистентности: к колистину – через модификацию липида А (гены *mgrB*, *pmrAB*, *phoPQ*), к рифаксимины – через мутации в гене *groV*. Одновременное возникновение двух независимых мутаций (в мишенях на клеточной мембране и в РНК-полимеразе) в одной бактериальной клетке крайне маловероятно при данном уровне инокулюма.

Результаты статического эксперимента для штаммов *P. aeruginosa* выявили несколько иную картину по сравнению с *K. pneumoniae*, отражающую более высокую природную чувствительность псевдомонад к колистину. Во всех контрольных пробирках рост регистрировался через 24 ч., подтверждая жизнеспособность штаммов. В концентрации 70 мг/л колистин подавлял видимый рост 9 из 10 штаммов *P. aeruginosa* на протяжении всего 7-суточного периода наблюдения. Прорывной рост был зарегистрирован лишь у одного штамма – БП-094 (через 48 ч.). Примечательно, что этот штамм не является продуцентом VIM-карбапенемазы и характеризуется неферментативными механизмами резистентности к меропенему, а МПК колистина для него составляет 0,5 мг/л. Это указывает на то, что прорывной рост обусловлен не исходной устойчивостью к колистину, а наличием устойчивой к нему субпопуляции, способной к размножению при данном уровне экспозиции в жидкофазных условиях. Использованная концентрация колистина (70 мг/л) превышает индивидуальную МПК_м данного штамма (16 мг/л), однако в условиях длительной жидкофазной инкубации с высоким стартовым инокулю-

мом (10^7 КОЕ/мл) она оказалась недостаточной для предотвращения роста мутантов.

В концентрации 200 мг/л рифаксимин полностью подавлял видимый рост всех 10 штаммов *P. aeruginosa* на протяжении всего 7-суточного периода наблюдения. Это отличает *P. aeruginosa* от *K. pneumoniae*. Подобная высокая чувствительность *P. aeruginosa* к рифаксимины в статическом эксперименте при данной концентрации может быть связана с более низкими значениями МПК рифаксимины (16–64 мг/л), которые у ряда штаммов приближаются к использованной концентрации, однако фиксированная концентрация 200 мг/л оказалась достаточной для создания антимутантного барьера.

Комбинация колистина (70 мг/л) и рифаксимины (200 мг/л) полностью подавила рост всех 10 штаммов *P. aeruginosa* на протяжении 7 суток, включая штамм БП-094, давший прорывной рост при монотерапии колистином.

Валидация динамической проточной системы

Спектрофотометрическая валидация динамической проточной системы подтвердила высокую точность воспроизведения расчетных концентраций антибиотика. Для 56 контрольных точек на протяжении 7 суток коэффициент детерминации калибровочной кривой составил $R^2 = 0,9985$. Относительная погрешность между расчетными и фактическими концентрациями рифампицина не превышала 2,5%, а период полувыведения отличался от расчетного менее чем на 5%. Идентичность расчетных и экспериментальных кинетических профилей подтверждает способность системы с высокой точностью воспроизводить заданные ФК/ФД параметры при многократных циклах введения антибиотика.

ФК/ФД моделирование для штаммов *Klebsiella pneumoniae*

Исследование проведено для 2 экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *K. pneumoniae* с устойчивостью к меропенему (МПК 256 мг/л) и колистину (МПК > 2 мг/л), продуцентов карбапенемаз. Расчетные моделируемые концентрации колистина и рифаксимины представлены на Рисунке 3.

Результаты фармакодинамического моделирования энтерального введения колистиметата натрия, рифаксимины и их комбинации представлены в Таблице 5.

При моделировании монотерапии рифаксимином отмечена адаптация тестируемых штаммов *K. pneumoniae* к создаваемым концентрациям антибиотика: для штамма БК-174 прорывной рост наблюдался на 1-е сутки эксперимента, для штамма БК-208 – на 4-е сутки. Различия в сроках появления роста отражает разную частоту спонтанных мутаций в гене *groV* у этих штаммов: для БК-174, уже продемонстрировавшего быстрый (24 ч.) прорывной рост в статическом эксперименте, характерна более высокая мутабельность.

