



Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

Научно-исследовательский институт антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России

**Учредитель**

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

**Издатель**

Межрегиональная ассоциация по клинической микробиологии и антимикробной химиотерапии

[www.iacsmac.ru](http://www.iacsmac.ru)

Журнал зарегистрирован Комитетом РФ по печати 30.09.1999 г. (№019273) Тираж 3000 экз.

**Подписные индексы**

По каталогу «Журналы России» на 2020 г. агентства «Роспечать»:

**82125** – для индивидуальных подписчиков;

**82126** – для организаций.

**Подписка на сайте издателя**

<https://service.iacsmac.ru>

**Адрес для корреспонденции**

214019, г. Смоленск, а/я 5.  
Тел./факс: (4812)45 06 02

Электронная почта:  
[cmac@antibiotic.ru](mailto:cmac@antibiotic.ru)

Электронная версия журнала:  
[www.cmac-journal.ru](http://www.cmac-journal.ru)

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

Мнение редакции может не совпадать с точкой зрения авторов публикуемых материалов

Ответственность за достоверность рекламных публикаций несут рекламодатели

При перепечатке ссылка на журнал обязательна

© Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия, 2020.

## Содержание

- Зайцев А.А.  
84 Письмо в редакцию

### Болезни и возбудители

- Зайцев А.А., Голухова Е.З., Мамалыга М.Л., Чернов С.А., Рыбка М.М., Крюков Е.В., Ключников И.В., Семенов В.Ю., Орлов И.Н.  
88 Эффективность пульс-терапии метилпреднизолоном у пациентов с COVID-19
- Миронов К.О., Ярыгина Е.А., Чагарян А.Н., Иванчик Н.В.  
92 Генетическая характеристика *Neisseria meningitidis*, выделенных от больных генерализованными формами менингококковой инфекции на территории Смоленской области

### Антимикробные препараты

- Веселов А.В.  
96 Таблетированная форма позаконазола: клиническая фармакология и актуальные данные практического применения в онкогематологии
- Дехнич Н.Н., Тряпышко А.А., Трушин И.В., Кузьменков А.Ю., Козлов Р.С.  
119 Нифурател в эрадикации инфекции *Helicobacter pylori* у взрослых: результаты рандомизированного, сравнительного клинического исследования
- Тапальский Д.В., Петровская Т.А., Козлова А.И., Эйдельштейн М.В.  
128 Потенцирование антибактериальной активности колистина в отношении множественно- и экстремально-резистентных клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* антибиотиками разных групп

### Антибиотикорезистентность

- Виноградова А.Г., Кузьменков А.Ю.  
137 Организация данных как основа локального мониторинга антибиотикорезистентности
- Куцевалова О.Ю., Козель Ю.Ю., Розенко Д.А., Мартынов Д.В., Коршункова О.В.  
143 Анализ антибиотикорезистентности основных грамотрицательных патогенов в стационарах Ростова-на-Дону и области

### Опыт работы

- Жаркова Л.П., Кречикова О.И., Чагарян А.Н., Козлов Р.С.  
149 Носительство *Streptococcus pneumoniae* среди организованных детей города Смоленска
- Буркальцева М.В., Лазарева А.В., Плетенева Е.А., Шабурова О.В., Крылов С.В., Михайлова Н.А., Поддубиков А.В., Лазарев С.А., Зверев В.В., Крылов В.Н.  
155 Визуализация взаимодействий бактерий разных видов, коинфицирующих легкие при муковисцидозе

## Потенцирование антибактериальной активности колистина в отношении множественно- и экстремально-резистентных клинических изолятов *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa* антибиотиками разных групп

Тапальский Д.В.<sup>1</sup>, Петровская Т.А.<sup>1</sup>, Козлова А.И.<sup>1</sup>, Эйдельштейн М.В.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> УО «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, Республика Беларусь

<sup>2</sup> НИИ антимикробной химиотерапии ФГБОУ ВО СГМУ Минздрава России, Смоленск, Россия

Контактный адрес:

Дмитрий Викторович Тапальский  
Эл. почта: tapalskiy@gsmu.by

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, антибиотикорезистентность, колистин, макролиды, карбапенемы.

Конфликт интересов: авторы заявляют об отсутствии конфликтов интересов.

Внешнее финансирование: исследование проведено без внешнего финансирования.

**Цель.** Выявить антимикробные препараты, способные потенцировать антибактериальную активность колистина в отношении множественно- и экстремально-резистентных изолятов *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* и *Pseudomonas aeruginosa*.

**Материалы и методы.** Выполнено определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) колистина в присутствии фиксированных концентраций антимикробных препаратов разных групп в отношении 272 множественно- и экстремально-резистентных изолятов *K. pneumoniae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa*. Бактерицидная активность пограничных фармакокинетических/фармакодинамических концентраций колистина, карбапенемов, кларитромицина и их комбинаций определена с использованием модифицированного метода тестирования бактерицидности различных комбинаций.

**Результаты.** Отмечено потенцирование антибактериальной активности колистина в присутствии фиксированных концентраций рифампицина (0,5 мг/л), проявляющееся снижением МПК для изолятов *K. pneumoniae* и *A. baumannii* в 4–16 раз. В присутствии фиксированных концентраций азитромицина (2 мг/л) или кларитромицина (1 мг/л) МПК колистина снижалась в 64–512 раз (*K. pneumoniae*), в 4–32 раза (*A. baumannii*), в 16–64 раза (*P. aeruginosa*). Эффект снижения МПК колистина (в 2 и более раз) в присутствии 1 мг/л кларитромицина отмечен для 85,2% изолятов *K. pneumoniae*, 86,3% изолятов *A. baumannii* и 60,2% изолятов *P. aeruginosa*. В присутствии 1 мг/л кларитромицина и 8 мг/л меропенема эффект потенцирования усиливался и отмечался в отношении 96,1% изолятов *K. pneumoniae*, 98,0% изолятов *A. baumannii* и 61,3% изолятов *P. aeruginosa*. Бактерицидный эффект был наиболее выражен для комбинаций колистин-кларитромицин-меропенем и колистин-кларитромицин-дорипенем. Он проявлялся в отношении 91,4–100% изолятов *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, 95,3% колистиночувствительных изолятов *K. pneumoniae*, 74,9–79,1% колистинорезистентных изолятов *K. pneumoniae*.

**Выводы.** Показана способность макролидов значительно потенцировать антимикробную активность колистина в отношении как колистиночувствительных, так и колистинорезистентных изолятов *K. pneumoniae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa*; эффект потенцирования усиливался в присутствии карбапенемов. Выявлен преимущественно бактерицидный эффект комбинации колистина с кларитромицином, а также колистина с кларитромицином и карбапенемами.

