

Антибиотикорезистентность, продукция карбапенемаз и генотипы нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016»

Эйдельштейн М.В.¹, Шек Е.А.¹, Сухорукова М.В.¹, Склеенова Е.Ю.¹, Иванчик Н.В.¹, Шайдуллина Э.Р.^{1,2}, Микотина А.В.¹, Кузьменков А.Ю.¹, Дехнич А.В.¹, Козлов Р.С.¹, Семенова Н.В.³, Слепакова С.А.⁴, Шепотайлова Н.В.⁴, Стребкова В.В.⁵, Рыбина Н.А.⁵, Яранцева Н.З.⁶, Перевалова Е.Ю.⁷, Розанова С.М.⁷, Наговицина С.Г.⁸, Молдовану М.Г.⁸, Насыбуллова З.З.⁹, Архипенко М.В.¹⁰, Шахмурадян Р.М.¹⁰, Нижегородцева И.А.¹¹, Варибрус Е.В.¹¹, Александрова И.А.¹², Лазарева А.В.¹³, Крыжановская О.А.¹³, Маркелова Н.Н.¹⁴, Чернявская Ю.Л.¹⁵, Лебедева Е.В.¹⁵, Кириллова Г.Ш.¹⁶, Беккер Г.Г.¹⁷, Попова Л.Д.¹⁸, Елохина Е.В.¹⁸, Смолькова Ю.Е.¹⁹, Зиновьев Д.Ю.¹⁹, Итяева Л.Н.²⁰, Блинова Г.Ю.²⁰, Зубарева Н.А.²¹, Витязева В.П.²², Плаксина М.Г.²², Куцевалова О.Ю.²³, Панова Н.И.²³, Суборова Т.Н.²⁴, Полухина О.В.²⁵, Ворошилова Т.М.²⁶, Чурикова Е.М.²⁶, Москвитина Е.Н.²⁷, Кречикова О.И.¹, Петрова Т.А.²⁸, Мартыанова Н.М.²⁹, Хохлова К.О.²⁹, Гудкова Л.В.³⁰, Быконя С.А.³⁰, Хохлявина Р.М.³¹, Шпилькина Л.В.³¹, Бурасова Е.Г.³², Хребтовская В.А.³², Молчанова И.В.³³, Звонарева О.В.³³, Корнилова П.А.³⁴, Крянга В.Г.³⁴, Портнягина У.С.³⁵, Шамаева С.Х.³⁵

¹ НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, Смоленск, Россия

² ФГАОУ ВО «Казанский (Приволжский) федеральный университет», Казань, Россия

³ Архангельская областная клиническая больница, Архангельск, Россия

⁴ Амурская областная детская клиническая больница, Благовещенск, Россия

⁵ Воронежская городская клиническая больница скорой медицинской помощи №10, Воронеж, Россия

⁶ Свердловская областная клиническая психиатрическая больница, Екатеринбург, Россия

⁷ Клинико-диагностический центр, Екатеринбург, Россия

⁸ Городская клиническая больница №9, Ижевск, Россия

⁹ Республиканская клиническая больница, Казань, Россия

¹⁰ Научно-исследовательский институт – Краевая клиническая больница №1 им. проф. С.В. Очаповского, Краснодар, Россия

¹¹ Краевая клиническая больница №2, Краснодар, Россия

¹² ФГАУ «НМИЦ нейрохирургии им. акад. Н.Н. Бурденко» Минздрава России, Москва, Россия

¹³ ФГАУ «НМИЦ здоровья детей» Минздрава России, Москва, Россия

¹⁴ ФГБУ «Российский научный центр рентгенорадиологии» Минздрава России, Москва, Россия

¹⁵ Мурманская областная клиническая больница им. П.А. Баяндина, Мурманск, Россия

¹⁶ Больница скорой медицинской помощи, Набережные Челны, Россия

¹⁷ Дорожная клиническая больница на ст. Новосибирск-Главный ОАО «РЖД», Новосибирск, Россия

¹⁸ Областная клиническая больница, Омск, Россия

¹⁹ Клиническая больница №6 им. Г.А. Захарьина, Пенза, Россия

²⁰ Областной онкологический диспансер, Пенза, Россия

²¹ ФГБОУ ВО «Пермский государственный медицинский университет им. акад. Е.А. Вагнера» Минздрава России, Пермь, Россия

²² Детская республиканская больница, Петрозаводск, Россия

²³ ФГБУ «Ростовский научно-исследовательский онкологический институт» Минздрава России, Ростов-на-Дону, Россия

²⁴ ФГБВОУ ВО «Военно-медицинская академия им. С.М. Кирова» Минобороны России, Санкт-Петербург, Россия

²⁵ Санкт-Петербург, Россия

²⁶ ФГБУ «Всероссийский центр экстренной и радиационной медицины им. А.М. Никифорова» МЧС России, Санкт-Петербург, Россия

²⁷ ФГБУ «Сибирский федеральный научно-клинический центр» ФМБА России, Северск, Россия

²⁸ Клиническая больница №1, Смоленск, Россия

²⁹ Тольяттинская городская клиническая больница №5, Тольятти, Россия

³⁰ Томская областная клиническая больница, Томск, Россия

³¹ Областная клиническая больница №1, Тюмень, Россия

³² Республиканская клиническая больница им. Н.А. Семашко, Улан-Удэ, Россия

³³ Челябинская областная клиническая больница, Челябинск, Россия

³⁴ Республиканская больница №1 – Национальный центр медицины, Якутск, Россия

³⁵ Республиканская больница №2 – Центр экстренной медицинской помощи, Якутск, Россия

Контактный адрес:

Марина Витальевна Сухорукова
Эл. почта: Marina.Sukhorukova@
antibiotic.ru

Ключевые слова: нозокомиальные инфекции, *Pseudomonas aeruginosa*, антибиотикорезистентность, карбапенемазы.

Цель. Определить распространенность устойчивости к антибиотикам, частоту продукции приобретенных карбапенемаз, генотипы и принадлежность к «международным клонам высокого риска» нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных в различных регионах России в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015–2016».

Материалы и методы. Всего исследовано 1006 неповторяющихся изолятов *P. aeruginosa*, выделенных в 44 стационарах 25 городов России в 2015–2016 гг. Видовую идентификацию изолятов проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии. Определение чувствительности к антибиотикам выполняли методом микроразведений в бульоне в соответствии со стандартом ISO 20776-1:2006,

результаты интерпретировали на основании пограничных значений МПК, рекомендованных EUCAST, версия 9.0. Наличие генов приобретенных карбапенемаз групп VIM, IMP, NDM, GES-2 и GES-5 определяли с помощью ПЦР в реальном времени. Субвидовое типирование изолятов проводили на основании идентификации однонуклеотидных полиморфизмов в 7 хромосомных локусах, используемых в существующих схемах мультилокусного секвенирования-типирования (MLST).

Результаты. Доля *P. aeruginosa* среди всех бактериальных возбудителей, выделенных в рамках исследования «МАРАФОН 2015–2016», составила 17,4%. Частота устойчивости к антибиотикам составила (в порядке убывания *in vitro* активности): к колистину – 1,4%, азтреонаму – 41,5%, цефтазидиму/авибактаму – 41,6%, амикацину – 47,7%, цефепиму – 51,5%, тобрамицину – 54,2%, меропенему – 55,5%, гентамицину – 56,3%, цефтазидиму – 56,8%, пиперациллину/тазобактаму – 62,0%, ципрофлоксацину – 63,3%, пиперациллину – 65,2%, имипенему – 67,5% и тикарциллину/клавуланату – 97,6%. У 35% изолятов выявлены гены приобретенных карбапенемаз: металло-бета-лактамаз (МБЛ) групп VIM (30,5%) и IMP (0,3%) и сериновых карбапенемаз группы GES-5 (4,2%). Продуценты МБЛ проявляли высокую устойчивость ко всем антибиотикам, кроме азтреонама (49%) и полимиксинов (0%); продуценты GES-5 – к большинству препаратов, кроме азтреонама (4,8%), цефтазидима/авибактама (11,9%) и полимиксинов (0%). Карбапенемазопродуцирующие штаммы относились в основном к «международным клоном высокого риска»: CC235 (76,3%) и CC654 (21%). У всех изолятов CC235 выявлено наличие специфического аллельного варианта гена, кодирующего секретируемую A2 фосфолипазу EhoU – основной фактор вирулентности *P. aeruginosa*.

Выводы. Результаты проведенного исследования свидетельствуют о росте устойчивости нозокомиальных штаммов *P. aeruginosa* к большинству антибиотиков, включая карбапенемы, и увеличении частоты продукции карбапенемаз. Основной причиной роста резистентности является распространение клонов «высокого риска».

Original Article

Antimicrobial resistance, carbapenemase production and genotypes of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study «MARATHON 2015–2016»

Edelstein M.V.¹, Shek E.A.¹, Sukhorukova M.V.¹, Skleenova E.Yu.¹, Ivanchik N.V.¹, Shajdullina E.R.^{1,2}, Mikotina A.V.¹, Kuzmenkov A.Yu.¹, Dekhnich A.V.¹, Kozlov R.S.¹, Semyonova N.V.³, Slepakova S.A.⁴, Shepotajlova N.V.⁴, Strebkova V.V.⁵, Rybina N.A.⁵, Yaranceva N.Z.⁶, Perevalova E.Yu.⁷, Rozanova S.M.⁷, Nagovicina S.G.⁸, Moldovanu M.G.⁸, Nasybullova Z.Z.⁹, Arkhipenko M.V.¹⁰, Shakhmuradyan R.M.¹⁰, Nizhegorodceva I.A.¹¹, Varibrus E.V.¹¹, Aleksandrova I.A.¹², Lazareva A.V.¹³, Kryzhanovskaya O.A.¹³, Markelova N.N.¹⁴, Chernyavskaya Yu.L.¹⁵, Lebedeva E.V.¹⁵, Kirillova G.Sh.¹⁶, Bekker G.G.¹⁷, Popova L.D.¹⁸, Elokhina E.V.¹⁸, Smol'kova Yu.E.¹⁹, Zinov'ev D.Yu.¹⁹, Ityaeva L.N.²⁰, Blinova G.Yu.²⁰, Zubareva N.A.²¹, Vityazeva V.P.²², Plaksina M.G.²², Kucevalova O.Yu.²³, Panova N.I.²³, Suborova T.N.²⁴, Polukhina O.V.²⁵, Voroshilova T.M.²⁶, Churikova E.M.²⁶, Moskvitina E.N.²⁷, Krechikova O.I.¹, Petrova T.A.²⁸, Mart'yanova N.M.²⁹, Khokhlova K.O.²⁹, Gudkova L.V.³⁰, Bykonya S.A.³⁰, Khokhlyavina R.M.³¹, Shpil'kina L.V.³¹, Burasova E.G.³², Khrebtovskaya V.A.³², Molchanova I.V.³³, Zvonaryova O.V.³³, Kornilova P.A.³⁴, Kryanga V.G.³⁴, Portnyagina U.S.³⁵, Shamaeva S.Kh.³⁵

¹ Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

² Kazan Federal University, Kazan, Russia

³ Arkhangelsk Regional Clinical Hospital, Arkhangelsk, Russia

⁴ Amur Regional Children Clinical Hospital, Blagoveshchensk, Russia

⁵ Voronezh City Clinical Emergency Care Hospital #10, Voronezh, Russia

⁶ Sverdlovsk Regional Clinical Psychiatric Hospital, Yekaterinburg, Russia

⁷ Clinical Diagnostic Center, Yekaterinburg, Russia

⁸ City Clinical Hospital #9, Izhevsk, Russia

⁹ Republican Clinical Hospital, Kazan, Russia

¹⁰ Research Institute – Regional Clinical Hospital #1 named after Prof. S.V. Ochapovskij, Krasnodar, Russia

¹¹ Regional Clinical Hospital #2, Krasnodar, Russia

¹² National Medical Research Center of Neurosurgery named after N.N. Burdenko, Moscow, Russia

¹³ National Medical Research Center for Children's Health, Moscow, Russia

¹⁴ Russian Scientific Center of Roentgenoradiology, Moscow, Russia

¹⁵ Murmansk Regional Clinical Hospital named after P.A. Bayandin, Murmansk, Russia

¹⁶ Emergency Care Hospital, Naberezhnye Chelny, Russia

¹⁷ Clinical Hospital at the Novosibirsk-Main Station, Novosibirsk, Russia

¹⁸ Regional Clinical Hospital, Omsk, Russia

¹⁹ Clinical Hospital #6 named after G.A. Zakhar'in, Penza, Russia

- ²⁰ Regional Oncology Dispensary, Penza, Russia
²¹ Perm State Medical University named after E.A. Wagner, Perm, Russia
²² Children Republican Hospital, Petrozavodsk, Russia
²³ Rostov Research Institute of Oncology, Rostov-on-Don, Russia
²⁴ S.M. Kirov Military Medical Academy, Saint-Petersburg, Russia
²⁵ Saint-Petersburg, Russia
²⁶ All-Russian Center of Emergency and Radiation Medicine named after A.M. Nikiforov, Saint-Petersburg, Russia
²⁷ Siberian Federal Scientific Clinical Center, Seversk, Russia
²⁸ Clinical Hospital #1, Smolensk, Russia
²⁹ Tol'yatti City Clinical Hospital #5, Tol'yatti, Russia
³⁰ Tomsk Regional Clinical Hospital, Tomsk, Russia
³¹ Regional Clinical Hospital #1, Tyumen, Russia
³² Republican Clinical Hospital named after N.A. Semashko, Ulan-Ude, Russia
³³ Chelyabinsk Regional Clinical Hospital, Chelyabinsk, Russia
³⁴ Republican Hospital #1 – National Medical Center, Yakutsk, Russia
³⁵ Republican Hospital #2 – Center of Emergency Medical Care, Yakutsk, Russia

Contacts:

Marina V. Sukhorukova
 E-mail: Marina.Sukhorukova@antibiotic.ru

Key words: nosocomial infections, *Pseudomonas aeruginosa*, antimicrobial resistance, carbapenemases.

Objectives. To assess the rates of antibiotic resistance, production of acquired carbapenemases, genotypes and prevalence of «international high-risk clones» among nosocomial strains of *Pseudomonas aeruginosa* isolated in various regions of Russia within the «MARATHON 2015–2016» study.