При моделировании монотерапии колистином адаптация к нему выявлена у штамма *K. pneumoniae* БК-174 (видимый рост на 2-е сутки эксперимента). Штамм

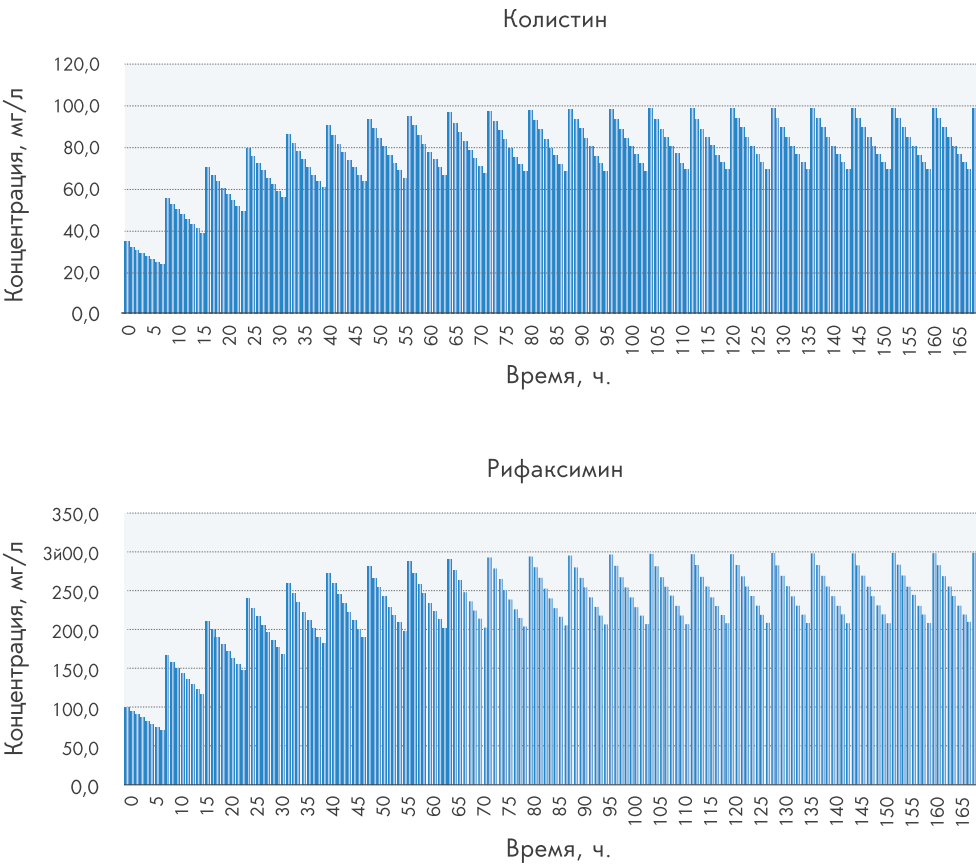


Рисунок 3. Моделируемые расчетные концентрации колистина и рифаксими́на

Таблица 5. Результаты ФК/ФД моделирования энтерального введения колистина, рифаксими́на и их комбинации для штаммов *K. pneumoniae*

Микроорганизм	Лаб.№	Антибиотик	Дозировка, мг	Интервал введения, ч.	Микробный рост, сутки эксперимента							
					0	1	2	3	4	5	6	7
<i>K. pneumoniae</i>	БК-174	колистин	1,32	8	роста нет	роста нет	рост					
		рифаксимин	4		роста нет	рост						
		колистин + рифаксимин	1,32 + 4		роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет
<i>K. pneumoniae</i>	БК-208	колистин	1,32	8	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет
		рифаксимин	4		роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	рост			
		колистин + рифаксимин	1,32 + 4		роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет

БК-208 при монотерапии колистином не демонстрировал роста на протяжении всех 7 суток, что согласуется с его индивидуальным значением МПК колистина (4 мг/л) и относительно умеренной МПК_м (64 мг/л) – концентрации колистина, создаваемая в системе, оказалась достаточной для полного подавления в этом случае.