Original Article

## Potential of antimicrobial activity of colistin with antibiotics of different groups against multidrug- and extensively drug-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*

Tapalski D.V.<sup>1</sup>, Petrovskaya T.A.<sup>1</sup>, Kozlova A.I.<sup>1</sup>, Edelstein M.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Gomel State Medical University, Gomel, Belarus

<sup>2</sup> Institute of Antimicrobial Chemotherapy, Smolensk, Russia

Contacts:

Dmitry V. Tapalski  
E-mail: tapalskiy@gsmu.by

Key words: *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, antimicrobial resistance, colistin, macrolides, carbapenems.

**Objective.** To reveal antibiotics being capable of potentiating the antimicrobial activity of colistin against multidrug- and extensively drug-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*.

**Materials and methods.** The minimum inhibitory concentrations (MIC) of colistin alone and in combination with fixed concentrations of antibiotics of different groups were determined for 272 multidrug- and extensively drug-resistant strains of *K. pneumoniae*, *A. baumannii* and *P. aeruginosa*. Bactericidal activity of colistin, carbapenems, clarithromycin and their combinations were also determined at fixed PK/PD breakpoint concentrations of antibiotics.

Тапальский Д.В. и соавт.

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

External funding source: no external funding received.

**Results.** Potentiation of colistin antibacterial activity in the presence of fixed concentration of rifampicin (0.5 mg/L) was observed as a 4–16-fold MIC decrease for *K. pneumoniae* and *A. baumannii*. In the presence of fixed concentrations of azithromycin (2 mg/L) or clarithromycin (1 mg/L), the colistin MICs decreased 64–512 times for *K. pneumoniae*, 4–32 times for *A. baumannii*, 16–64 times for *P. aeruginosa*. Two- or more-fold reduction of MIC of colistin in the presence of 1 mg/L clarithromycin was observed for 85.2% of *K. pneumoniae*, 86.3% of *A. baumannii* and 60.2% of *P. aeruginosa* strains. In the presence of 1 mg/L clarithromycin and 8 mg/L meropenem, the potentiation effect was enhanced and was observed for an even larger percent of isolates: 96.1% *K. pneumoniae*, 98.0% *A. baumannii* and 61.3% *P. aeruginosa*. Colistin-based combinations with clarithromycin-meropenem and clarithromycin-doripenem were bactericidal against most isolates of *A. baumannii* and *P. aeruginosa* (91.4–100%), and against colistin-sensitive *K. pneumoniae* (95.3%) and colistin-resistant *K. pneumoniae* (79.1%).

**Conclusions.** The ability of macrolides to significantly potentiate the colistin antimicrobial activity against both colistin-sensitive and colistin-resistant strains of *K. pneumoniae*, *A. baumannii* and *P. aeruginosa* was shown. This potentiation effect was enhanced in the presence of carbapenems. The most potent bactericidal activity was revealed with dual and triple combinations of colistin-clarithromycin and colistin-clarithromycin-carbapenems.

## Введение

Широко распространившиеся в организациях здравоохранения Республики Беларусь карбапенеморезистентные энтеробактерии и грамотрицательные неферментирующие бактерии (*Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*) обладают ассоциированной устойчивостью к большинству не бета-лактамных антимикробных препаратов (АМП) [1, 2]. Сцепление генов карбапенемаз с другими детерминантами резистентности во многих случаях сопровождается развитием экстремальной антибиотикорезистентности (XDR – extensively drug-resistance). До настоящего времени полимиксины (колистин, полимиксин Б) сохраняют приемлемую микробиологическую активность в отношении многих карбапенеморезистентных нозокомиальных изолятов грамотрицательных бактерий. На фоне вынужденного широкого использования полимиксинов для лечения инфекций, вызванных XDR-микроорганизмами, в Беларуси отмечено появление отдельных устойчивых к ним штаммов *Klebsiella pneumoniae* со сформировавшимся состоянием полной устойчивости к АМП (PDR – pandrug-resistance) [2]. Для XDR-штаммов грамотрицательных бактерий с выявленной устойчивостью к полимиксинам рекомендуется проведение дополнительных подтверждающих исследований с использованием фенотипических и молекулярно-биологических методов [3].

При инфекциях, вызванных грамотрицательными XDR-возбудителями, использование комбинированной антибиотикотерапии, как правило, является единственно возможным эффективным способом лечения. Это связано с тем, что АМП, к которым у микроорганизма сохраняется чувствительность, имеют серьезную токсичность и/или сложную фармакокинетику, не позволяющую создавать требуемые бактерицидные концентрации в очаге инфекции [4]. В систематическом обзоре и метаанализе, рассматривающем взаимодействия полимиксинов и карбапенемов, синергидная активность данных комбинаций определена для 44% из 146 карбапенеморезистентных XDR-штаммов *K. pneumoniae*. При этом для штаммов, сохраняющих чувствительность к колистину, синергизм комбинаций карбапенемов с колистином отмечен в 55% случаев [5]. Наиболее эффективными в отношении XDR-штаммов *K. pneumoniae* в экспериментах *in vitro* были комбинации полимикси-

нов (колистина или полимиксина Б) с рифампицином. Независимо от преобладающих механизмов антибиотикорезистентности и используемых методов определения чувствительности, синергидный эффект этих комбинаций был отмечен для 100% исследуемых штаммов в экспериментах, выполненных в США, Южной Корее, Аргентине, Италии [6, 7]. Показана способность катионных пептидов – производных полимиксина, лишенных собственной антибактериальной активности, – значительно потенцировать антибактериальную активность целого ряда антибиотиков (макролидов, фузидовой кислоты, мупироцина, рифампицина) в отношении грамотрицательных бактерий [8].

Требуется проведение микробиологических исследований для поиска новых синергидных комбинаций антибиотиков, оказывающих бактерицидное действие на множественно-резистентные (MDR – multidrug-resistant) и XDR-штаммы *K. pneumoniae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa* со сформировавшейся устойчивостью к полимиксинам.

**Цель** данного исследования – выявить антибиотики, способные потенцировать антибактериальную активность колистина в отношении множественно- и экстремально-резистентных изолятов *K. pneumoniae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa*.