Materials and methods. A total of 1006 non-duplicate nosocomial isolates of *P. aeruginosa* collected in 44 hospitals from 25 cities in Russia in 2015–2016 were studied. Species identification of isolates was performed by means of MALDI-TOF mass-spectrometry. Antimicrobial susceptibility was determined using broth microdilution method according to ISO 20776-1:2006 and interpreted using EUCAST MIC clinical breakpoints v.9.0. The presence of acquired carbapenemase genes of VIM, IMP, NDM, GES-2 and GES-5 groups was determined using real-time PCR. Genotyping of isolates was performed by analysis of selected single nucleotide polymorphisms in 7 chromosomal loci used for multi-locus sequence typing (MLST) of this species.

Results. *P. aeruginosa* comprised of 17.4% of all bacterial pathogens isolated within the «MARATHON 2015–2016» study. The resistance rates to antibiotics were (in decreasing order of *in vitro* activity): 1.4% to colistin, 41.5% to aztreonam, 41.6% to ceftazidime/avibactam, 47.7% to amikacin, 51.5% to cefepime, 54.2% to tobramycin, 55.5% to meropenem, 56.3% to gentamicin, 56.8% to ceftazidime, 62.0% to piperacillin/tazobactam, 63.3% to ciprofloxacin, 65.2% to piperacillin, 67.5% to imipenem, and 97.6% to ticarcillin/clavulanic acid. Acquired carbapenemase genes were detected in 35% of the isolates including those for metallo- β -lactamases of VIM- (30.5%) and IMP-type (0.3%) and for GES-5-like serine carbapenemases. MBL producers were highly resistant to all antibiotics except for aztreonam (49%) and polymyxins (0%); GES-5-producers were resistant to most antibiotics except for aztreonam (4.8%), ceftazidime/avibactam (11.9%) and polymyxins (0%). The majority of carbapenemase producing strains belonged to the international “high-risk” CC235 (76.3%) and CC654 (21%) clones. All CC235 isolates revealed the presence of specific variant of the gene encoding secreted phospholipase A2, ExoU, which is a major virulence factor of *P. aeruginosa*.

Conclusions. The results of this study indicate an increase in resistance rates to most antibiotics, including carbapenems, and in prevalence of carbapenemase production in nosocomial strains of *P. aeruginosa*. This can be largely attributed to the expansion of “high-risk” clones.

Введение

Pseudomonas aeruginosa – один из наиболее распространенных возбудителей нозокомиальных инфекций. На протяжении ряда лет он остается одним из ведущих патогенов в России [1–5]: доля изолятов этого микроорганизма ($n = 1006$) среди всех бактериальных возбудителей нозокомиальных инфекций ($n = 5783$), выделенных в рамках исследования «МАРАФОН» в 2015–2016 гг., составила 17,4%, он был вторым по частоте встречаемости видом после *Klebsiella pneumoniae*.

P. aeruginosa обладает низкой природной чувствительностью к большинству бета-лактамовых антибиотиков, включая пенициллины и цефалоспорины, по сравнению с представителями порядка Enterobacteriales, в связи с чем для лечения синегнойных инфекций обычно используются карбапенемы (кроме эртапенема) [6]. Кроме того, отмечаемый в последнее время во многих странах рост приобретенной устойчивости к карбапенемам и антимикробным препаратам (АМП) других групп определяет необходимость осуществления регулярного мо-

нитинга чувствительности нозокомиальных штаммов *P. aeruginosa* и коррекции стратегии терапии вызываемых ими инфекций [6, 7].

Материалы и методы исследования

Источники бактериальных изолятов. В исследование включены клинические изоляты *P. aeruginosa* ($n = 1006$), собранные в рамках многоцентрового эпидемиологического исследования антибиотикорезистентности возбудителей нозокомиальных инфекций («МАРАФОН») в 44 стационарах 25 городов России (Архангельск, Благовещенск, Воронеж, Екатеринбург, Ижевск, Казань, Краснодар, Москва, Мурманск, Набережные Челны, Новосибирск, Омск, Пенза, Пермь, Петрозаводск, Ростов-на-Дону, Санкт-Петербург, Северск, Смоленск, Тольятти, Томск, Тюмень, Улан-Удэ, Челябинск и Якутск) с января 2015 г. по декабрь 2016 г. Выделение и первичная идентификация бактериальных

изолятов проводились в локальных клинических микробиологических лабораториях центров-участников исследования. Все включенные в исследование изоляты были расценены как нозокомиальные с учетом: 1) их вероятной этиологической значимости в развитии определенной инфекции и 2) соответствия формальным критериям нозокомиальной инфекции – инфекции, развившейся у пациента не менее чем через 48 ч. после госпитализации, не находившейся в инкубационном периоде или явившейся следствием предшествующей госпитализации. Распределение исследованных изолятов в соответствии с источником их выделения и локализацией инфекции представлено на Рисунке 1. Окончательная видовая идентификация изолятов и определение их чувствительности к АМП проводились в центральной лаборатории НИИ антимикробной химиотерапии (НИИАХ) ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России (Смоленск).

Видовая идентификация и хранение изолятов. Все исследованные изоляты были идентифицированы до вида методом матрично-ассоциированной лазерной десорбции/ионизации – времяпролетной масс-спектрометрии (MALDI-TOF MS) с использованием системы Microflex LT и программного обеспечения MALDI Biotyper Compass v.4.1.80 (Bruker Daltonics, Германия). В качестве критерия надежной видовой идентификации использовали рекомендуемые значения Score $\geq 2,0$. До проведения анализа изоляты хранили при температуре -70°C в триптиказо-соевом бульоне с добавлением 30% глицерина.

Определение чувствительности к АМП. Определение чувствительности ко всем АМП, кроме фосфомицина, проводили методом микроразведений в бульоне Мюллера – Хинтона (Oxoid, Великобритания) в соответствии со стандартом ISO 20776-1:2006 / ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 [8, 9]. Чувствительность к фосфомицину определяли методом разведений в агаре в соответствии с рекомендациями Европейского комитета по определению чувствительности к антимикробным препаратам (EUCAST), версия 9.0 [10]. Клинические категории чувствительности изолятов к АМП определяли на основании пограничных значений минимальных подавляющих концентраций (МПК), установленных EUCAST, версия 9.0 [10]. Для контроля качества определения чувствительности использовали следующие штаммы: *E. coli* ATCC®25922, *E. coli* ATCC®35218 и *P. aeruginosa* ATCC®27853. Анализ результатов определения чув-

ствительности к АМП проводился с помощью онлайн платформы AMRcloud (<http://amrcloud.net/>).

Выявление карбапенемаз. Наличие генов наиболее распространенных у *P. aeruginosa* приобретенных металло-бета-лактамаз (МБЛ) групп VIM и IMP, а также NDM определяли методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов «АмплиСенс® MDR MBL-FL» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия). Выявление и дифференциацию бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) группы GES (GES-1-подобных БЛРС, содержащих аминокислотный остаток Gly170) и GES карбапенемаз (GES-2- и GES-5-группы, несущих замены Asn170 и Ser170) проводили путем детекции соответствующих нуклеотидных полиморфизмов в позициях 493 и 494 генов *bla*_{GES} с помощью метода ПЦР в реальном времени и анализа кривых плавления зонда [11]. Для амплификации применяли систему ПЦР в реальном времени DTPPrime 5X1 (ДНК-Технология, Россия). В качестве положительных контролей использовали штаммы *P. aeruginosa* и *K. pneumoniae* из коллекции НИИАХ, продуцирующие известные карбапенемазы перечисленных групп. Фенотипическая экспрессия карбапенемаз оценивалась с помощью метода инактивации карбапенемов (Carbapenem Inactivation Method, CIM) [12]. Результаты оценки чувствительности к АМП и определения генов карбапенемаз различных типов введены в онлайн базу данных AMRmap [13].

Детекция генов A2 фосфолипазы ExoU. Выявление генов *exoU*, кодирующих секретируемую A2 фосфолипазу ExoU – основной фактор вирулентности *P. aeruginosa*, и дифференциацию известных вариантов данного фермента (Leu/Pro-447) проводили путем детекции соответствующей нуклеотидной транзиции (1340-T/C) в гене *exoU* с помощью ПЦР-РВ и анализа кривых плавления зонда [14]. В качестве положительных контролей использовали штаммы *P. aeruginosa* ST235 ExoU+(Leu-447) и ST253 ExoU+(Pro-447) из коллекции НИИАХ.

Молекулярно-генетическое типирование. Для оценки генетического разнообразия штаммов *P. aeruginosa* использовали метод SNP-типирования, основанный на анализе однонуклеотидных полиморфизмов (SNP) в 7 хромосомных локусах (*acsA*, *aroE*, *guaA*, *mutL*, *nuoD*, *ppsA* и *trpE*), используемых в существующей схеме мультилокусного секвенирования-типирования (MLST) *P. aeruginosa* [15]. Метод обеспечивает возможность высокопроизводительного типирования изолятов и определения их принадлежности к известным сиквенс-типам (ST) и клональным комплексам (CC), включая так называемые «международные клоны высокого риска». Детекцию SNP в указанных локусах проводили с помощью аллель-специфичной ПЦР в режиме реального времени с универсальными флуорогенными праймерами (AmpliFluor). Для подготовки и проведения ПЦР в формате 384-луночных планшетов использовали систему QiAgility (QIAGEN, Германия) и DTPPrime 5X1 (ДНК-Технология, Россия). Штаммы *P. aeruginosa* известных сиквенс-типов из коллекции НИИАХ были использованы в качестве контролей. Кластерный анализ SNP профилей осуществляли с помощью онлайн ресурса SNPTa

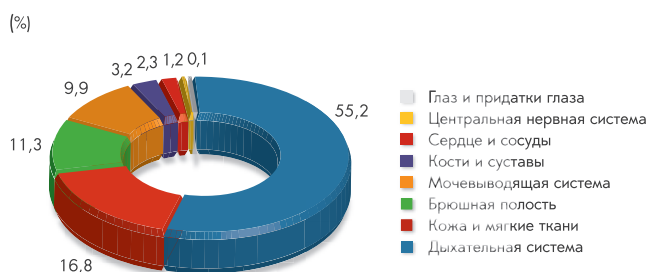


Рисунок 1. Распределение нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa* (n = 1006) в зависимости от локализации инфекции

(<http://snpt.antibiotic.ru>) [14] и программы PHYLOViZ 2 (<http://www.phyloviz.net>). Результаты типирования всех изолятов введены в онлайн базу данных SNPTa.

Результаты и обсуждение

Результаты оценки чувствительности к АМП нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa* представлены в Таблицах 1–3. Ввиду отсутствия критериев EUCAST для определения клинических категорий чувствительности *Pseudomonas* spp. к отдельным препаратам (дорипенему, азтреонаму/авибактаму, фосфомицину и полимиксину В), которые могут быть использованы для лечения инфекций, вызванных *P. aeruginosa*, в соответствующих таблицах представлены только данные по распределению МПК перечисленных антибиотиков.

Большинство изолятов *P. aeruginosa* проявляли высокие уровни устойчивости к ингибиторозащищенным пенициллинам – тикарциллину/клавуланату (97,6%) и пиперациллину/тазобактаму (62,0%). Резистентность к антисинегнойным цефалоспорином – цефтазидиму и цефепиму – проявляли соответственно 56,8% и 51,5% изолятов. Устойчивость к цефтазидиму/авибактаму выявлена у 41,6% изолятов. Согласно новым критериям EUCAST, 41,5% изолятов были резистентны к азтреонаму. Значения МПК₅₀ и МПК₉₀ для комбинации азтреонам/авибактам составили 16 и 32 мг/л соответственно. Резистентность к карбапенемам – меропенему и имипенему – проявляли соответственно 55,5% и 67,5% изолятов. Значения МПК дорипенема превышали уровень эпидемиологической точки отсечения (ECOFF, ≥ 1 мг/л) у 72,5% изолятов. Среди не-бета-лактамов антибиотиков наиболее высокий уровень резистентности отмечен для цiproфлоксацина (63,3%). Резистентность к аминогликозидам – гентамицину, тобрамицину и амикацину – проявляли соответственно 56,3%, 54,2% и 47,7% изолятов. Наиболее активными *in vitro* были полимиксины. К колистину были устойчивы только 1,4% изолятов. В целом была отмечена высокая корреляция между чувствительностью к колистину и полимиксину В, при этом для последнего препарата были выявлены более низкие значения МПК₅₀ и МПК₉₀ (0,25 и 1 мг/л в сравнении с 1 и 2 мг/л соответственно). Значения МПК фосфомицина превышали уровень ECOFF (128 мг/л) у 26,2% изолятов.

У 352 (35,0%) изолятов выявлено наличие генов приобретенных карбапенемаз, среди которых обнаружены МБЛ групп VIM (30,5%) и IMP (0,3%), а также сериновые карбапенемазы группы GES-5 (4,2%). Подавляющее большинство изолятов, несущих гены МБЛ, проявляли высокую устойчивость ко всем антисинегнойным пенициллинам, цефалоспорином и карбапенемам (97–100%), а также к аминогликозидам (90–98%) и цiproфлоксацину (99%), что указывает на наличие множественных дополнительных факторов резистентности (Таблица 2). Лишь у 7 (2,3%) изолятов, несущих гены *bla*_{VIM}, значения МПК цефепима (4–8 мг/л) соответствовали категории «чувствительный», при этом фенотипическая экспрессия МБЛ с помощью CIM-теста выявлена не была. 49,0% продуцентов МБЛ были резистентны к азтреонаму. Комбинация с

авибактамом значимо не снижала МПК азтреонама для продуцентов МБЛ (соответствующие значения МПК₅₀ и МПК₉₀ составили 32 мг/л), вероятно, вследствие наличия сочетанных механизмов эффлюкса [16]. Штаммы, несущие гены сериновых карбапенемаз группы GES-5, также проявляли высокую устойчивость (90,5–100%) к антисинегнойным пенициллинам, карбапенемам, аминогликозидам и цiproфлоксацину (Таблица 3). 52,4%, 19,1% и 4,8% GES-5-продуцирующих изолятов были резистентны к цефтазидиму, цефепиму и азтреонаму соответственно. Авибактам снижал долю устойчивых к цефтазидиму продуцентов GES-5 до 11,9%, однако значимо не влиял на уровень резистентности к азтреонаму (значения МПК₅₀ и МПК₉₀ составляли 8 и 16 мг/л). Все карбапенемазопродуцирующие изоляты были чувствительны к колистину. Сравнение полученных результатов оценки чувствительности к карбапенемам и распространенности приобретенных карбапенемаз среди нозокомиальных штаммов *P. aeruginosa*, выделенных в рамках исследования «МАРАФОН» в 2015–2016 гг., с аналогичными показателями для штаммов, собранных в 2013–2014 гг. [17], свидетельствует о значимом увеличении частоты устойчивости к меропенему ($p = 0,0001$) и продукции карбапенемаз групп VIM ($p = 0,0001$) и GES-5 ($p = 0,0032$) (Рисунок 2).

Молекулярно-генетическое типирование позволило отнести 602 исследованных изолята *P. aeruginosa* из 20 городов РФ к 118 различным генотипам и 83 клональным группам (генетическим кластерам, объединяющим штаммы родственных генотипов) (Рисунок 3). Одновременное распространение множества различных генотипов наблюдалось во всех городах, однако

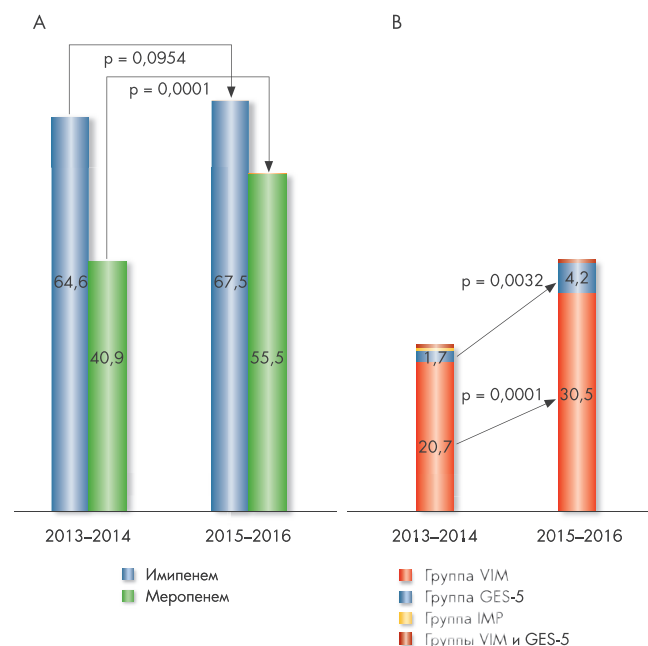


Рисунок 2. Динамика резистентности к карбапенемам (А) и продукции карбапенемаз (В) у нозокомиальных штаммов *P. aeruginosa* в России по данным исследований «МАРАФОН» в 2013–2014 гг. и 2015–2016 гг., %

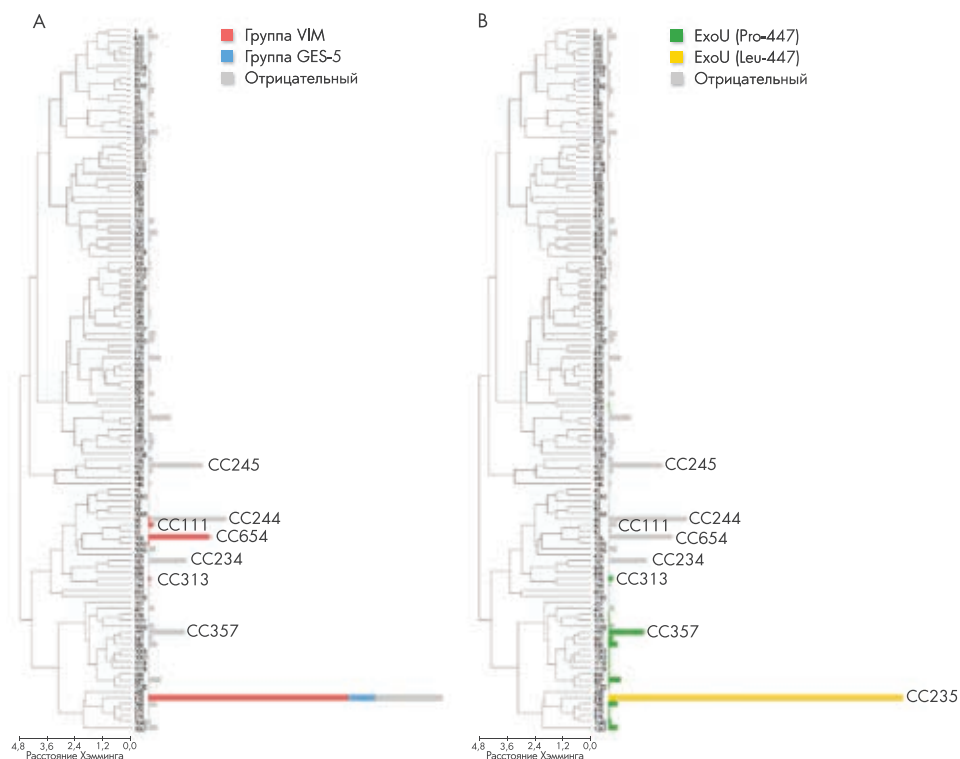


Рисунок 3. Генетическое разнообразие штаммов *P. aeruginosa*, выделенных в рамках исследования «МАРАФОН 2015–2016». Распределение генов карбапенемаз (А) и вариантов ExoU (В) среди штаммов различных генотипов

Иерархический кластерный анализ SNP-профилей (метод полной связи); горизонтальные прямоугольники соответствуют различным генотипам; длина прямоугольников пропорциональна количеству изолятов; доминирующие клональные группы выделены пунктирными линиями.

наибольшее разнообразие штаммов было выявлено в стационарах крупных городов (32 генотипа в Москве, 20 – в Улан-Удэ, по 17 – в Санкт-Петербурге и Пензе). Несмотря на значительное разнообразие циркулирующих штаммов, отмечено преобладание штаммов нескольких клональных групп в первую очередь CC235 (SNP-тип 510, 30,6% изолятов из 20 городов), а также CC244 (SNP-тип 96, 8,1% изолятов из 10 городов), CC654 (SNP-типы 106 и 1095, 6,8% изолятов из 9 городов), CC245 (SNP-типы 452 и 461, 6,1% изолятов из 3 городов), CC234 (SNP-тип 187, 4,0% изолятов из 5 городов) и CC357 (SNP-тип 772, 3,8% изолятов из 5 городов).

Гены МБЛ группы VIM были выявлены у изолятов 6 генотипов, относящихся преимущественно к CC235 (74%) и CC654 (23,1%), а также у единичных изолятов CC244, CC313 (SNP-тип 774) и CC111 (SNP-тип 90). Гены сериновых карбапенемаз группы GES-5 выявлены только у изолятов CC235 (Рисунок 3А). Таким образом, рост устойчивости к карбапенемам в популяции нозокомиальных штаммов *P. aeruginosa* в 2015–2016 гг. обусловлен в основном распространением карбапенемазопродуцирующих штаммов CC235 и CC654. CC235, включая «центральный» сиквент-тип – ST235, известен как наиболее значимый международный клон «высокого риска», широкое распространение которого описано в России и большинстве стран мира [18–21]. CC654

(ST654) представляет собой новый эпидемический клон, ранее обнаруженный в других странах: Великобритании, Швеции, Северной Америке, Сингапуре, Польше и Аргентине [22–28]. ST654 был также описан недавно как один из доминирующих генотипов карбапенемазопродуцирующих штаммов *P. aeruginosa*, выделенных в двух детских стационарах г. Москвы [29].

Исследование нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa* на наличие генов секретируемой А2 фосфолипазы ExoU – основного фактора патогенности *P. aeruginosa* [30, 31] выявило его присутствие у 41,9% изолятов, относящихся к 21 генотипу (Рисунок 3В). Вариант ExoU(Pro-447) был обнаружен у 11,3% изолятов, принадлежащих к 20 различным генотипам, тогда как вариант ExoU(Leu-447) определен у 30,6% изолятов и строго коррелировал с генотипом CC235. Полученные данные о наличии ассоциации генотипа CC235 с определенным вариантом ExoU полностью согласуются с результатами *in silico* анализа доступных геномных последовательностей штаммов CC235 и данными публикаций, свидетельствующих о наличии у штаммов данной генетической линии острова патогенности ExoU Island A, несущего определенный аллельный вариант *exoU* [21, 32]. Таким образом, аллель *exoU*(T-1340), соответствующий варианту ExoU(Leu-447), может рассматриваться как специфический биомаркер для быстрой идентификации CC235.

Таблица 1. Чувствительность нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa* (n = 1006) к антибиотикам

Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мг/л													% изолятов по категориям*			МПК, мг/л		
	≤ 0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	≥ 512	Ч	У	Р	50%	90%
Азтреонам	0,4	0,1	0,1	0,1	0,6	14,0	18,1	25,3	26,9	5,0	3,1	6,5		58,6		41,5		16	64
Азтреонам/авибактам**	0,5	0,2	0,4	1,2	15,3	24,2	20,6	27,9	7,3	2,0	0,5							16	32
Амикацин		0,9	6,9	17,6	13,8	8,1	5,1	15,8	9,1	12,1	8,9	1,9		47,2	5,1	47,7		16	256
Гентамицин	7,4	13,2	10,6	6,9	5,7	3,3	1,5	1,9	1,4	2,9	45,3			43,7		56,3		32	≥ 256
Дорипенем**	1,5	6,1	5,4	6,8	7,9	10,5	11,0	8,9	34,4									8	≥ 32
Имипенем	0,2	0,3	1,8	12,2	12,0	6,0	12,7	14,1	7,9	4,2	28,6			32,5		67,5		16	≥ 128
Колистин	0,9	6,3	17,1	55,4	19,0	1,3				0,1				98,6		1,4		1	2
Меропенем	0,6	1,4	6,4	6,9	6,4	6,3	6,0	10,7	10,4	14,1	30,9			27,8	16,7	55,5		16	≥ 64
Пиперациллин				0,3	0,5	11,4	11,6	10,9	13,5	19,0	17,0	15,7		34,8		65,2		64	≥ 256
Пиперациллин/тазобактам				0,7	0,9	11,4	12,2	12,7	16,3	23,6	15,0	7,2		38,0		62,0		32	128
Полимиксин В**	53,1	28,1	17,4	1,3						0,1								0,25	1
Тикарциллин/клавуланат				0,2		0,5		1,7	6,0	15,3	13,7	62,6		2,4		97,6		≥ 256	≥ 256
Тобрамицин	16,6	18,8	3,4	5,3	1,8	2,4	2,1	4,2	11,5	19,8	14,2			45,8		54,2		16	≥ 256
Фосфомицин**	0,1	0,4	0,3	3,1	16,2	13,1	15,5	15,4	24,9	3,5	7,8							128	≥ 512
Цефепим	0,1	0,2	0,3	3,1	16,2	13,1	15,5	15,4	24,9	3,5	7,8			48,5		51,5		16	64
Цефтазидим	0,2	0,5	4,9	18,5	11,5	7,7	9,3	16,5	17,4	5,3	8,3			43,2		56,8		16	128
Цефтазидим/авибактам	0,2	0,1	0,6	13,0	20,6	15,6	8,4	7,1	15,8	13,5	3,1	2,1		58,5		41,6		4	64
Ципрофлоксацин	2,5	15,6	9,1	9,5	2,9	2,3	5,3	6,2	14,8	20,4	9,3	2,2		36,7		63,3		8	64

Здесь и далее в Таблицах 2–3:

* Ч – чувствительный; У – чувствительный при увеличенной экспозиции; Р – резистентный.

** Пограничные значения МПК не установлены EUCAST.

Таблица 2. Чувствительность к антибиотикам нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa*, несущих гены металло-бета-лактамаз (n = 310)[#]

Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мг/л													% изолятов по категориям*			МПК, мг/л		
	≤ 0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	≥ 512	Ч	У	Р	50%	90%
Азтреонам		0.3					4.5	8.4	37.7	42.3	3.9	2.3	0.7		51.0		49.0	16	32
Азтреонам/авибактам**		0.3			0.3	0.3	6.5	10.0	32.6	40.7	7.4	2.3						32	32
Амикацин					0.3	0.7	0.7	2.6	5.2	31.6	17.4	21.3	18.7	1.6	4.2	5.2	90.7	64	≥ 256
Гентамицин					0.3	0.7	0.3	4.5	0.3	1.3	0.3	1.0	91.3		1.3		98.7	≥ 256	≥ 256
Дорипенем**								1.3	7.1	91.6								≥ 32	≥ 32
Имипенем				0.3				0.7	1.6	5.2	6.1	86.1		0.3			99.7	≥ 128	≥ 128
Колистин	0.7	11.7	14.8	64.5	9.4									100.0			1	1	
Меропенем							0.7	1.0	16.5	81.9					0.7		99.4	≥ 64	≥ 64
Пиперациллин							1.0	1.6	20.3	46.8	25.5	4.8		2.6			97.4	64	128
Пиперациллин/тазобактам							1.0	1.9	25.8	50.0	17.7	3.6		2.9			97.1	64	128
Полимиксин В**				56.1	18.4	25.2	0.3											0.25	1
Тикарциллин/клавуланат											0.7	3.6	95.8				100.0	≥ 256	≥ 256
Тобрамицин				0.3	0.3	0.3	0.7	1.3	1.3	3.9	25.8	37.7	28.4		1.6		98.4	128	≥ 256
Фосфомицин**							0.3	0.7	0.3	11.3	25.2	40.0	13.6	8.7				128	256
Цефепим							1.0	1.3	26.8	61.3	6.1	3.6			2.3		97.7	32	32
Цефтазидим					0.3		0.3	0.3	7.7	41.0	42.3	4.5	3.6		1.0		99.0	64	64
Цефтазидим/авибактам					0.3	0.3	0.3	0.7	9.0	43.6	38.7	4.2	2.9		1.6		98.4	32	64
Ципрофлоксацин				0.3	0.7		0.3	2.3	12.6	35.8	39.4	8.7			1.0		99.0	16	32

[#] Группа VIM (n = 307), группа IMP (n = 3).

Таблица 3. Чувствительность к антибиотикам нозокомиальных изолятов *P. aeruginosa*, несущих гены карбапенемаз группы GES-5 (n = 42)

Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мг/л												% изолятов по категориям *			МПК, мг/л			
	≤ 0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	128	256	≥ 512	Ч	У	Р	50%	90%
Азтреонам						4,8	61,9	28,6	4,8						95,2		4,8	8	16
Азтреонам/авибактам **						4,8	69,1	16,7	9,5									8	16
Амикацин							2,4	7,1	50,0	16,7	19,1	4,8			2,4	7,1	90,5	32	128
Гентамицин										2,4	97,6						100,0	≥ 256	≥ 256
Дорипенем **					7,1	2,4		4,8	85,7									≥ 32	≥ 32
Имипенем				33,3	61,9	4,8	2,4	11,9	16,7	35,7	33,3				100,0		100,0	64	≥ 128
Колистин																		1	1
Меропенем						9,5			11,9	78,6						9,5	90,5	≥ 64	≥ 64
Пиперациллин								9,5		14,3	38,1	38,1			9,5		90,5	128	≥ 256
Пиперациллин/тазобактам								9,5	40,5	47,6	2,4				9,5		90,5	32	64
Полимиксин В **				66,7	26,2	7,1												0,25	0,5
Тикарциллин/клавуланат										9,5	52,4	38,1					100,0	128	≥ 256
Тобрамицин										4,8	52,4	42,9					100,0	128	≥ 256
Фосфомицин **							4,8		26,2	4,8	11,9	2,4	50,0					256	≥ 512
Цефепим					2,4	14,3	64,3	9,5	7,1	2,4					81,0		19,1	8	16
Цефтазидим							47,6	35,7	7,1			9,5			47,6		52,4	16	32
Цефтазидим/авибактам					38,1	42,9	7,1	9,5		2,4					88,1		11,9	4	16
Ципрофлоксацин					4,8	14,3	59,5	14,3	7,1								100,0	4	8

Заключение

P. aeruginosa остается одним из ведущих возбудителей нозокомиальных инфекций в России, уступая по частоте только *Klebsiella pneumoniae*. По сравнению с предшествующим этапом исследования «МАРАФОН» в 2015–2016 гг. отмечается рост устойчивости нозокомиальных штаммов *P. aeruginosa* к большинству АМП, включая карбапенемы, и увеличение частоты продукции карбапенемаз главным образом МБЛ группы VIM и сериновых карбапенемаз группы GES-5. Большинство штаммов, продуцирующих эти ферменты, принадлежат к

СС235, однако в последнее время наблюдается распространение VIM среди штаммов других генотипов, включая СС654. Для МБЛ-продуцирующих штаммов характерна устойчивость к большинству АМП кроме полимиксинов. В отношении других штаммов, включая продуцентов GES карбапенемаз, наиболее активными среди протестированных бета-лактамовых антибиотиков были азтреонам и цефтазидим/авибактам. Среди препаратов других групп, которые используются для комбинированной терапии синегнойной инфекции, высокую активность *in vitro* в отношении всех штаммов, в том числе продуцентов сериновых карбапенемаз и МБЛ, проявляли полимиксины.

Литература

1. Rashedko G.K., Ryabkova E.L., Farashchuk A.N., Strachounski L.S., and ROSNET study group. Non-fermenting gram-negative nosocomial pathogens in Russian ICUs: antimicrobial resistance problems. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2006;8(3):243-259. Russian. (Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Фаращук А.Н., Страчунский Л.С., Туркутюков В.Б., Нехаева Г.И. и соавт. Неферментирующие грамотрицательные возбудители нозокомиальных инфекций в ОРИТ России: проблемы антибиотикорезистентности. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2006;8(3):243-259.)
2. Rashedko G.K., Ryabkova E.L., Kretchikova O.I., Sukhorukova M.V., Shevchenko O.V., Edelstein M.V., on behalf of ROSNET study group. Antimicrobial resistance patterns of gram-negative nosocomial pathogens in Russia ICUs. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2008;10(2):96-112. Russian. (Решедько Г.К., Рябкова Е.Л., Кречикова О.И., Сухорукова М.В., Шевченко О.В., Эйдельштейн М.В. и соавт. Резистентность к антибиотикам грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в ОРИТ многопрофильных стационаров России. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2008;10(2):96-112.)
3. Skleenova E., Sukhorukova M., Timokhova A., Martinovich A., Savochkina J., Edelstein M., et al. Sharp increase in carbapenem non-susceptibility and carbapenemase production rates in nosocomial Gram-negative bacteria in Russia over the last decade. *Proceedings of the 53rd Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy (ICAAC)*. Denver, USA; 2012. C2-1092.
4. Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Shevchenko O.V., Tapalski D.V., Azizov I.S., D'souza J.W., et al. Prevalence and molecular epidemiology of gram-negative bacteria producing metallo- β -lactamases (MBLs) in Russia, Belarus and Kazakhstan. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2012;14:132-152. Russian. (Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Шевченко О.В., Тапальский Д.В., Азизов И.С., Д'соза Д.В. и соавт. Распространенность и молекулярная эпидемиология грамотрицательных бактерий, продуцирующих металло-бета-лактамазы, в России, Беларуси и Казахстане. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2012;14:132-152.)
5. Sukhorukova M.V., Edelstein M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Timokhova A.V., Sheck E.A., and the "MARATHON" Study Group. Antimicrobial resistance of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: results of national multicenter surveillance study "MARATHON" 2011-2012. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2014;16(4):273-279. Russian. (Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Шек Е.А. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011-2012 гг. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2014;16(4):273-279.)
6. Bassetti M., Vena A., Croxatto A., Righi E., Guery B. How to manage *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Drugs Context*. 2018;7:212527. DOI:10.7573/dic.212527
7. Karaiskos I., Giamarellou H. Multidrug-resistant and extensively drug-resistant Gram-negative pathogens: current and emerging therapeutic approaches. *Expert Opin Pharmacother*. 2014;15(10):1351-1370. DOI:10.1517/14656566.2014.914172
8. 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, 2006. Available at: www.iso.org/standard/41630.html. Accessed August 01, 2019.
9. National Standard GOST-R ISO 20776-1-2010. Clinical laboratory testing and in vitro diagnostic test systems. Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices, 2012. Available at: <http://docs.cntd.ru/document/1200083430>. Accessed August 01, 2019. Russian. (Национальный Стандарт ГОСТ Р ИСО 20776-1-2010 Клинические лабораторные исследования и диагностические тест-системы *in vitro*. Исследование чувствительности инфекционных агентов и оценка функциональных характеристик изделий для исследования чувствительности, 2012. Доступно по адресу: <http://docs.cntd.ru/document/1200083430>. Ссылка активна на 01 августа 2019 г.)
10. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST). Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Ver. 9.0., 2019. Available at: www.eucast.org/clinical_breakpoints/. Accessed August 01, 2019.
11. Sheck E.A., Skleenova E.Yu., Zhuravlev V.S., Edelstein M.V. Development of the assay for detection and discrimination of GES-type β -lactamases and assessment of their prevalence in gram-negative nosocomial pathogens in Russia. *Proceedings of the Molecular Diagnostics 2017*. Moscow, Russia; 18-20 April 2017. P. 224-225. (Шек Е.А., Склеенова Е.Ю., Журавлев В.С., Эйдельштейн М.В. Разработка метода для детекции и дискриминации β -лактамаз GES-типа и оценка их распространения среди грамотрицательных возбудителей нозокомиальных инфекций в России. Сборник трудов IX Всероссийской научно-практической конференции с международным участием Молекулярная диагностика 2017. Москва, Россия; 18-20 апреля 2017. С. 224-225.)
12. van der Zwaluw K., de Haan A., Pluister G.N., Bootsma H.J., de Neeling A.J., Schouls L.M. The Carbapenem Inactivation Method

- (CIM), a Simple and Low-Cost Alternative for the Carba NP Test to Assess Phenotypic Carbapenemase Activity in Gram-Negative Rods. Rohde H, ed. PLoS One. 2015;10(3):e0123690. DOI:10.1371/journal.pone.0123690
13. Kuzmenkov A.Yu., Trushin I.V., Avramenko A.A., Edelstein M.V., Dekhnich A.V., Kozlov R.S. AMRmap: an online platform for monitoring antibiotic resistance. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2017;19(2):84-90. Russian. (Кузьменков А.Ю., Трушин И.В., Авраменко А.А., Эйдельштейн М.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. AMRmap: интернет-платформа мониторинга антибиотикорезистентности. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017;19(2):84-90.)
 14. Sheck E.A., Edelstein M.V., Kozlov R.S. Development of a high-throughput single nucleotide polymorphism (SNP) typing method for *Pseudomonas aeruginosa*. Proceedings of the 28th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (ECCMID). Madrid, Spain; 21-24 April 2018. ePoster #O0753.
 15. Curran B., Jonas D., Grundmann H., Pitt T., Dowson C.G. Development of a Multilocus Sequence Typing Scheme for the Opportunistic Pathogen *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol*. 2004;42(12):5644-5649. DOI:10.1128/JCM.42.12.5644-5649.2004
 16. Quale J., Bratu S., Gupta J., Landman D. Interplay of Efflux System, ampC, and oprD Expression in Carbapenem Resistance of *Pseudomonas aeruginosa* Clinical Isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2006;50(5):1633-1641. DOI:10.1128/AAC.50.5.1633-1641.2006
 17. Edelstein M.V., Sukhorukova M.V., Skleenova E.Yu., Ivanchik N.V., Mikotina A.V., Sheck E.A., and the "MARATHON" study group. Antimicrobial resistance of nosocomial *Pseudomonas aeruginosa* isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "MARATHON" 2013-2014. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2017;19(1):37-41. Russian. (Эйдельштейн М.В., Сухорукова М.В., Склеенова Е.Ю., Иванчик Н.В., Микотина А.В., Шек Е.А. и соавт. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования "МАРАФОН" 2013-2014. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2017;19(1):37-41.)
 18. Edelstein M. V., Skleenova E.N., Shevchenko O.V., D'souza J.W., Tapalski D. V., Azizov I.S., et al. Spread of extensively resistant VIM-2-positive ST235 *Pseudomonas aeruginosa* in Belarus, Kazakhstan, and Russia: a longitudinal epidemiological and clinical study. *Lancet Infect Dis*. 2013;13(10):867-876. DOI:10.1016/S1473-3099(13)70168-3
 19. Skleenova E.Yu., Azizov I.S., Shek E.A., Edelstein M.V., Kozlov R.S., Dekhnich A.V. *Pseudomonas aeruginosa*: the history of one of the most successful nosocomial pathogens in Russian hospitals. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2018;20(3):164-171. Russian. (Склеенова Е.Ю., Азизов И.С., Шек Е.А., Эйдельштейн М.В., Козлов Р.С., Дехнич А.В. *Pseudomonas aeruginosa* в РФ: история одного из наиболее успешных нозокомиальных патогенов. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2018;20(3):164-171.)
 20. Oliver A., Mulet X., López-Causapé C., Juan C. The increasing threat of *Pseudomonas aeruginosa* high-risk clones. *Drug Resist Updat*. 2015;21-22:41-59. DOI:10.1016/J.DRUP.2015.08.002
 21. Treepong P., Kos V.N., Guyeux C., Blanc D.S., Bertrand X., Valot B., et al. Global emergence of the widespread *Pseudomonas aeruginosa* ST235 clone. *Clin Microbiol Infect*. 2018;24(3):258-266. DOI:10.1016/j.cmi.2017.06.018
 22. Wright L.L., Turton J.F., Livermore D.M., Hopkins K.L., Woodford N. Dominance of international "high-risk clones" among metallo-beta-lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa* in the UK. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(1):103-110. DOI:10.1093/jac/dku339
 23. Pasteran F., Faccione D., Gomez S., De Bunder S., Spinelli F., Rapoport M., et al. Detection of an international multiresistant clone belonging to sequence type 654 involved in the dissemination of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in Argentina. *J Antimicrob Chemother*. 2012;67(5):1291-1293. DOI:10.1093/jac/dks032
 24. Mataseje L.F., Peirano G., Church D.L., Conly J., Mulvey M., Pitout J.D. Colistin-Nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa* Sequence Type 654 with bla_{NDM-1} Arrives in North America. *Antimicrob Agents Chemother*. 2016;60(3):1794-1800. DOI:10.1128/AAC.02591-15
 25. Koh T.H., Khoo C.T., Tan T.T., Arshad M.A., Ang L.P., Lau L.J., et al. Multilocus Sequence Types of Carbapenem-Resistant *Pseudomonas aeruginosa* in Singapore Carrying Metallo-beta-Lactamase Genes, Including the Novel bla_{IMP-26} Gene. *J Clin Microbiol*. 2010;48(7):2563-2564. DOI:10.1128/JCM.01905-09
 26. Samuelsen O., Toleman M.A., Sundsfjord A., Rydberg J., Leegaard T.M., Walder M., et al. Molecular Epidemiology of Metallo-beta-Lactamase-Producing *Pseudomonas aeruginosa* Isolates from Norway and Sweden Shows Import of International Clones and Local Clonal Expansion. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010;54(1):346-352. DOI:10.1128/AAC.00824-09
 27. Wright L.L., Turton J.F., Hopkins K.L., Livermore D.M., Woodford N. Genetic environment of metallo-β-lactamase genes in *Pseudomonas aeruginosa* isolates from the UK. *J Antimicrob Chemother*. 2015;70(12):3250-3258. DOI:10.1093/jac/dkv263
 28. Pobiega M., Maciąg J., Chmielarczyk A., Romaniszyn D., Pomorska-Wesolowska M., Ziolkowski G., et al. Molecular characterization of carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* strains isolated from patients with urinary tract infections in Southern Poland. *Diagn Microbiol Infect Dis*. 2015;83(3):295-297. DOI:10.1016/j.diagmicrobio.2015.07.022
 29. Savinova T.A., Lazareva A.V., Shamina O.V., Kryzhanovskaya O.A., Chebotar I.V., Mayanskiy N.A. Genotypes and metallo-beta-lactamases carriage in carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolated from children in Moscow. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija*. 2018;20(4):370-374. Russian. (Савинова Т.А., Лазарева А.В., Шамина О.В., Крыжановская О.А., Чеботарь И.В., Маянский Н.А. Генотипы и носительство металло-бета-лактамаз среди карбапенеморезистентных *Pseudomonas aeruginosa*, выделенных у детей в г. Москве. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия*. 2018;20(4):370-374.)
 30. Juan C., Peña C., Oliver A. Host and Pathogen Biomarkers for Severe *Pseudomonas aeruginosa* Infections. *J Infect Dis*. 2017;215(suppl_1):S44-S51. DOI:10.1093/infdis/jiw299
 31. Sawa T., Shimizu M., Moriyama K., Wiener-Kronish J.P. Association between *Pseudomonas aeruginosa* type III secretion, antibiotic resistance, and clinical outcome: a review. *Crit Care*. 2014;18(6):668. DOI:10.1186/s13054-014-0668-9
 32. Kulasekara B.R., Kulasekara H.D., Wolfgang M.C., Stevens L., Frank D.W., Lory S. Acquisition and Evolution of the exoU Locus in *Pseudomonas aeruginosa*. *J Bacteriol*. 2006;188(11):4037-4050. DOI:10.1128/JB.02000-05