При комбинированном введении колестиметата натрия и рифаксимины оба штамма *K. pneumoniae* не обнаруживали признаков видимого роста на протяжении всего периода наблюдения (168 ч.). Количественный посев по завершении периода моделирования подтвердил отсутствие жизнеспособных микробных клеток. Таким образом, показана возможность эффективного использования комбинации двух нерезорбируемых антибиотиков, колистина и рифаксимины, для предотвращения роста экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *K. pneumoniae* в режиме, моделирующем клинические параметры СДК.

ФК/ФД моделирование для штаммов *Pseudomonas aeruginosa*

В динамическом эксперименте исследованы 3 штамма *P. aeruginosa*: БП-031 (МВЛ VIM, МПК меропенема 1024 мг/л, МПК колистина 2 мг/л), БП-094 (без карбапенемазы, МПК меропенема 32 мг/л, МПК колистина 0,5 мг/л) и БП-104 (без карбапенемазы, МПК меропенема 16 мг/л, МПК колистина 1 мг/л). Результаты фармакодинамического моделирования представлены в Таблице 6.

При моделировании монотерапии рифаксимином адаптация к создаваемым концентрациям антибиотика тестируемых штаммов *P. aeruginosa* в течение 7 суток

эксперимента не развивалась: все три штамма не демонстрировали видимого роста на протяжении всего периода наблюдения. Это согласуется с данными статистического эксперимента, в котором рифаксимин в концентрации 200 мг/л полностью подавлял рост всех 10 штаммов *P. aeruginosa*. Следует отметить, что МПК_м рифаксимины для двух из трех тестируемых штаммов (БП-031, БП-094) составляли ≥ 256 мг/л, что формально выше создаваемых в системе концентраций. Тем не менее рифаксимин в используемых условиях проявлял высокую бактериостатическую эффективность, препятствуя росту мутантных субпопуляций, вероятно, за счет сочетания выраженного угнетения транскрипции и действия в широком диапазоне концентраций.

При моделировании монотерапии колистином выявлена адаптация к нему штамма *P. aeruginosa* БП-094: видимый рост появился через 72 ч. (3-и сутки) от начала эксперимента. Штаммы БП-031 и БП-104 при монотерапии колистином не давали видимого роста на протяжении всех 7 суток. Прорывной рост у БП-094 примечателен, поскольку этот штамм характеризуется наиболее низкой МПК колистина среди трех тестируемых (0,5 мг/л), однако имеет относительно высокую МПК_м (16 мг/л).

Комбинированное введение колистина и рифаксимины обеспечивало полное подавление микробного роста всех трех тестируемых штаммов *P. aeruginosa* на протяжении всего 7-суточного периода наблюдения.

Таким образом, в динамической проточной системе, воспроизводящей клинические режимы СДК, показана высокая антимутантная активность рифаксимины и возможность ее комбинирования с колистином для дости-

Таблица 6. Результаты ФК/ФД моделирования энтерального введения колистина, рифаксимины и их комбинации для штаммов *P. aeruginosa*

Микроорганизм	Лаб. №	Антибиотик	Дозировка, мг	Интервал введения, ч.	Микробный рост, сутки эксперимента							
					0	1	2	3	4	5	6	7
<i>P. aeruginosa</i>	БП-031	колистин	1,32	8	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет
		рифаксимин	4		роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет
		колистин + рифаксимин	1,32 + 4		роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет
<i>P. aeruginosa</i>	БП-094	колистин	1,32		роста нет	роста нет	рост					
		рифаксимин	4		роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет
		колистин + рифаксимин	1,32 + 4		роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет
<i>P. aeruginosa</i>	БП-104	колистин	1,32		роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет
		рифаксимин	4		роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет
		колистин + рифаксимин	1,32 + 4		роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет	роста нет

жения подавления роста экстремально-антибиотикорезистентных штаммов *P. aeruginosa*, включая продуцентов металло-β-лактамазы VIM. Комбинация колистина и рифаксимины обеспечивает взаимодополняющее антимутантное действие: рифаксимин «закрывает» окно селекции для штаммов, у которых создаваемые концентрации колистина оказываются недостаточными для полного подавления мутантных субпопуляций.