## Материалы и методы

Из рабочей коллекции отобрано 128 изолятов *K. pneumoniae*, 51 изолят *A. baumannii* и 93 изолята *P. aeruginosa*, выделенных в 2015–2018 гг. от госпитализированных пациентов в организациях здравоохранения Минска, Витебска, Гомеля и районных центров Гомельской области. Определение минимальных подавляющих концентраций (МПК) АМП выполняли методом последовательных микроразведений в бульоне. Двукратные последовательные разведения АМП готовили в бульоне Мюллера – Хинтона (BD, США), тестирование проводили в стерильных круглодонных 96-луночных полистироловых планшетах (Sarstedt, Германия) в соответствии с ISO 20776-1:2006 [9]. Все изоляты были устойчивы к карбапенемам (МПК меропенема > 8 мг/л) и имели фенотипы множественной

(MDR) или экстремальной (XDR) антибиотикорезистентности. У всех включенных в исследование изолятов *K. pneumoniae* и *A. baumannii* устойчивость к карбапенемам была обусловлена продукцией карбапенемаз (OXA-48, NDM, KPC, сочетание OXA-48 и NDM – у *K. pneumoniae*, OXA-40 и OXA-23 – у *A. baumannii*). Продукция металло-бета-лактамаз VIM присутствовала у 8 изолятов *P. aeruginosa*. Устойчивостью к колистину (МПК > 2 мг/л) обладали 43 изолята *K. pneumoniae* и 3 изолята *P. aeruginosa*.

Для оценки способности АМП различных групп потенцировать активность колистина в отношении колитинорезистентных и колитиночувствительных штаммов на первом этапе исследования выполнено определение МПК колистина в присутствии фиксированной концентрации второго АМП, соответствующей его пограничной фармакокинетической/фармакодинамической (ФК/ФД) концентрации. При отсутствии сведений о ФК/ФД концентрации АМП тестировали концентрацию, соответствующую пограничному значению МПК для энтеробактерий (аминогликозиды, фосфомицин, хлорамфеникол) или стафилококков (рифампицин, макролиды, ванкомицин), рекомендованную EUCAST [10].

Таким образом, определяли МПК колистина в присутствии 16 АМП: цефепима (8 мг/л), меропенема (8 мг/л), имипенема (8 мг/л), эртапенема (1 мг/л), дорипенема (2 мг/л), сульбактама (4 мг/л), гентамицина (4 мг/л), амикацина (16 мг/л), левофлоксацина (16 мг/л), фосфомицина (32 мг/л), тигециклина (0,5 мг/л), хлорамфеникола (8 мг/л), рифампицина (0,5 мг/л), азитромицина (2 мг/л), кларитромицина (1 мг/л), ванкомицина (4 мг/л). Фактор потенцирования (ФП) рассчитывали как соотношение МПК колистина к МПК колистина в присутствии фиксированной концентрации второго АМП. Исследование выполнено для 9 изолятов (по 3 изолята каждого вида микроорганизмов).

Определение микробиологической эффективности комбинаций АМП дополнительно выполнено методом «шахматной доски» в диапазоне концентраций каждого из двух антибиотиков от  $1/16 \times \text{МПК}$  до  $4 \times \text{МПК}$  [11]. Рассчитывали фракционные подавляющие концентрации (ФПК) для каждого из АМП в комбинации:

$$\begin{aligned} \text{ФПК}_A &= \text{МПК}_{AB} / \text{МПК}_A \\ \text{ФПК}_B &= \text{МПК}_{BA} / \text{МПК}_B \end{aligned}$$

где  $\text{МПК}_{AB}$  – минимальная подавляющая концентрация АМП А в присутствии АМП В,  $\text{МПК}_A$  – минимальная подавляющая концентрация АМП А без добавления второго антибиотика.

Индекс ФПК ( $\Sigma\text{ФПК}$ ) рассчитывался как сумма ФПК каждого из АМП в комбинации:

$$\Sigma\text{ФПК} = \text{ФПК}_A + \text{ФПК}_B$$

При  $\Sigma\text{ФПК} \leq 0,5$  эффект комбинации АМП оценивался как синергидный, при  $0,5 < \Sigma\text{ФПК} \leq 1$  – как аддитивный.

На втором этапе исследования для всех изолятов из выборки выполнено определение МПК колистина в при-

сутствии 1 мг/л кларитромицина, а также 1 мг/л кларитромицина и 8 мг/л меропенема.

Дополнительно проведено определение бактерицидной активности отдельных АМП и их комбинаций с использованием модифицированного метода тестирования бактерицидности различных комбинаций (Multiple combination bactericidal testing – MCBT) [12]. В отличие от оригинального метода MCBT, в котором проводится тестирование максимальных сывороточных концентраций комбинаций АМП [13, 14], в данном исследовании использовались пограничные ФК/ФД концентрации АМП (не видоспецифические), приведенные в рекомендациях EUCAST [10] и других источниках. Определяли бактерицидную активность колистина (2 мг/л), меропенема (8 мг/л), дорипенема (2 мг/л), кларитромицина (1 мг/л), а также их комбинаций (колистин + меропенем, колистин + дорипенем, колистин + кларитромицин, колистин + меропенем + кларитромицин, колистин + дорипенем + кларитромицин).

Базовые растворы всех АМП готовили из порошкообразных субстанций в асептических условиях непосредственно в день проведения экспериментов, после чего выполняли стерилизующую фильтрацию полученных растворов (фильтры Filtropur S 0.2, Sarstedt, Германия). Контроль качества определения чувствительности к АМП и их комбинациям выполняли с использованием референтных штаммов Американской коллекции типовых культур. После приготовления рабочих растворов АМП параллельно с выполнением основного исследования готовились последовательные микроразведения рабочих растворов в бульоне Мюллера – Хинтона и определялись МПК референтных штаммов *E. coli* ATCC 25922 (МПК колистина, цефепима, карбапенемов, аминогликозидов, левофлоксацина, хлорамфеникола, тигециклина) и *S. aureus* ATCC 29213 (МПК макролидов, рифампицина, ванкомицина). При получении значений МПК, соответствующих целевым значениям для референтных штаммов, приступали к оценке результатов основного исследования. Дополнительно для оценки воспроизводимости полученных результатов все исследования для колитинорезистентных карбапенемазопродуцирующих изолятов *K. pneumoniae* (определение МПК колистина в присутствии фиксированной концентрации второго АМП, определение чувствительности к комбинациям АМП методом «шахматной доски» и MCBT) выполняли в двух независимых повторах.

Статистическая обработка данных и графическая обработка результатов исследований выполнены с использованием пакета Prism 6.04 (GraphPad Software Inc.). Применялись непараметрические статистические критерии; статистически значимыми различия считали при  $p \leq 0,05$ .

## Результаты

В предварительном эксперименте выявлена выраженная способность макролидов потенцировать антибактериальную активность колистина (Таблица 1). В присутствии фиксированных концентраций азитромицина (2 мг/л) или кларитромицина (1 мг/л) МПК колистина снижалась в 64–512 раз (изоляты *K. pneumoniae*),

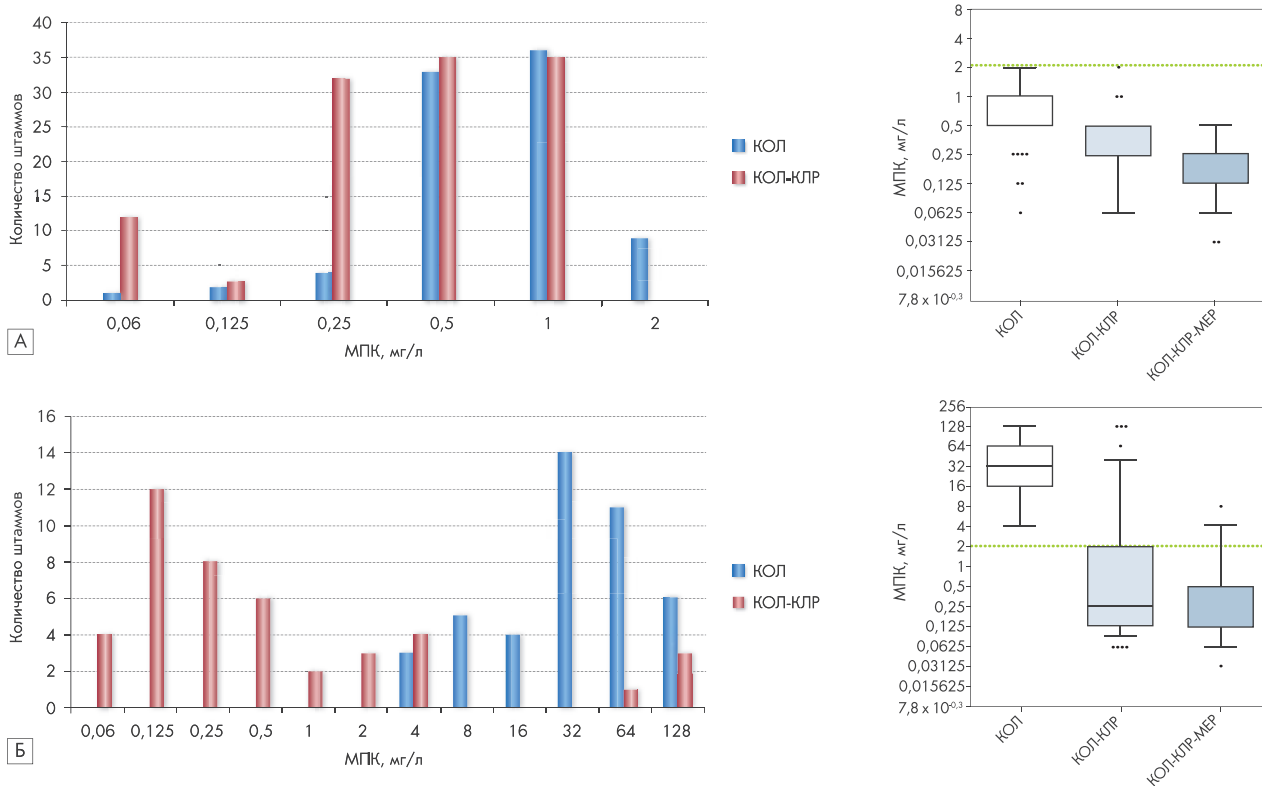
в 4–32 раза (*A. baumannii*), в 16–64 раза (*P. aeruginosa*). Также отмечено потенцирование антибактериальной активности колистина рифампицином (0,5 мг/л), проявляющееся снижением МПК для изолятов *K. pneumoniae* и *A. baumannii* в 4–16 раз. В присутствии фиксированных концентраций цефепима, карбапенемов, сульбактама, аминогликозидов, фосфомицина, тигециклина, хлорамфеникола МПК колистина не изменялась или уменьшалась на 1–2 разведения, но только для единичных изолятов.

Способность ряда АМП потенцировать антибактериальную активность колистина была наиболее выраженной для макролидов, поэтому дальнейшее развернутое исследование фокусировалось на изучении выявленной закономерности для комбинаций на основе колистина и кларитромицина на большой выборке клинических изолятов грамотрицательных MDR- и XDR-бактерий, выделенных в различных регионах Беларуси.

Синергидная активность комбинации колистина с макролидами подтверждена методом «шахматной доски». Индексы ФПК комбинации колистина с кларитромицином составили 0,023–0,094 для *K. pneumoniae*, 0,266–0,508 для *A. baumannii* и *P. aeruginosa*.

На Рисунках 1–2 представлены гистограммы распределения МПК колистина и МПК колистина в присутствии фиксированной концентрации кларитромицина (1 мг/л), а также фиксированных концентраций кларитромицина (1 мг/л) и меропенема (8 мг/л).

Эффект снижения МПК колистина (в 2 и более раз) в присутствии 1 мг/л кларитромицина отмечен для 85,2% изолятов *K. pneumoniae*, 86,3% изолятов *A. baumannii* и 60,2% изолятов *P. aeruginosa*. В присутствии 1 мг/л кларитромицина и 8 мг/л меропенема эффект потенцирования усиливался и отмечался уже в отношении 96,1% изолятов *K. pneumoniae*, 98,0% изолятов *A. baumannii* и 61,3% изолятов *P. aeruginosa*. Антагонистический эффект (увеличение МПК колистина в присутствии кларитромицина или кларитромицина и меропенема) не был отмечен ни для одного из включенных в исследование изолятов. Средние значения  $\log_2$ ФП (отражают количество двукратных разведений, на которое уменьшилась МПК колистина при добавлении фиксированной концентрации второго АМП) при внесении 1 мг/л кларитромицина составили  $1,33 \pm 0,12$  для колистиночувствительных изолятов *K. pneumoniae*,  $5,72 \pm 0,44$  для колистинорезистентных изолятов *K. pneumoniae*,



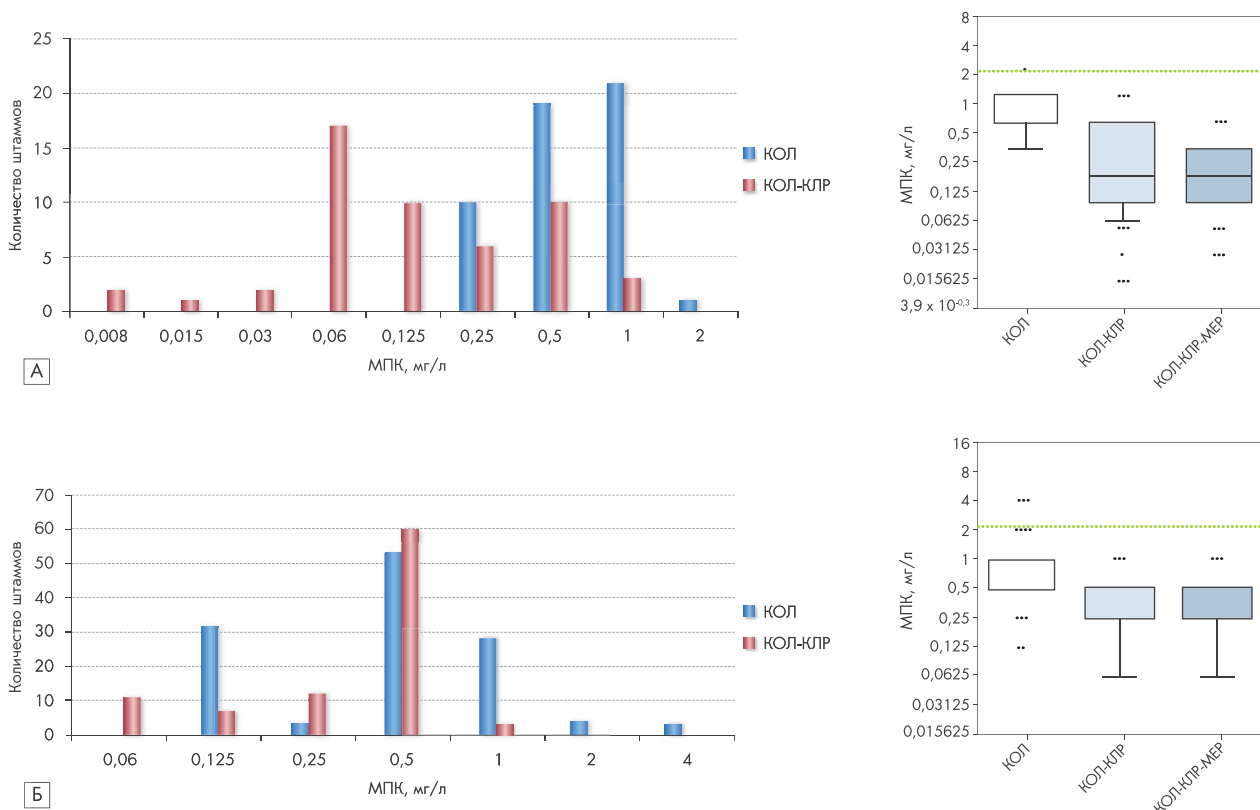
**Рисунок 1.** Распределение МПК колистина и МПК колистина в присутствии фиксированных концентраций кларитромицина (1 мг/л), кларитромицина и меропенема (1 мг/л и 8 мг/л) в отношении карбапенемазопродуцирующих изолятов *K. pneumoniae*

А – колистиночувствительные изоляты (n = 85); Б – колистинорезистентные изоляты (n = 43); КОЛ – колистин; КЛР – кларитромицин; МЕР – меропенем.

Обозначены медианы (идентичны значениям МПК<sub>50</sub>), границы коробок соответствуют 25% и 75% квартилям, усы – 10% и 90% перцентилям (идентичны значению МПК<sub>90</sub>); пунктирной линией отмечены пограничные значения МПК колистина для энтеробактерий (EUCAST v.9.0).

**Таблица 1.** Влияние фиксированных концентраций антибиотиков разных групп на МПК колистина для множественно- и экстремально-резистентных изолятов *K. pneumoniae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa*

Микроорганизм	Лаб. №	Карбапенемаза	МПК колистина (мг/л) в присутствии фиксированной концентрации второго антибиотика и фактор потенцирования (ФП)																			
			Без второго антибиотика	Цефепим, 8 мг/л	Меропенем, 8 мг/л	Мипинем, 8 мг/л	Эртапенем, 1 мг/л	Дорипенем, 2 мг/л	Сулбактам, 4 мг/л	Гентамицин, 4 мг/л	Амикацин, 16 мг/л	Левовфлоксацин, 1 мг/л	Фосфомицин, 32 мг/л	Тигецилин, 0,5 мг/л	Хлорамфеникол, 8 мг/л	Рифампицин, 0,5 мг/л	Азитромицин, 2 мг/л	Кларитромицин, 1 мг/л	Ванкомицин, 4 мг/л			
<i>K. pneumoniae</i>	36550	NDM	МПК 64	64	64	64	128	64	64	64	128	64	64	64	16	8	64	8	0,25	1	64	
<i>K. pneumoniae</i>	МК-024	ОХА-48	ФП –	1	1	1	0,5	1	1	1	0,5	1	1	1	4	8	1	8	256	64	1	
<i>K. pneumoniae</i>	БК-045	ОХА-48	ФП –	1	1	1	1	0,5	1	1	0,5	1	1	1	2	4	1	16	0,125	0,125	128	
<i>A. baumannii</i>	БА-003	ОХА-40	МПК 0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,25	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,5	0,125	0,125	0,016	0,5	
<i>A. baumannii</i>	БА-052	ОХА-40	ФП –	1	1	1	1	2	1	1	2	1	1	1	1	1	1	4	4	32	1	
<i>A. baumannii</i>	БА-057	ОХА-40	МПК 0,5	0,5	0,25	0,25	0,5	0,5	0,5	0,5	0,125	0,5	0,5	0,5	0,25	0,25	0,5	0,125	0,125	0,016	0,25	
<i>P. aeruginosa</i>	БП-049	нет	ФП –	1	2	2	1	4	1	1	1	1	1	1	2	2	1	4	4	4	2	
<i>P. aeruginosa</i>	БП-052	VIM	МПК 1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	1	0,5	0,5	0,5	0,25	1	0,25	0,5	0,031	0,016	0,5	
<i>P. aeruginosa</i>	БП-289	нет	ФП –	2	1	1	1	1	1	2	1	1	1	1	2	0,5	2	1	16	32	1	
			МПК 0,5	0,25	0,5	0,125	0,5	0,125	0,5	0,125	0,5	0,125	0,25	0,25	0,125	0,5	0,125	0,016	0,016	0,016	1	
			ФП –	2	1	4	1	4	1	4	1	4	4	2	4	1	4	1	32	32	32	2



**Рисунок 2.** Распределение МПК колистина и МПК колистина в присутствии фиксированных концентраций кларитромицина (1 мг/л), кларитромицина и меропенема (1 мг/л и 8 мг/л) в отношении множественно-резистентных изолятов *A. baumannii* и *P. aeruginosa*

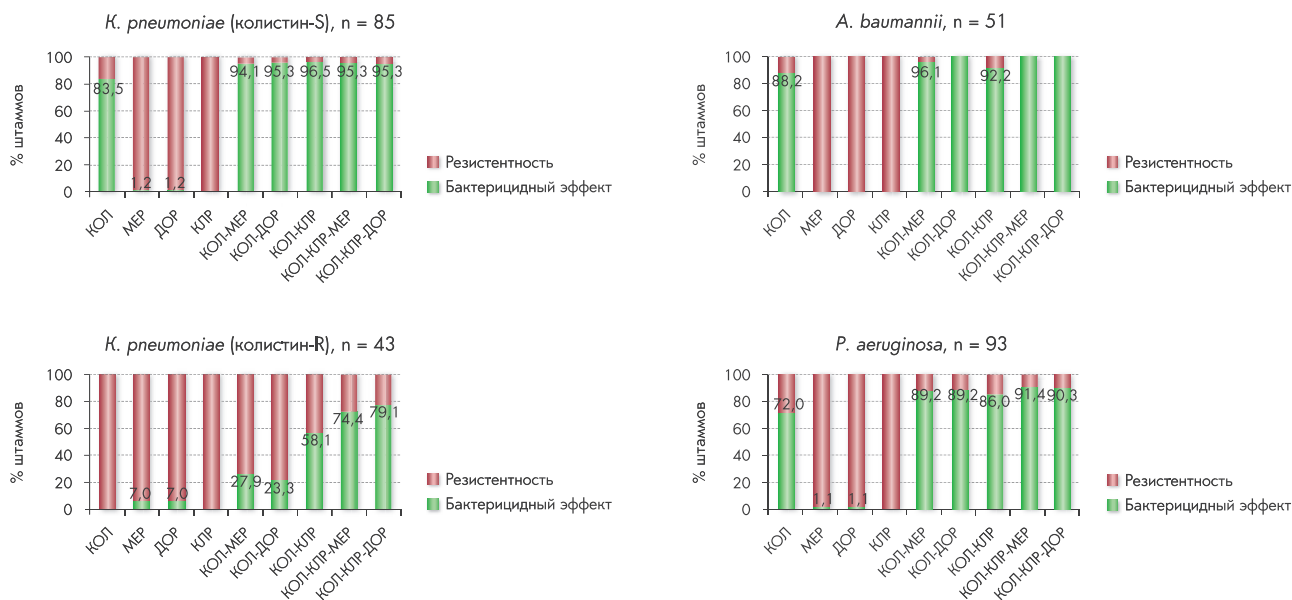
А – *A. baumannii* (n = 51); Б – *P. aeruginosa* (n = 93); КОЛ – колистин; КЛР – кларитромицин; МЕР – меропенем.

Обозначены медианы (идентичны значениям МПК<sub>50</sub>), границы коробок соответствуют 25% и 75% квартилям, усы – 10% и 90% перцентилям (идентичны значениям МПК<sub>90</sub>); пунктирной линией отмечены пограничные значения МПК колистина для *A. baumannii* и *P. aeruginosa* (EUCAST v.9.0).

2,20 ± 0,22 для изолятов *A. baumannii* и 1,01 ± 0,11 для изолятов *P. aeruginosa*. В присутствии 1 мг/л кларитромицина и 8 мг/л меропенема log<sub>2</sub>ФП значимо увеличивался и составил 2,06 ± 0,13 для колистиночувствительных изолятов *K. pneumoniae* (p < 0,001), 6,44 ± 0,39 для колистинорезистентных изолятов *K. pneumoniae* (p = 0,043), 2,24 ± 0,14 для изолятов *A. baumannii* (p = 0,859) и 1,14 ± 0,13 для изолятов *P. aeruginosa* (p = 0,012). При этом для колистинорезистентных изолятов *K. pneumoniae* добавление фиксированной концентрации кларитромицина позволило восстановить чувствительность к колистину (снизить МПК колистина до порогового значения 2 мг/л или ниже) для 35 из 43 изолятов (81,4%). Добавление фиксированных концентраций кларитромицина и меропенема увеличивало этот показатель до 83,7% (36 из 43 изолятов). Вместе с тем для 2 изолятов *K. pneumoniae*, высоко резистентных к колистину (МПК колистина 128 мг/л), потенцирующий эффект кларитромицина и комбинации кларитромицина с меропенемом не обнаруживался. При этом для 4 других изолятов *K. pneumoniae* с МПК колистина 128 мг/л отмечено снижение МПК колистина в присутствии 1 мг/л кларитромицина и 8 мг/л меропенема в 16–2048 раз.

Результаты определения бактерицидной активности отдельных АМП и их комбинаций представлены на Рисунке 3. В отношении изолятов *A. baumannii* и *P. aeruginosa*, большая часть которых сохраняла чувствительность к колистину (МПК колистина ≤ 2 мг/л) и была устойчива к карбапенемам, бактерицидная активность кларитромицина, меропенема и дорипенема отсутствовала. Бактерицидный эффект колистина проявлялся в отношении 88,2% изолятов *A. baumannii* и 72,0% изолятов *P. aeruginosa*. Бактерицидный эффект всех комбинаций на основе колистина проявлялся в отношении большего количества изолятов и был наиболее распространенным для комбинаций колистин-кларитромицин-меропенем (бактерицидность в отношении 100% изолятов *A. baumannii* и 91,4% изолятов *P. aeruginosa*) и колистин-кларитромицин-дорипенем (соответственно 100% и 90,3%). Сходные результаты получены для колистиночувствительных изолятов *K. pneumoniae*: бактерицидный эффект колистина выявлен в отношении 83,5% из них, бактерицидный эффект комбинаций на основе колистина – в отношении 94,1–96,5% изолятов.

Для колистинорезистентных изолятов *K. pneumoniae* (МПК колистина 4–128 мг/л) бактерицидная активность колистина и кларитромицина отсутствовала, бак-



**Рисунок 3.** Бактерицидная активность АМП и их комбинаций в отношении множественно- и экстремально-резистентных изолятов *K. pneumoniae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa*

КОЛ – колистин; МЕР – меропенем; ДОР – дорипенем; КЛР – кларитромицин.

теридный эффект карбапенемов отмечен в отношении единичных изолятов. Наиболее активными были комбинации с включением кларитромицина и карбапенемов, бактерицидная активность которых проявлялась в отношении 74,9–79,1% изолятов.

## Обсуждение

Эффект потенцирования антибактериальной активности колистина антибиотиками, не способными в обычных условиях проникать через наружную мембрану грамотрицательных бактерий к внутриклеточным мишеням, заслуживает более детального изучения в отношении различных видов энтеробактерий и грамотрицательных неферментирующих бактерий с множественной и экстремальной антибиотикорезистентностью. В ряде работ показана способность колистина потенцировать активность АМП, действующих на внутриклеточные мишени (рифампицина, триметоприма, гликопептидов и фторхинолонов) в отношении колистинорезистентных *K. pneumoniae*, *A. baumannii* и *P. aeruginosa* [15–17]. Ограничением указанных исследований являлось изучение преимущественно лабораторных колистинорезистентных мутантов и реципиентов *msr-1*-несущих плазмид, а также небольшое количество исследованных колистинорезистентных клинических изолятов, что может быть связано с тем, что они относительно низко представлены в бактериальных популяциях, а также со значительной трудоемкостью использованных методов. Только в одном из них изучались эффекты комбинаций колистина и макролидов при воздействии на колистинорезистентные *msr-1*-позитивные штаммы энтеробактерий. Обнаружено многократное снижение МПК макролидов (эритромицина, кларитромицина, азитроми-

цина, рокситромицина) в присутствии 2 мг/л колистина. Эффект потенцирования был максимально выражен для кларитромицина и проявлялся при клинически достижимых концентрациях АМП. Также показана эффективность комбинированной терапии колистином и кларитромицином инфекций, вызванных *msr-1*-позитивной *K. pneumoniae*, на мышинной модели [17].

В данном исследовании эффект потенцирования (снижения МПК колистина в присутствии фиксированной концентрации кларитромицина) был универсальным и проявлялся в отношении как колистиночувствительных, так и колистинорезистентных изолятов. Добавление в комбинацию карбапенемов значимо увеличивало синергидный эффект, но только для изолятов *K. pneumoniae* и *P. aeruginosa*. Добавление фиксированной концентрации кларитромицина снижало МПК колистина до порогового значения 2 мг/л или ниже у 81,4% колистинорезистентных изолятов *K. pneumoniae* и таким образом формально восстанавливало их чувствительность. Выявление единичных изолятов *K. pneumoniae*, резистентных к действию указанной комбинации (МПК колистина – 128 мг/л, МПК колистина в присутствии 1 мг/л кларитромицина – 128 мг/л), позволяет предложить наиболее вероятный механизм синергидной антибактериальной активности комбинаций колистина с макролидами. В дополнительном эксперименте была показана способность фиксированной концентрации рифампицина (1 мг/л) потенцировать действие колистина в отношении всех изолятов *K. pneumoniae* с исходными значениями МПК колистина 64–128 мг/л (данные не представлены). Для изолятов с устойчивостью к комбинации колистин-кларитромицин отмечалось снижение МПК колистина в присутствии фиксированной концентрации рифампицина в 512–2048 раз, что свидетель-



ствуется о вовлечении механизмов приобретенной устойчивости к кларитромицину.

Имеются литературные данные об обнаружении в геномах отдельных MDR-штаммов *K. pneumoniae* приобретенных детерминант резистентности к макролидам: макролид-2'-фосфотрансфераз *trpA* и *trpE*, эритромицинэстераз *ereA* и *ereB*, метилазы эритромицинорезистентности *msrE* [18–21]. Вероятно, колистин повышает эффективность макролидов, обеспечивая их проникновение в клетку через наружную мембрану, но при этом не влияет на их внутриклеточную активность. Эффект проявляется даже при воздействии небольших концентраций колистина, не способных самостоятельно вызвать лизис микробной клетки. Приобретенная резистентность, обусловленная ферментативной инактивацией макролидов, у колистинорезистентных штаммов не преодолевается сочетанным использованием кларитромицина и колистина.

Для других АМП, действующих на внутриклеточные мишени, таких как аминогликозиды и фторхинолоны, потенцирующий эффект колистина не проявлялся, что может быть связано как с наличием приобретенной устойчивости к ним у XDR-штаммов, так и со специфичностью систем внутриклеточного транспорта этих АМП.

В большинстве исследований, сравнивавших эффективность монотерапии колистином против комбинированной терапии, демонстрировались преимущества комбинированного назначения колистина с другими АМП, чаще всего карбапенемами [4, 22]. Традиционно использование комбинаций бактерицидного и бактериостатического АМП считается нежелательным из-за высокого риска потери бактерицидной активности в присутствии бактериостатического АМП и возникновения антагонистических взаимодействий [23, 24]. В доступной литературе не удалось найти информации о бактерицидности комбинаций полимиксинов и макролидов. Вместе с тем было показано антагонистическое взаимодействие кларитромицина с бета-лактамами (меропенемом, эртапенемом, цефепимом) в отношении 50–75% штаммов *P. aeruginosa* [25]. В настоящем исследовании не обнаружено антагонистических эффектов у сочетаний АМП с бактерицидным (колистин, карбапенемы) и бактериоста-

тическим (кларитромицин) действием. Более того, комбинация колистина (2 мг/л) и кларитромицина (1 мг/л) была бактерицидной в отношении 86–96,5% колистиночувствительных изолятов *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, а также 58,1% колистинорезистентных изолятов *K. pneumoniae*. При включении в комбинацию второго бактерицидного АМП (меропенем 8 мг/л или дорипенем 2 мг/л) бактерицидная активность проявлялась уже в отношении 74,4–79,1% колистинорезистентных изолятов *K. pneumoniae*.

## Заключение

Полученные результаты открывают перспективы для клинического использования альтернативных схем комбинированной антибиотикотерапии инфекций, вызванных колистинорезистентными XDR- и PDR-штаммами *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, основанных на включении АМП, не способных в обычных условиях проникать через наружную мембрану в цитоплазму грамотрицательных микроорганизмов. Доступ указанных АМП к внутриклеточным мишеням открывается в присутствии даже небольших концентраций колистина, часто не превышающих его ФК/ФД концентрации, а эффект комбинированного воздействия является бактерицидным и проявляется даже в отношении колистинорезистентных штаммов с высокими значениями МПК.

Из-за природной резистентности селективное давление макролидных антибиотиков на энтеробактерии и грамотрицательные неферментирующие бактерии крайне невелико. Вместе с тем в условиях вынужденного широкого использования колистина значительно выросла интенсивность накопления генетических детерминант резистентности к нему в бактериальных популяциях. Вероятно, сочетанное использование полимиксинов и макролидов позволит не только преодолеть антибиотикорезистентность грамотрицательных микроорганизмов, но и несколько замедлит дальнейшую селекцию антибиотикорезистентных штаммов. Требуется проведение клинических исследований для обоснования эффективности комбинированной антибиотикотерапии с использованием полимиксинов, карбапенемов и макролидов.

## Литература

1. Shek E.A., Tapalski D.V., Skleenova E.Yu., Sukhorukova M.V., Karpov I.A., Edelstein M.V. Genetic diversity of *Acinetobacter baumannii* strains producing carbapenemases in Belarus: the role of "international high-risk clones" in the spread of resistance to carbapenems. *Immunopatologija, allergologija, infektologija*. 2018;2:59-64. Russian (Шек Е.А., Тапальский Д.В., Склеенова Е.Ю., Сухорукова М.В., Карпов И.А., Эйдельштейн М.В. Генетическое разнообразие штаммов *Acinetobacter baumannii*, продуцирующих карбапенемазы, в Беларуси: роль «международных клонов высокого риска» в распространении устойчивости к карбапенемам. *Имунопатология, аллергология, инфектология*. 2018;2:59-64.) DOI: 10.14427/jipai.2018.2.59
2. Tapalski D.V., Osipov V.A., Yevseyenko E.O., Savelyeva A.K., Kozlovskaya I.V., Kozik A.P., et al. Metallo-beta-lactamases and other carbapenemases among extreme antibiotic-resistant *Klebsiella pneumoniae*: occurrence in Belarus. *Zdravoohranenie*. 2017;3:40-47. Russian (Тапальский Д.В., Осипов В.А., Евсеенко Е.О., Савельева А.К., Козловская И.В., Козик А.П. и соавт. Металло-бета-лактамазы и карбапенемазы экстремально-антибиотикорезистентных *Klebsiella pneumoniae*: распространение в Беларуси. *Здравоохранение*. 2017;3:40-47.)
3. Chew K.L., La M.V., Lin R.T.P., Teo J.W.P. Colistin and polymyxin B susceptibility testing for carbapenem-resistant and *mcr*-positive Enterobacteriaceae: comparison of Sensititre, MicroScan, Vitek 2, and Etest with broth microdilution. *J Clin Microbiol*. 2017;55(9):2609-2616. DOI: 10.1128/JCM.00268-17
4. Zavascki A.P., Bulitta J.B., Landersdorfer C.B. Combination therapy for carbapenem-resistant Gram-negative bacteria. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2013;11(12):1333-1353. DOI: 10.1586/14787210.2013.845523

5. Zusman O., Avni T., Leibovici L., Adler A., Friberg L., Stergiopoulou T., et al. Systematic review and meta-analysis of *in vitro* synergy of polymyxins and carbapenems. *Antimicrob Agents Chemother.* 2013;57(10):5104-5111. DOI: 10.1128/AAC.01230-13
6. Nastro M., Rodriguez C.H., Monge R., Zintgraff J., Neira L., Rebollo M., et al. Activity of the colistin-rifampicin combination against colistin-resistant, carbapenemase-producing Gram-negative bacteria. *J Chemother.* 2014;26(4):211-216. DOI: 10.1179/1973947813Y.0000000136
7. Pankey G.A., Ashcraft D.S. Detection of synergy using the combination of polymyxin B with either meropenem or rifampin against carbapenemase-producing *Klebsiella pneumoniae*. *Diagn Microbiol Infect Dis.* 2011;70(4):561-564. DOI: 10.1016/j.diagmicrobio.2011.05.003
8. Corbett D., Wise A., Langley T., Skinner K., Trimby E., Birchall S., et al. Potentiation of antibiotic activity by a novel cationic peptide: potency and spectrum of activity of SPR741. *Antimicrob Agents Chemother.* 2017;61(8):e00200-17. DOI: 10.1128/AAC.00200-17
9. ISO 20776-1:2006 Clinical laboratory testing and *in vitro* diagnostic test systems – Susceptibility testing of infectious agents and evaluation of performance of antimicrobial susceptibility test devices – Part 1: Reference method for testing the *in vitro*, 2006. Available at: [www.iso.org/standard/41630.html](http://www.iso.org/standard/41630.html). Accessed October 01, 2019.
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/](http://www.eucast.org/clinical_breakpoints/). Accessed October 01, 2019.
11. Laishram S., Pragasam A.K., Bakthavatchalam Y.D., Veeraghavan B. An update on technical, interpretative and clinical relevance of antimicrobial synergy testing methodologies. *Indian J Med Microbiol.* 2017;35(4):445-468. DOI: 10.4103/ijmm.UMM\_17\_189
12. Tapalski D.V. Susceptibility to antibiotic combinations among nosocomial carbapenemase-producing Gram-negative bacteria isolated in Belarus. *Klinicheskaja mikrobiologija i antimikrobnaja himioterapija.* 2018;20(3):182-191. Russian. (Тапальский Д.В. Чувствительность к комбинациям антибиотиков продуцирующих карбапенемазы нозокомиальных штаммов грамотрицательных бактерий, выделенных в Беларуси. *Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.* 2018;20(3):182-191.) DOI: 10.36488//cmac.2018.3.182-191
13. Aaron S.D., Ferris W., Henry D.A., Speert D.P., Macdonald N.E. Multiple combination bactericidal antibiotic testing for patients with cystic fibrosis infected with *Burkholderia cepacia*. *Am J Respir Crit Care Med.* 2000;161(4 Pt 1):1206-1212. DOI: 10.1164/ajrccm.161.4.9907147
14. Aaron S.D., Vandemheen K.L., Ferris W., Fergusson D., Tullis E., Haase D., et al. Combination antibiotic susceptibility testing to treat exacerbations of cystic fibrosis associated with multiresistant bacteria: a randomised, double-blind, controlled clinical trial. *Lancet.* 2005;366(9484):463-471. DOI: 10.1016/S0140-6736(05)67060-2
15. Kadar B., Kocsis B., Toth A., Damjanova I., Szasz M., Kristof K., et al. Synergistic antibiotic combinations for colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2013;60(2):201-209. DOI: 10.1556/AMicr.60.2013.2.10
16. Vidailac C., