Антибиотикорезистентность *Klebsiella pneumoniae* на фоне пандемии COVID-19: опыт многопрофильного стационара

Тапальский Д.В.¹,
Карпова Е.В.¹,
Акуленок О.М.²,
Окулич В.К.³,
Генералов И.И.³,
Лескова Н.Ю.³,
Антонова Е.Г.³,
Жильцов И.В.³,
Осипкина О.В.¹,
Можаровская Л.В.⁴,
Баранов О.Ю.⁴

¹ Учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет», 246000, г. Гомель, Республика Беларусь

² Учреждение здравоохранения «Витебская областная клиническая больница», 210037, г. Витебск, Республика Беларусь

³ Учреждение образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», 210009, г. Витебск, Республика Беларусь

⁴ Государственное научное учреждение «Институт леса Национальной академии наук Беларуси», 246050, г. Гомель, Республика Беларусь

Частота бактериальных коинфекций среди пациентов с COVID-19 невелика, поэтому избыточное назначение антибиотиков может способствовать селекции резистентных штаммов энтеробактерий и грамотрицательных неферментирующих бактерий.

Цель исследования – оценка локальных особенностей и генетических механизмов антибиотикорезистентности *K. pneumoniae* на фоне пандемии инфекции COVID-19.

Материал и методы. Отобрано 37 устойчивых к карбапенемам штаммов *K. pneumoniae*, выделенных в 2016, 2017 и 2020 гг. от госпитализированных пациентов, в том числе 15 штаммов, выделенных от пациентов с COVID-19. Методом микроразведений в бульоне определены минимальные подавляющие концентрации (МПК) меропенема и колистина. Определение МПК эравациклина, цефидерокола, цефтазидима/авибактама, меропенема/ваборбактама, имипенема/релебактама выполнено с использованием диагностической системы Sensititre на планшетах EUMDROXF. Чувствительность к 11 комбинациям из 2 разных антибиотиков определена модифицированным методом тестирования бактерицидности различных комбинаций. Для 4 штаммов *K. pneumoniae* выполнено высокопроизводительное секвенирование с последующим поиском детерминант антибиотикорезистентности и вирулентности, а также с оценкой плазмидных профилей.

Результаты. Все штаммы были устойчивы к меропенему (МПК₅₀ 32 мг/л, МПК₉₀ 128 мг/л) и продуцировали карбапенемазы KPC и OXA-48. Штаммы, выделенные в 2016–2017 гг., были чувствительны к колистину (МПК ≤2 мг/л), в 2020 г. сохраняли чувствительность только 26,7% штаммов (МПК₅₀ 64 мг/л, МПК₉₀ 256 мг/л). Чувствительность к комбинациям из 2 антибиотиков с включением колистина сократилась с 84,6–100% в 2016–2017 гг. до 26,7–66,7% в 2020 г. Выделенные в 2020 г. штаммы сохраняли чувствительность к цефтазидиму/авибактаму (МПК ≤1 мг/л). Выявлено 5 штаммов, устойчивых к цефидероколу с МПК 8 мг/л. Штаммы 2564 и 3125, выделенные в 2020 г. из мокроты пациентов с инфекцией COVID-19, относились к различным сиквенс-типам (ST512 и ST23) и содержали ген карбапенемазы *bla* OXA-48, штамм 2564 дополнительно содержал ген карбапенемазы *bla* KPC-27. Устойчивость к колистину была вызвана инактивацией генов *mcrB* за счет инсерций IS1- и IS5-подобных транспозонов.

Заключение. Выполненные генетические исследования демонстрируют многообразие механизмов антибиотикорезистентности у *K. pneumoniae*, приводящих к формированию устойчивости в том числе к антибиотикам, до настоящего времени не использовавшимся в Республике Беларусь.

Ключевые слова:

Klebsiella pneumoniae, антибиотикорезистентность, карбапенемазы, колистин, цефидерокол, инфекция COVID-19

Финансирование. Исследование проведено в рамках задания «Изучение биологических и молекулярно-генетических механизмов формирования устойчивости к полимиксинам у экстремально-антибиотикорезистентных грамотрицательных бактерий и обоснование комбинированной антибиотикотерапии вызываемых ими инфекций» ГПНИ «Фундаментальные и прикладные науки – медицине», 2016–2020 гг.

Конфликт интересов. Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. Идея и концептуальное решение – Тапальский Д.В.; дизайн исследования – Тапальский Д.В., Генералов И.И.; сбор и обработка материала – Акуленок О.М., Окулич В.К., Лескова Н.Ю., Антонова Е.Г.; выполнение микробиологических исследований – Карпова Е.В., Тапальский Д.В., Акуленок О.М.; выполнение молекулярно-генетических исследований – Карпова Е.В., Осипкина О.В., Можаровская Л.В., Баранов О.Ю.; оформление и редактирование текста – Тапальский Д.В., Генералов И.И., Жильцов И.В.

Благодарности. Авторы благодарят ОДО «ХимХром» (Минск) за предоставленные для исследований диагностические системы Sensititre.