Обсуждение

Разработанная однокамерная динамическая проточная система с Wi-Fi-управлением и микроконтроллером ESP32 представляет собой воспроизводимый и экономически доступный инструмент для доклинической ФК/ФД оценки комбинаций нерезорбируемых антибиотиков в режимах, имитирующих СДК. Спектрофотометрическая валидация ($R^2 = 0,9985$, погрешность $< 2,5\%$ по концентрациям и $< 5\%$ по периоду полувыведения) подтверждает высокую точность воспроизведения заданных кинетических профилей. Выбор масштаба 1:50 (40 мл камера: 2000 мл кишечник) является оптимальным компромиссом между физиологической релевантностью, управляемостью и экономичностью.

Полученные результаты подтверждают, что основным ограничением применения монотерапии колистином в режиме СДК является широкое «окно селекции мутантов». МПК_М колистина для *K. pneumoniae* составляли 64–128 мг/л, то есть в 8–256 раз превышали МПК, а для *P. aeruginosa* – 8–16 мг/л (в 4–16 раз выше МПК). Клинически достижимые концентрации колистина в просвете кишечника при режимах СДК (70–100 мг/л) систематически располагаются ниже МПК_М у значительной части штаммов, что создает неизбежные условия для адаптации. Это согласуется с данными Choi M. и соавт. и Nordqvist H. и соавт. [22, 28], демонстрировавшими высокие значения МПК_М колистина для клинических изолятов, и объясняет хорошо известный феномен «гетерорезистентности» к колистину у *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*.

Данное исследование предоставляет экспериментальное обоснование для критически важного вывода: в отношении *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa* монотерапия каком-либо из двух нерезорбируемых антибиотиков не обеспечивала стабильного подавления бактериального роста в условиях, воспроизводящих клинические параметры СДК (7 суток, динамически изменяющиеся концентрации). Прорывной рост наблюдался при монотерапии колистином у 1 из 3 тестируемых штаммов *P. aeruginosa* и у 1 из 2 штаммов *K. pneumoniae*; при монотерапии рифаксимином – у 1 из 2 штаммов *K. pneumoniae*. Это согласуется с данными систематических обзоров и метаанализов, фиксирующих ненадежность стандартных режимов СДК в условиях высокой распространенности MDRO [14–17].

Обзор Weirauch T. и соавт. суммировал данные по всему спектру стратегий деколониации MDRO в ЖКТ – как антибиотических, так и неантибиотических. Авторы

констатируют, что имеющаяся клиническая доказательная база не подтверждает эффективности нерезорбируемых антибиотиков для кишечной деколониации: исследования немногочисленны, часто неконтролируемы, гетерогенны по дозам и критериям исходов. Ни краткосрочных преимуществ по клиническим исходам, ни устойчивого долгосрочного эффекта деколониации обнаружено не было [17].

Критически оценивая выводы обзора Weirauch T. и соавт. в контексте собственных результатов, мы полагаем, что констатируемая неэффективность стандартных режимов СДК имеет четкое фармакодинамическое объяснение, связанное именно с феноменом «окна селекции мутантов»: большинство клинических исследований СДК использовали монотерапию колистином (или аминогликозидами), создавая условия для закономерной адаптации MDRO. Описываемые авторами обзора временное снижение колонизации с последующим восстановлением до исходного уровня и модификация резистомы при монотерапии – это предсказуемые следствия экспозиции в «окне селекции мутантов», а не принципиальная непреодолимость самой концепции кишечной деколониации.

Важное отличие предлагаемого нами подхода состоит в использовании антимутантной комбинации двух нерезорбируемых антибиотиков с независимыми мишенями и независимыми механизмами формирования резистентности. Комбинация колистина (деструкция наружной мембраны через взаимодействие с липидом А, резистентность через модификацию липида А – мутации в генах *mgrB*, *pmrAB*, *phoPQ*) и рифаксимины (ингибирование РНК-полимеразы, резистентность через мутации в гене *groV*) создает молекулярный барьер, преодоление которого требует одновременного возникновения двух независимых мутаций в одной клетке. Порядок величины вероятности возникновения этого события определяется произведением индивидуальных частот мутаций ($\approx 10^{-15}$ – 10^{-16}), что при концентрации микробных клеток 10^7 КОЕ/мл практически исключает возникновение резистентности.

Данный механизм антимутантного синергизма подтвержден несколькими линиями доказательств. Так, Nordqvist H. и соавт. [28] показали, что комбинация колистина с рифампицином снижала МПК_М колистина для *A. baumannii* в 4–8 раз, полностью подавляя рост колистиноустойчивых субпопуляций; именно эта закономерность воспроизведена нами для *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*. Tascini C. и соавт. продемонстрировали синергизм колистина и рифампицина в отношении КРС-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae*, включая колистинорезистентные изоляты [29]. ФК/ФД модель комбинации колистина и рифампицина против *A. baumannii* показала, что только комбинация в клинически достижимых концентрациях обеспечивает устойчивое подавление роста и предотвращает резистентность при длительном наблюдении [30].

Принципиально важно, что оба компонента предлагаемой комбинации, колистин и рифаксимин, явля-

ются нерезорбируемыми антибиотиками, что обеспечивает их высокие концентрации в просвете кишечника (≥ 70 –200 мг/л при клинических дозах) без системного воздействия и соответствующих побочных эффектов [25, 35]. Это отличает предлагаемый подход от комбинаций, включающих системные антибиотики, применение которых значительно увеличивает селективное давление. Сохранение анаэробной микробиоты – еще одно преимущество: колистин и рифаксимин преимущественно активны в отношении аэробных и факультативно-анаэробных бактерий, оставляя незатронутой облигатную анаэробную микробиоту, играющую ключевую роль в колонизационной резистентности [36].

В свете критики, высказанной Weirauch T. и соавт. в отношении нерезорбируемых антибиотиков, следует подчеркнуть ключевые преимущества предлагаемого подхода, отличающие его от стандартных режимов СДК. Первое – антимутантный потенциал: в отличие от монотерапии колистином, комбинация с рифаксимином закрывает «окно селекции мутантов» для ключевых патогенов СДК (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*). Второе – минимизация влияния на резистом: при корректном подборе доз комбинация предотвращает, а не лишь замедляет накопление резистентных мутантов. Третье – доклиническая ФК/ФД основа: динамическое моделирование позволяет заранее прогнозировать соотношение «концентрация–эффект» для конкретных штаммов и региональных коллекций перед клиническим применением, тем самым восполняя методологический пробел, отмеченный в обзоре [17].

Следует признать ряд ограничений исследования. Использовалась питательная среда (CAMHB) в отсутствие сложного микробиома реального кишечника. Динамика конкуренции между нормобиотой и MDRO, а также влияние на колонизационную резистентность требуют изучения в более физиологически релевантных моделях, в частности SHIME [31]. Исследование охватывало только *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*, другие важные мишени СДК (*A. baumannii*, *Enterococcus* spp.) не изучались в данном дизайне. Ограниченное число штаммов в динамическом эксперименте не позволяет проводить популяционный ФК/ФД анализ. Отсутствие данных о механизмах мутационной устойчивости изолятов, выросших при прорывном росте при моделировании монотерапии, ограничивает возможности характеристики приобретенных механизмов резистентности.

Тем не менее полученные результаты создают основу для рационального проектирования схем СДК, основанных на принципе антимутантной комбинации. Такой подход соответствует парадигме «precision medicine»

применительно к лечению MDRO-носительства: вместо эмпирического назначения стандартных схем – доклиническая оценка ФК/ФД в динамических системах, отбор антимутантных комбинаций, затем проспективные клинические испытания в строго отобранных группах пациентов с доказанной колонизацией целевыми патогенами и высоким риском тяжелых инфекций.

Заключение

Разработана, собрана и валидирована однокамерная динамическая проточная система, воспроизводящая с высокой точностью (погрешность $< 2,5\%$) фармакокинетику нерезорбируемых антибиотиков при их энтеральном введении в режиме СДК. Система обеспечивает культивирование исследуемых микроорганизмов в присутствии динамически изменяющихся концентраций антибиотиков и может служить платформой для доклинического ФК/ФД скрининга антимутантных комбинаций нерезорбируемых антибиотиков.

Комбинация колистина и рифаксимины проявляла высокую антимутантную активность в отношении экстремально-резистентных штаммов как *K. pneumoniae* (включая карбапенемазопродуцирующие изоляты с типами NDM, KPC, OXA-48 и двойными продуцентами), так и *P. aeruginosa* (включая VIM-продуцирующие изоляты). Комбинация обеспечивала полное подавление роста на протяжении всех 7 суток ФК/ФД моделирования, тогда как монотерапия каждым антибиотиком не предотвращала адаптацию и восстановление роста микроорганизмов.

Добавление рифаксимины к колистину снижало МПК_М колистина в 4–8 раз для *K. pneumoniae* и в 2–8 раз для *P. aeruginosa*, переводя значения МПК_М комбинации в диапазон концентраций, потенциально достижимых в просвете кишечника при клиническом применении. Независимость механизмов формирования резистентности к двум антибиотикам исключает одновременное возникновение двойных мутантов при клинически значимых концентрациях микроорганизмов.

Полученные данные предоставляют экспериментальное обоснование для качественно нового подхода СДК – замены монотерапии нерезорбируемым антибиотиком антимутантной комбинацией, закрывающей «окно селекции мутантов». Дальнейшие исследования в физиологических моделях микробиома (SHIME), а также клинические испытания в группах пациентов с высоким риском MDRO-ассоциированных инфекций необходимы для подтверждения клинической значимости предлагаемого подхода.

Литература

1. Arzilli G., Scardina G., Casigliani V., Petri D., Porretta A., Moi M., et al. Screening for antimicrobial-resistant Gram-negative bacteria in hospitalized patients and risk of progression to infection: systematic review. *J Infect.* 2022;84(2):119-130. DOI: 10.1016/j.jinf.2021.11.007
2. Ferrer R., Soriano A., Canton R., Del Pozo J.L., García-Vidal C., Garnacho-Montero J., et al. Risk factors for infection progression in colonised patients with carbapenem-resistant Gram-negative bacteria: systematic review and expert consensus. *Rev Esp Quimioter.* 2022;35(5):455-467. DOI: 10.37201/req/058.2022
3. Heath M.R., Fan W., Leu C.S., Gomez-Simmonds A., Lodise T., Freedberg D.E. Gut colonization with multidrug-resistant organisms in the ICU: systematic review and meta-analysis. *Crit Care.* 2024;28(1):211. DOI: 10.1186/s13054-024-04999-9
4. Van der Waaij D., Berghuis-de Vries J.M., Lekkerkerk L.V. Colonization resistance of the digestive tract in conventional and antibiotic-treated mice. *J Hyg.* 1971;69(3):405-411. DOI: 10.1017/S0022172400021653
5. Johanson W.G., Pierce A.K., Sanford J.P. Changing pharyngeal bacterial flora of hospitalized patients: emergence of Gram-negative bacilli. *N Engl J Med.* 1969;281(21):1137-1140. DOI: 10.1056/NEJM196911202812101
6. De Vries J.M., van Leeuwen A.M. Colonization-resistance of the digestive tract in mice treated with antibiotics. *J Infect Dis.* 1973;128(Suppl.):S307-S316.
7. Stoutenbeek C.P., van Saene H.K., Miranda D.R., Zandstra D.F. The effect of selective decontamination of the digestive tract on colonisation and infection rate in multiple trauma patients. *Intensive Care Med.* 1984;10(4):185-192. DOI: 10.1007/BF00259435
8. Oostdijk E.A.N., Kesecioglu J., Schultz M.J., Visser C.E., de Jonge E., van Essen E.H.R., et al. Effects of decontamination of the oropharynx and intestinal tract on antibiotic resistance in ICUs: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2014;312(14):1429-1437. DOI: 10.1001/jama.2014.7247
9. Wittekamp B.H., Plantinga N.L., Cooper B.S., Lopez-Contreras J., Coll P., Mancebo J., et al. Decontamination strategies and bloodstream infections with antibiotic-resistant microorganisms in ventilated patients: a randomized clinical trial. *JAMA.* 2018;320(20):2087-2098. DOI: 10.1001/jama.2018.13765
10. Buitinck S., Jansen R., Rijkenberg S., Wester J.P.J., Bosman R.J., van der Meer N.J.M., et al. The ecological effects of selective decontamination of the digestive tract (SDD) on antimicrobial resistance: a 21-year longitudinal single-centre study. *Crit Care.* 2019;23(1):208. DOI: 10.1186/s13054-019-2480-z
11. Fernandez-Fernandez R., Yuste-Ossorio E., Chueca-Garcia N., Fernández-Morales P., Morón-Romero R., Colmenero M. Effect of the implementation of a selective digestive decontamination protocol in an intensive care unit. *Crit Care Res Pract.* 2025;2025:8921847. DOI: 10.2478/jccm-2025-0025
12. Wittekamp B.H.J., Oostdijk E.A.N., de Smet A.M.G.A., Bonten M.J.M. Colistin and tobramycin resistance during long-term use of selective decontamination strategies in the intensive care unit: a post hoc analysis. *Crit Care.* 2015;19(1):275. DOI: 10.1186/s13054-015-0838-4
13. 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
14. Martinez-Perez M., Fernández-Fernandez R., Moron R., Nieto-Sánchez M.T., Yuste M.E., Díaz-Villamarín X., et al. Selective digestive decontamination: a comprehensive approach to reducing nosocomial infections and antimicrobial resistance in the ICU. *J Clin Med.* 2024;13(21):6482. DOI: 10.3390/jcm13216482
15. Tacconelli E., Mazzaferri F., de Smet A.M., Bragantini D., Eggimann P., Huttner B.D., et al. ESCMID-EUCLIC clinical guidelines on decolonization of multidrug-resistant Gram-negative bacteria carriers. *Clin Microbiol Infect.* 2019;25(7):807-817. DOI: 10.1016/j.cmi.2019.01.005
16. Knudsen M.J.S., Rubin I.M.C., Petersen A.M. The effect of antibiotics on the eradication of multidrug-resistant organisms in intestinal carriers – a systematic review with meta-analysis. *Antibiotics.* 2024;13(8):747. DOI: 10.3390/antibiotics13080747
17. Weirauch T., Yahav D., Zahavi I., Wurtstle S., Vehreschild M.J.G.T. A review on antibiotic and non-antibiotic decolonization strategies of multidrug-resistant bacteria in the gastrointestinal tract. *Infection.* 2026. DOI: 10.1007/s15010-025-02718-2
18. Wale Y.M., Roberts J.A., Sime F.B. Dynamic *in vitro* PK/PD infection models for the development and optimization of antimicrobial regimens: a narrative review. *Antibiotics (Basel).* 2024;13(12):1170. DOI: 10.3390/antibiotics13121201
19. Vaddady P.K., Lee R.E., Meibohm B. *In vitro* pharmacokinetic/pharmacodynamic models in anti-infective drug development: focus on TB. *Future Med Chem.* 2010;2(8):1355-1369. DOI: 10.4155/fmc.10.224
20. Onufrak N.J., Forrest A., Gonzalez D. Pharmacokinetic and pharmacodynamic principles of anti-infective dosing. *Clin Ther.* 2016;38(9):1930-1947. DOI: 10.1016/j.clinthera.2016.06.015
21. 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(Suppl. 3):1-19. DOI: 10.1080/1120009x.2004.11782371
22. 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
23. 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
24. Mondal A.H., Khare K., Saxena P., Debnath P., Mukhopadhyay K., Yadav D. A review on colistin resistance: an antibiotic of last resort. Microorganisms. 2024;12(4):772. DOI: 10.3390/microorganisms12040772
 25. Goel A., Rahim U., Nguyen L.H., Stave C., Nguyen M.H. Systematic review with meta-analysis: rifaximin for the prophylaxis of spontaneous bacterial peritonitis. Aliment Pharmacol Ther. 2017;46(11-12):1029-1036. DOI: 10.1111/apt.14361
 26. Praharaj D.L., Premkumar M., Roy A., Verma N., Taneja S., Duseja A., et al. Rifaximin vs. norfloxacin for spontaneous bacterial peritonitis prophylaxis: a randomized controlled trial. J Clin Exp Hepatol. 2022;12(2):336-342. DOI: 10.1016/j.jceh.2021.08.010
 27. Sidhu G.S., Go A., Attar B.M., Mutneja H.R., Arora S., Patel S.A. Rifaximin versus norfloxacin for prevention of spontaneous bacterial peritonitis: a systematic review. BMJ Open Gastroenterol. 2017;4(1):e000154. DOI: 10.1136/bmjgast-2017-000154
 28. Nordqvist H., Nilsson L.E., 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
 29. Tascini C., Tagliaferri E., Giani T., Leonildi A., Flammini S., Casini B., et al. Synergistic activity of colistin plus rifampin against colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*. Antimicrob Agents Chemother. 2013;57(8):3990-3993. DOI: 10.1128/AAC.00179-13
 30. Lenhard J.R., Nation R.L., Tsuji B.T. Synergistic combinations of polymyxins. Int J Antimicrob Agents. 2016;48(6):607-613. DOI: 10.1016/j.ijantimicag.2016.09.014
 31. Zhu W., Zhang X., Wang D., Yao Q., Ma G.L., Fan X. Simulator of the Human Intestinal Microbial Ecosystem (SHIME): current developments, applications, and future prospects. Pharmaceuticals. 2024;17(12):1639. DOI: 10.3390/ph17121639
 32. Gumbo T., Louie A., Liu W., Brown D., Ambrose P.G., Bhavnani S.M., et al. Isoniazid bactericidal activity and resistance emergence: integrating pharmacodynamics and pharmacogenomics to predict efficacy in different ethnic populations. Antimicrob Agents Chemother. 2007;51(8):2329-2336. DOI: 10.1128/AAC.00185-07
 33. Peloquin C.A., Jaresko G.S., Yong C.L., Keung A.C., Bulpitt A.E., Jelliffe R.W. Population pharmacokinetic modeling of isoniazid, rifampin, and pyrazinamide. Antimicrob Agents Chemother. 1997;41(12):2670-2679. DOI: 10.1128/AAC.41.12.2670
 34. Dahlgren D., Lennernas H. Intestinal permeability and drug absorption: predictive experimental, computational and *in vivo* approaches. Pharmaceutics. 2019;11(8):411. DOI: 10.3390/pharmaceutics11080411
 35. Sorbara L.A., Pamer E.G. Microbiome-based therapeutics. Nat Rev Microbiol. 2022;20(6):365-380. DOI: 10.1038/s41579-021-00667-9
 36. de Jonge E., de Wilde R.B.P., Juffermans N.P., Oostdijk E.A.N., Bernards A.T., van Essen E.H.R., et al. Carriage of antibiotic-resistant Gram-negative bacteria after discontinuation of selective decontamination of the digestive tract (SDD) or selective oropharyngeal decontamination (SOD). Crit Care. 2018;22(1):243. DOI: 10.1186/s13054-018-2170-2