Для цитирования: Тапальский Д.В., Карпова Е.В., Акуленок О.М., Окулич В.К., Генералов И.И., Лескова Н.Ю., Антонова Е.Г., Жильцов И.В., Осипкина О.В., Можаровская Л.В., Баранов О.Ю. Антибиотикорезистентность *Klebsiella pneumoniae* на фоне пандемии COVID-19: опыт многопрофильного стационара // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. 2021. Т. 10, № 3. С. 15–22. DOI: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-3-15-22>

Статья поступила в редакцию 07.04.2021. Принята в печать 11.06.2021.

Antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* against the background of the COVID-19 pandemic: experience of the multidisciplinary hospital

Tapalski D.V.¹, Karpova E.V.¹,
Akulenok O.M.², Okulich V.K.³,
Generalov I.I.³, Leskova N.Yu.³,
Antonova E.G.³, Zhiltsov I.V.³,
Osipkina O.V.¹, Mozharovskaya L.V.⁴,
Baranov O.Yu.⁴

¹ Gomel State Medical University, 246000, Gomel, Republic of Belarus

² Vitebsk Regional Clinical Hospital, 210037, Vitebsk, Republic of Belarus

³ Vitebsk State Medical University, 210009, Vitebsk, Republic of Belarus

⁴ Institute of Forest, National Academy of Sciences of Belarus, 246050, Gomel, Republic of Belarus

Frequency of bacterial co-infections among patients with COVID-19 is not high, and over-prescribing of antibiotics may contribute the selection of resistant strains of enterobacteria and gram-negative non-fermenting bacteria.

The aim of the study was to assess the local features of antibiotic resistance of *K. pneumoniae* and its genetic mechanisms against background of the COVID-19 infection pandemic.

Material and methods. There was selected 37 carbapenem-resistant *K. pneumoniae* strains isolated in 2016, 2017 and 2020 from hospitalized patients, including 15 strains, isolated from patients with COVID-19 infection. Minimal inhibitory concentrations (MICs) of meropenem and colistin were determined by broth microdilution method. Determination of MICs of eravacycline, ceftazidime/avibactam, meropenem/vaborbactam, imipenem/relebactam was performed using Sensititre diagnostic system on EUMDROXF plates. Susceptibility to 11 combinations of 2 antibiotics was detected by modified method of multiply combination bactericidal testing. For 4 *K. pneumoniae* strains high-throughput sequencing was performed, followed with the subsequent search for determinants of antibiotic resistance and virulence, assessment of plasmid profiles.

Results. All strains were resistant to meropenem (MIC₅₀ 32 mg/L, MIC₉₀ 128 mg/L) and produced KPC and OXA-48 carbapenemases. Strains isolated in 2016–2017 were susceptible to colistin (MIC ≤ 2 mg/L), in 2020 only 26.7% of the strains retained their susceptibility (MIC₅₀ 64 mg/L, MIC₉₀ 256 mg/L). Susceptibility to combinations of two antibiotics with colistin included reduced from 84.6–100% in 2016–2017 till 26.6–66.7% in 2020. The strains isolated in 2020 retained their susceptibility to ceftazidime/avibactam (MIC ≤ 1 mg/L). 5 strains resistant to cefiderocol with a MIC 8 mg/L were identified. Strains 2564 and 3125 isolated in 2020 from sputum of patients with COVID-19 infection belonged to different sequence-types (ST12 and ST23) and contained the blaOXA-48 carbapenemase gene, additionally strain 2564 contained the blaKPC-27 carbapenemase gene. Resistance to colistin was caused by inactivation of the mgrB genes due to insertion of IS1 and IS5-like transposons.

Conclusion. The performed genetic studies demonstrate a diversity of mechanisms of antibiotic resistance in *K. pneumoniae* leading to the formation of resistance including to antibiotics that haven't been used in Belarus till now.

Funding. The study was performed as part of the task «Study of biological and molecular-genetic mechanisms of the formation of resistance to polymyxins in extensively drug resistant gram-negative bacteria and the rationale for combined antibiotic therapy of infections caused by them» SPSR «Fundamental and applied sciences for medicine», 2016–2020.

Keywords:

Klebsiella pneumoniae, antibiotic resistance, carbapenemases, colistin, cefiderocol, COVID-19 infection

Conflicts of interest. The authors declare no conflicts of interest.

Contribution. Idea and concept solution – Tapalski D.V.; design – Tapalski D.V., Generalov I.I.; the collection and processing of the material – Akulenok O.M., Okulich V.K., Leskova N.Yu., Antonova E.G.; performing microbiological studies – Karpova E.V., Tapalski D.V., Akulenok O.M.; performing molecular genetic studies – Karpova E.V., Osipkina O.V., Mozharovskaya L.V., Baranov O.Yu.; text design and editing – Tapalski D.V., Generalov I.I., Zhiltsov I.V.

Acknowledgments. The authors are grateful to KhimKhrom ALC, Minsk, for the Sensititer diagnostic systems provided for research.

For citation: Tapalski D.V., Karpova E.V., Akulenok O.M., Okulich V.K., Generalov I.I., Leskova N.Yu., Antonova E.G., Zhiltsov I.V., Osipkina O.V., Mozharovskaya L.V., Baranov O.Yu. Antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* against the background of the COVID-19 pandemic: experience of the multidisciplinary hospital. *Infektsionnye bolezni: novosti, mneniya, obuchenie* [Infectious Diseases: News, Opinions, Training]. 2021; 10 (3): 15–22. DOI: <https://doi.org/10.33029/2305-3496-2021-10-3-15-22> (in Russian)

Received 07.04.2021. **Accepted** 11.06.2021.

Пандемия, вызванная коронавирусом SARS-CoV-2, оказывает огромную нагрузку на системы здравоохранения во всем мире. Внимание общества к исходящей от нового инфекционного заболевания угрозе привело к осознанию важности гигиены рук и широкого использования средств индивидуальной защиты, что может ограничить распространение антибиотикорезистентных возбудителей инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи (ИСМП) [1]. Значительное сокращение госпитализаций по поводу патологий, не связанных с инфекцией COVID-19, и снижение количества выполняемых хирургических вмешательств и инвазивных манипуляций во время пандемии могут способствовать сокращению количества бактериальных ИСМП [2]. Вместе с тем тяжелобольные пациенты с вирусными инфекциями подвержены повышенному риску развития вторичных бактериальных инфекций, которые требуют назначения антибактериальной терапии, а при неблагоприятных условиях могут привести к летальному исходу [3]. Частота бактериальных коинфекций среди пациентов с COVID-19 составляет 14% в отделениях интенсивной терапии (95% доверительный интервал 5–26) и только 4% в отделениях иных типов (95% доверительный интервал 1–9%). *Klebsiella pneumoniae* является значимым возбудителем ИСМП и выделяется при бактериальных коинфекциях на фоне COVID-19 в 9–16% случаев [4]. Избыточное назначение антибиотиков может способствовать селекции карбапенем-резистентных штаммов *K. pneumoniae* и колонизации ими госпитализированных пациентов [5, 6].

Цель исследования – оценка локальных особенностей и генетических механизмов антибиотикорезистентности *K. pneumoniae* на фоне пандемии COVID-19.

Материал и методы

В микробиологической лаборатории УЗ «Витебская областная клиническая больница» в феврале-апреле 2016 г., октябре-декабре 2017 г. и в апреле-мае 2020 г. при проведении рутинных микробиологических исследований выполняли последовательный отбор всех штаммов *K. pneumoniae* с множественной и экстремальной устойчивостью к антибиотикам. Отобранные штаммы *K. pneumoniae* были выделены в диагностически значимых количествах от пациентов отделения анестезиологии и реаниматологии и других отделений больницы. Дополнительный критерий включения – устойчивость выделенных штаммов *K. pneumoniae*

к карбапенемам. В исследование взяты 37 штаммов (2016 г. – 12, 2017 г. – 10, 2020 г. – 15). Все штаммы, отобранные в 2020 г. (15), были выделены из мокроты или из крови пациентов с COVID-19. Первичная идентификация штаммов выполнена на бактериологическом анализаторе ATB Expression (bioMérieux, Франция) с помощью набора для идентификации грамотрицательных палочек ID 32 E. Реидентификация и определение чувствительности к 17 антибактериальным препаратам (ампициллину/сульбактаму, пиперациллину, цефуроксиму, цефуроксим аксетилу, цефиксиму, цефтриаксону, цефепиму, азтреонаму, меропенему, левофлоксацину, моксифлоксацину, миноциклину, тетрациклину, тигециклину, хлорамфениколу, колистину, триметоприму) выполнены на анализаторе VITEK 2 Compact (bioMérieux, Франция) с использованием диагностических карт VITEK 2 GN и AST-XN-05 в соответствии с инструкциями производителя.

Чувствительность к меропенему и колистину дополнительно определена методом микроразведений в бульоне в соответствии с ISO 20776-1:2006 [7]. Категории чувствительности изолятов к антибиотикам (R, I и S) определяли на основании пограничных значений минимальных подавляющих концентраций (МПК), установленных Европейским комитетом по определению чувствительности к антимикробным лекарственным средствам EUCAST [8]. Качество исследований контролировали штаммами *Escherichia coli* ATCC 25922 и *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853. После реидентификации и определения чувствительности к антибиотикам штаммы помещали в рабочую коллекцию и хранили в бульоне с сердечно-мозговой вытяжкой и 30% глицерина при -62 °С.

Определение чувствительности к 11 комбинациям из 2 антибиотиков выполнено модифицированным методом тестирования бактерицидности различных комбинаций (Multiple combination bactericidal testing, MCBT) [9, 10]. В составе комбинаций тестировали антибиотики, взятые в их фармакокинетических/фармакодинамических (ФК/ФД) концентрациях: меропенем (8 мг/л), амикацин (16 мг/л), левофлоксацин (1 мг/л), фосфомицин (32 мг/л), тигециклин (0,5 мг/л), колистин (2 мг/л). Обнаружение генов сериновых карбапенемаз *KPC* и *OXA-48*, а также металло-β-лактамаз *NDM*, *VIM* и *IMP* выполняли методом полимеразной цепной реакции в реальном времени с использованием диагностических наборов «АмплиСенс MDR KPC/OXA-48-FL» и «АмплиСенс MDR MBL-FL» (ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия).

Рис. 1. Минимальные подавляющие концентрации (МПК) колистин-штаммов *K. pneumoniae*, выделенных в 2016–2017 и 2020 гг.

Для 8 колистин-резистентных карбапенемаза-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae*, выделенных в 2020 г. от пациентов с COVID-19, выполнено определение МПК новых антибиотиков: эравациклина, цефидерокола и ингибитор-защищенных β -лактамов (цефтазидим/авибактам, меропенем/ваборбактам, имипенем/релебактам). Исследование проведено методом последовательных микроразведений в бульоне Мюллера–Хинтона (Oxoid, Великобритания) с использованием диагностической системы Sensititre (Thermo Fisher Scientific, США) на планшетах EUMDROXF в соответствии с инструкцией производителя.

Для 4 штаммов *K. pneumoniae* выполнено высокопроизводительное секвенирование (NGS). Препараты суммарной ДНК *K. pneumoniae* получали из чистых культур бактерий на основе СТАВ-протокола с использованием коммерческого набора Genomic DNA Purification Kit (Thermo Fisher Scientific, США). Высокопроизводительное секвенирование выполняли с использованием секвенатора Ion PGM System (Thermo Fisher Scientific, США). Первоначальную обработку данных,

Рис. 2. Чувствительность штаммов *K. pneumoniae*, выделенных в 2016–2017 и 2020 гг., к комбинациям из двух антибиотиков

MER – меропенем; AMK – амикацин; LEV – левофлоксацин; FOS – фосфомидин; TIG – тигециклин; КОЛ – колистин.

поступающих от геномного анализатора, осуществляли в автоматическом режиме при помощи программного обеспечения Ion Torrent Suite v. 4.1 (Thermo Fisher Scientific, США). Окончательную обработку информации, включая сборку и аннотацию последовательностей, выполняли с помощью программного пакета Unipro UGENE v. 1.29.0. Определение молекулярно-генетических характеристик штаммов, включая типирование на основе мультилокусных последовательностей, наличие детерминант резистентности и вирулентности, плазмидный профиль проводили с использованием специализированных баз данных и онлайн-сервисов, находящихся в открытом доступе (<http://bigsdbs.pasteur.fr/klebsiella>, <https://cge.cbs.dtu.dk/services/>, <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/>, <https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>).

Результаты

Все штаммы имели устойчивость к меропенему (МПК₅₀ 32 мг/л, МПК₉₀ 128 мг/л), связанную с продукцией карбапенемаз. Выделенные в 2016 г. штаммы были продуцентами карбапенемазы KPC. Среди штаммов, выделенных в 2017 г., преобладали продуценты карбапенемазы OXA-48 (8 из 10 штаммов), 2 штамма продуцировали карбапенемазу KPC. Все выделенные в 2020 г. штаммы были продуцентами OXA-48, при этом у 1 штамма (*K. pneumoniae* 2564) выявлена копродукция ферментов OXA-48 и KPC. Штаммы, выделенные в 2016–2017 гг., были чувствительны к колистину (МПК ≤ 2 мг/л), в 2020 г. отмечен значительный рост резистентности (только 26,7% чувствительных к колистину штаммов, МПК₅₀ 64 мг/л, МПК₉₀ 256 мг/л, рис. 1). Также отмечено значительное сокращение чувствительности к комбинациям из 2 антибиотиков, в том числе к комбинациям с включением колистина (меропенем-колистин и левофлоксацин-колистин с 84,6 до 26,7%, амикацин-колистин со 100 до 26,7%, тигециклин-колистин с 95,5 до 66,7%, рис. 2).

Результаты определения чувствительности к тигециклину и новым антибиотикам колистин-резистентных карбапенемаза-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae*, выделенных в 2020 г. от пациентов с COVID-19, представлены на рис. 3. Все штаммы сохраняли чувствительность к цефтазидиму/авибактаму (МПК ≤ 1 мг/л), 7 (87,5%) из 8 штаммов были чувствительны к тигециклину (МПК $\leq 0,5$ мг/л). Выявлено 5 штаммов *K. pneumoniae*, устойчивых к цефидероколу с МПК 8 мг/л. В соответствии с интерпретационными критериями EUCAST пограничным значением МПК цефидерокола является 2 мг/л [8]. Устойчивость к эравациклину выявлена у 2 из 8 штаммов (МПК ≥ 1 мг/л).

Чувствительные к колистину штаммы *K. pneumoniae* 420 и 9068, выделенные в 2016 и 2017 гг., относились к одному сиквенс-типу (ST395) и имели сходные наборы плазмид и факторов вирулентности, что может свидетельствовать об их клональном происхождении (см. таблицу). Оба штамма содержали гены карбапенемазы *blaKPC-2*. Штаммы *K. pneumoniae* 420 и 9068 были выделены с интервалом в 1 год и 8 мес от пациентов, госпитализированных в различные отделения (анестезиологии и реанимации, хирургическое).

Колистин-резистентные штаммы *K. pneumoniae* 2564 и 3125, выделенные в 2020 г. из мокроты пациентов с COVID-19, относились к различным сиквенс-типам (ST512 и ST23). Оба штамма содержали ген карбапенемазы *blaOXA-48*, штамм 2564 дополнительно содержал ген карбапенемазы *blaKPC-27*. Устойчивость к колистину может быть связана с инактивацией генов *mgrB* за счет инсерций IS1- и IS5-подобных транспозонов. Гены плазмидно-опосредованных фосфоэтаноламинотрансфераз *mcr* у обоих штаммов отсутствовали. Принадлежность *K. pneumoniae* к ST23 часто ассоциируется с гипермукоидным фенотипом, высокой инвазивностью и повышенной патогенностью для человека [11]. Штамм *K. pneumoniae* 3125 ST23 имел классический (не гипермукоидный) фенотип. В его геноме не обнаружили типичные для гипервирулентных клебсиелл гены *rmpA*, *kfu*, *allS*, *iucA*, *tagA* и большую плазмиду вирулентности pLVK [12]. Штаммы *K. pneumoniae* 2564 и 3125 были выделены с интервалом в 20 дней от пациентов, госпи-

Рис. 3. Чувствительность к тигециклину и новым антибиотикам колистин-резистентных карбапенемаза-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae*, выделенных от пациентов с COVID-19

Сиквенс-типы и плазмидные профили, генетические детерминанты антибиотикорезистентности и вирулентности штаммов *K. pneumoniae*

Образец, №	Дата выделения	Диагноз/ биологический материал	МПК* меропенема	МПК колистина	Сиквенс-тип	Плазмиды	β-Лактамазы	Мутации устойчивости к полимиксинам	Детерминанты вирулентности
420	17.03.2016	Термический ожог/кровь	128	2	395	Col(IRGK) Col(pHAD28) Col440I IncFIB(pQil) IncFII(K) IncFII(pKP91) IncN IncR	<i>blaCTX-M-139</i> <i>blaKPC-2</i> <i>blaLEN-7</i> <i>blaOXA-9</i> <i>blaTEM-81</i>	Нет	<i>cvaC</i> <i>fyuA</i> <i>traT</i>
9068	23.11.2017	Панкреатит/отделяемое раны	64	1	395	Col(IRGK) IncFIB(pQil) IncFII(K) IncR	<i>blaKPC-2</i> <i>blaOXA-9</i> <i>blaTEM-33</i>	Нет	<i>cvaC</i> <i>fyuA</i> <i>irp2</i> <i>iutA</i> <i>traT</i>
2564	15.04.2020	Пневмония, инфекция COVID-19/мокрота	128	64	512	ColRNAI ColpVC IncFIB(K) IncFIB IncHI1B IncX3	<i>blaKPC-27</i> <i>blaOXA-48</i> <i>blaSHV-182</i> <i>blaSHV-11</i>	<i>mgrB</i> : инсерция транспозона семейства IS1	<i>ccl</i> <i>cea</i> <i>iucC</i> <i>iutA</i> <i>terC</i> <i>traT</i>
3125	05.05.2020	Пневмония, инфекция COVID-19/мокрота	16	64	23	Col(pHAD28) ColpVC IncFIB(K)(pCAV1099-114) IncFIB(pQil) IncFII(K) IncL repB	<i>blaOXA-48</i> <i>blaSHV-1</i> <i>blaCTX-M-15</i>	<i>mgrB</i> : инсерция транспозона семейства IS5	<i>fyuA</i> <i>iroN</i> <i>irp2</i> <i>iucC</i> <i>iutA</i> <i>terC</i> <i>traT</i>

* МПК – минимальные подавляющие концентрации.

тализированных в одном отделении (эндокринологическое отделение, перепрофилированное в инфекционное), соответственно на 28-е и 8-е сутки от начала госпитализации.

Обсуждение

Согласно данным систем наблюдения за антибиотикорезистентностью CAESAR и EARS-Net, уровни устойчивости инвазивных штаммов *K. pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* к карбапенемам в Республике Беларусь являются наибольшими среди всех входящих в программы мониторинга стран Европы и Центральной Азии. В 2018 г. 76% выделенных из крови и спинномозговой жидкости госпитализированных больных штаммов *K. pneumoniae*, 94% штаммов *A. baumannii* и 68% штаммов *P. aeruginosa* были устойчивы к меропенему и/или имипенему [13, 14].

Распространение устойчивых к карбапенемам штаммов привело к росту назначения полимиксинов, до настоящего времени остающихся препаратами «последнего резерва» [15]. Показано, что использование колистина является независимым фактором риска возникновения резистентности к нему у грамотрицательных бактерий в клинических условиях [16]. Установленное в проведенном исследовании распространение колистин-резистентных карбапенемаза-продуцирующих штаммов может значительно осложнить выбор средств этиотропной терапии в будущем.

Сформированная у *K. pneumoniae* резистентность к колистину с МПК антибиотика, значительно превышающими его клинически достижимые концентрации, не преодолевалась *in vitro* при добавлении ФК/ФД концентраций меропенема, амикацина, фосфомицина, левофлоксацина. Из новых антибиотиков только цефтазидим/авибактам демонстрировал хорошую эффективность, поскольку все включенные в исследование штаммы являлись продуцентами сериновых карбапенемаз. Выявленная устойчивость к ингибитор-защищенным карбапенемам (меропенем/ваборбактам, имипенем/релебактам), очевидно, также связана с типом продуцируемых карбапенемаз – указанные антибиотики эффективны главным образом в отношении КРС-продуцирующих штаммов [17, 18]. Особого внимания заслуживает выявление у пациентов с COVID-19 штаммов *K. pneumoniae*, устойчивых к цефидероколу. Уникальная структура молекулы и механизм транспортировки цефидерокола в клетку (является сидерофором, обеспечивающим транспорт железа) делают его устойчивым к гидролизу карбапенемазами [19]. Цефидерокол – наиболее активный в отношении карбапене-

маза-продуцирующих штаммов *K. pneumoniae* антибиотик [20], ранее его не использовали в Республике Беларусь.

Все устойчивые к цефидероколу штаммы, включая *K. pneumoniae* 3125 (ST23), были выделены в апреле-мае 2020 г. от пациентов с COVID-19, госпитализированных в отделение анестезиологии и реанимации и в перепрофилированное эндокринологическое отделение. Штамм *K. pneumoniae* 2564 (ST512) был чувствительным к цефидероколу (МПК 0,25 мг/л). До настоящего времени не описаны молекулярные механизмы устойчивости грамотрицательных бактерий к цефидероколу [21], требуется проведение дальнейшего биоинформатического анализа для расшифровки механизма выявленной устойчивости.

Обнаруженная у штамма *K. pneumoniae* 2564 копродукция 2 сериновых карбапенемаз OXA-48 и KPC является крайне редким явлением и, по данным ресурса AMR Map [22], ранее не встречалась в Беларуси и России.

В представленном L. Lansbury и соавт. метаанализе, объединившем 30 исследований с участием 3834 пациентов с COVID-19, частота бактериальных коинфекций среди пациентов составила всего 7% [4]. В метаанализе T.M. Rawson и соавт. проанализировано 18 исследований с участием 1621 пациента, развитие бактериальных коинфекций отмечено у 62 (8%) из 806 пациентов с COVID-19 и у 89 (11%) из 815 пациентов с другими коронавирусными инфекциями. При этом антимикробную терапию получали 72% пациентов [23].

Таким образом, штаммы *K. pneumoniae*, выделенные от пациентов с COVID-19, характеризовались множественной и экстремальной устойчивостью к антибиотикам, в том числе устойчивостью высокого уровня к колистину, связанной с инаktivацией регуляторного гена *mgrB*, а также устойчивостью к комбинациям антибиотиков. Дальнейшее распространение подобных штаммов в госпитальной среде может значительно затруднить проведение этиотропной терапии. На фоне распространяющейся антибиотикорезистентности основных возбудителей ИСМП необоснованно широкое использование антибиотиков у пациентов с COVID-19 может стать важным фактором дополнительной селекции штаммов с экстремальной и полной устойчивостью. Выполненные генетические исследования демонстрируют многообразие механизмов антибиотикорезистентности и их уникальные сочетания у отдельных штаммов *K. pneumoniae*, приводящих к формированию устойчивости высокого уровня как к широко используемым антибиотикам, так и к препаратам резерва, в том числе к антибиотикам, до настоящего времени недоступным в Беларуси.

СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ

Тапальский Дмитрий Викторович (Dmitry V. Tapalski) – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой микробиологии, вирусологии и иммунологии УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Республика Беларусь
E-mail: tapalskiy@gsmu.by

<https://orcid.org/0000-0002-9484-7848>

Карпова Елена Васильевна (Elena V. Karpova) – ассистент кафедры нормальной и патологической физиологии УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Республика Беларусь

E-mail: Lena_2007_23@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-3952-6187>

Акуленок Ольга Михайловна (Olga M. Akulenok) – врач лабораторной диагностики бактериологического отдела клинико-диагностической лаборатории УЗ «Витебская областная клиническая больница», Витебск, Республика Беларусь

E-mail: lelyaflower@gmail.com

<https://orcid.org/0000-0001-8536-4847>

Окулич Виталий Константинович (Vitaly K. Okulich) – кандидат медицинских наук, доцент, доцент кафедры клинической микробиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Республика Беларусь

E-mail: vokul@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-8226-6405>

Генералов Игорь Иванович (Igor I. Generalov) – доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической микробиологии УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Республика Беларусь

E-mail: g2@tut.by

<https://orcid.org/0000-0001-7950-7477>

Лескова Наталья Юрьевна (Natalia Yu. Leskova) – преподаватель кафедры общей и клинической фармакологии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Республика Беларусь

E-mail: natascha.lesckova@yandex.ru

<https://orcid.org/0000-0002-6935-4988>

Антонова Елена Геннадьевна (Elena G. Antonova) – старший преподаватель кафедры общей и клинической фармакологии с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Республика Беларусь

E-mail: alena.antonova75@yandex.by

<https://orcid.org/0000-0002-1293-7023>

Жильцов Иван Викторович (Ivan V. Zhiltsov) – доктор медицинских наук, доцент, заведующий кафедрой персонализированной и доказательной медицины с курсом ФПК и ПК УО «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет», Витебск, Республика Беларусь

E-mail: zhylytsou@tut.by

<https://orcid.org/0000-0002-4912-2880>

Осипкина Ольга Викторовна (Olga V. Osipkina) – заведующий научно-исследовательской лабораторией УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Республика Беларусь

E-mail: olga.osipkina@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-1931-4224>

Можаровская Людмила Валентиновна (Ludmila V. Mozharovskaya) – научный сотрудник лаборатории геномных исследований и биоинформатики ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», Гомель, Республика Беларусь

E-mail: milamozh@yandex.by

<https://orcid.org/0000-0001-9106-1877>

Баранов Олег Юрьевич (Oleg Yu. Baranov) – доктор биологических наук, доцент, заведующий лабораторией геномных исследований и биоинформатики ГНУ «Институт леса НАН Беларуси», Гомель, Республика Беларусь

E-mail: betula-belarus@mail.ru

<https://orcid.org/0000-0002-0665-0093>

ЛИТЕРАТУРА

1. Nieuwlaat R., Mbuagbaw L., Mertz D. et al. COVID-19 and antimicrobial resistance: parallel and interacting health emergencies // Clin. Infect. Dis. 2021. Vol. 72, N 9. P. 1657–1659. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa773>
2. Monnet D., Harbarth S. Will coronavirus disease (COVID-19) have an impact on antimicrobial resistance? // Euro Surveill. 2020. Vol. 25, N 45. Article ID 2001886. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.45.2001886>
3. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G. et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study // Lancet. 2020. Vol. 395, N 10 229. P. 1054–1062. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30566-3)
4. Lansbury L., Lim B., Baskaran V., Lim W. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. // J. Infect. 2020. Vol. 81, N 2. P. 266–275. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.05.046>
5. Yang P., Chen Y., Jiang S., Shen P. et al. Association between antibiotic consumption and the rate of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria from China based on 153 tertiary hospitals data in 2014 // Antimicrob. Resist. Infect. Control. 2018. Vol. 7. P. 137. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0430-1>
6. Ruiz J., Gordon M., Villarreal E. et al. Influence of antibiotic pressure on multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* colonisation in critically ill patients // Antimicrob. Resist. Infect. Control. 2019. Vol. 8. P. 38. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0484-8>
7. 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».
8. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 11.0. 2021. URL: www.eucast.org/clinical_breakpoints/ (date of access March 5, 2021)
9. Lang B., Aaron S., Ferris W., Hebert P., MacDonald N. Multiple combination bactericidal antibiotic testing for patients with cystic fibrosis infected with multiresistant strains of *Pseudomonas aeruginosa* // Am. J.

Respir. Crit. Care Med. 2000. Vol. 162, N 6. P. 2241–2245. DOI: <https://doi.org/10.1164/ajrccm.162.6.2005018>

10. Тапальский Д. В. Чувствительность к комбинациям антибиотиков продуцирующих карбапенемазы нозокомиальных штаммов грамотрицательных бактерий, выделенных в Беларуси // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. 2018. Т. 20, № 3. С. 182–191.

11. Marr C., Russo T. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: a new public health threat // Expert. Rev. Anti Infect. Ther. 2019. Vol. 17, N 2. P. 71–73. DOI: <https://doi.org/10.1080/14787210.2019.1555470>

12. Struve C, Roe C., Stegger M. et al. Mapping the evolution of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae* // mBio. 2015. Vol. 6, N 4. Article ID e00630. DOI: <https://doi.org/10.1128/MBIO.00630-15>

13. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Stockholm: ECDC, 2019.

14. Central Asian and Eastern European surveillance of antimicrobial resistance. Annual report 2019. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2019.

15. Li Z., Cao Y., Yi L. et al. Emergent polymyxin resistance: end of an era? // Open Forum Infect. Dis. 2019. Vol. 6, N 10. Article ID ofz368. DOI: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz368>

16. Ah Y., Kim A., Lee J. Colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae* // Int. J. Antimicrob. Agents. 2014. Vol. 44, N 1. P. 8–15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.02.016>

17. Smith J., Rybak J., Claeys K. Imipenem-cilastatin-relebactam: a novel β -lactam- β -lactamase inhibitor combination for the treatment of

multidrug-resistant Gram-negative infections // Pharmacotherapy. 2020. Vol. 40, N 4. P. 343–356. DOI: <https://doi.org/10.1002/phar.2378>

18. Petty L., Henig O., Patel T. et al. Overview of meropenem-vaborbactam and newer antimicrobial agents for the treatment of carbapenem-resistant Enterobacteriaceae // Infect. Drug. Resist. 2018. Vol. 11. P. 1461–1472. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S150447>

19. Sato T., Yamawaki K. Cefiderocol: discovery, chemistry, and in vivo profiles of a novel siderophore cephalosporin // Clin. Infect. Dis. 2019. Vol. 69, N 7. P. 538–543. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciz826>

20. Zhanel G., Golden A., Zelenitsky S. et al. Cefiderocol: a siderophore cephalosporin with activity against carbapenem-resistant and multidrug-resistant Gram-negative bacilli // Drugs. 2019. Vol. 79, N 3. P. 271–289. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40265-019-1055-2>

21. Kohira N., Hackel M., Ishioka Y. et al. Reduced susceptibility mechanism to cefiderocol, a siderophore cephalosporin, among clinical isolates from a global surveillance programme (SIDERO-WT-2014) // J. Glob. Antimicrob. Resist. 2020. Vol. 22, P. 738–774. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2020.07.009>

22. Kuzmenkov A., Trushin I., Vinogradova A. et al. AMRmap: an interactive web platform for analysis of antimicrobial resistance surveillance data in Russia // Front. Microbiol. 2021. Vol. 12. Article ID 620002. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.620002>

23. Rawson T., Moore L., Zhu N. et al. Bacterial and fungal coinfection in individuals with coronavirus: a rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing // Clin. Infect. Dis. 2020. Vol. 71, N 9. P. 2459–2468. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa530>

REFERENCES

1. Nieuwlaat R., Mbuagbaw L., Mertz D., et al. COVID-19 and antimicrobial resistance: parallel and interacting health emergencies. Clin Infect Dis. 2021; 72 (9): 1657–9. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa773>

2. Monnet D., Harbarth S. Will coronavirus disease (COVID-19) have an impact on antimicrobial resistance? Euro Surveill. 2020; 25 (45): 2001886. DOI: <https://doi.org/10.2807/1560-7917.ES.2020.25.45.2001886>

3. Zhou F., Yu T., Du R., Fan G., et al. Clinical course and risk factors for mortality of adult inpatients with COVID-19 in Wuhan, China: a retrospective cohort study. Lancet. 2020; 395 (10 229): 1054–62. DOI: [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(20\)30566-3](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(20)30566-3)

4. Lansbury L., Lim B., Baskaran V., Lim W. Co-infections in people with COVID-19: a systematic review and meta-analysis. J Infect. 2020; 81 (2): 266–75. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.jinf.2020.05.046>

5. Yang P., Chen Y., Jiang S., Shen P., et al. Association between antibiotic consumption and the rate of carbapenem-resistant Gram-negative bacteria from China based on 153 tertiary hospitals data in 2014. Antimicrob Resist Infect Control. 2018; 7: 137. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0430-1>

6. Ruiz J., Gordon M., Villarreal E., et al. Influence of antibiotic pressure on multi-drug resistant *Klebsiella pneumoniae* colonisation in critically ill patients. Antimicrob Resist Infect Control. 2019; 8: 38. DOI: <https://doi.org/10.1186/s13756-019-0484-8>

7. 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».

8. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 11.0. 2021. URL: www.eucast.org/clinical_breakpoints/ (date of access March 5, 2021)

9. Lang B., Aaron S., Ferris W., Hebert P., MacDonald N. Multiple combination bactericidal antibiotic testing for patients with cystic fibrosis infected with multidrug-resistant strains of *Pseudomonas aeruginosa*. Am J Respir Crit Care Med. 2000; 162 (6): 2241–5. DOI: <https://doi.org/10.1164/ajrccm.162.6.2005018>

10. Tapalski D.V. Susceptibility to antibiotic combinations among nosocomial carbapenemase-producing Gram-negative bacteria isolated in Belarus. Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya [Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy]. 2018; 20 (3): 182–91. (in Russian)

11. Marr C., Russo T. Hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*: a new public health threat. Expert Rev Anti Infect Ther. 2019; 17 (2): 71–3. DOI: <https://doi.org/10.1080/14787210.2019.1555470>

12. Struve C, Roe C., Stegger M., et al. Mapping the evolution of hypervirulent *Klebsiella pneumoniae*. mBio. 2015; 6 (4): e00630. DOI: <https://doi.org/10.1128/MBIO.00630-15>

13. European Centre for Disease Prevention and Control. Surveillance of antimicrobial resistance in Europe 2018. Stockholm: ECDC, 2019.

14. Central Asian and Eastern European surveillance of antimicrobial resistance. Annual report 2019. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe, 2019.

15. Li Z., Cao Y., Yi L., et al. Emergent polymyxin resistance: end of an era? Open Forum Infect Dis. 2019; 6 (10): ofz368. DOI: <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz368>

16. Ah Y., Kim A., Lee J. Colistin resistance in *Klebsiella pneumoniae*. Int J Antimicrob Agents. 2014; 44 (1): 8–15. DOI: <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2014.02.016>

17. Smith J., Rybak J., Claeys K. Imipenem-cilastatin-relebactam: a novel β -lactam- β -lactamase inhibitor combination for the treatment of multidrug-resistant Gram-negative infections. Pharmacotherapy. 2020; 40 (4): 343–56. DOI: <https://doi.org/10.1002/phar.2378>

18. Petty L., Henig O., Patel T., et al. Infect Drug. Resist. 2018; 11: 1461–72. DOI: <https://doi.org/10.2147/IDR.S150447>

19. Sato T., Yamawaki K. Cefiderocol: discovery, chemistry, and in vivo profiles of a novel siderophore cephalosporin. Clin Infect Dis. 2019; 69 (suppl 7): S538–43. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciz826>

20. Zhanel G., Golden A., Zelenitsky S., et al. Cefiderocol: a siderophore cephalosporin with activity against carbapenem-resistant and multidrug-resistant Gram-negative bacilli. Drugs. 2019; 79 (3): 271–89. DOI: <https://doi.org/10.1007/s40265-019-1055-2>

21. Kohira N., Hackel M., Ishioka Y., et al. Reduced susceptibility mechanism to cefiderocol, a siderophore cephalosporin, among clinical isolates from a global surveillance programme (SIDERO-WT-2014). J Glob Antimicrob Resist. 2020; 22: 738–41. DOI: <http://dx.doi.org/10.1016/j.jgar.2020.07.009>

22. Kuzmenkov A., Trushin I., Vinogradova A., et al. AMRmap: an interactive web platform for analysis of antimicrobial resistance surveillance data in Russia. Front Microbiol. 2021; 12: 620002. DOI: <https://doi.org/10.3389/fmicb.2021.620002>

23. Rawson T., Moore L., Zhu N., et al. Bacterial and fungal coinfection in individuals with coronavirus: a rapid review to support COVID-19 antimicrobial prescribing. Clin Infect Dis. 2020; 71 (9): 2459–68. DOI: <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa530>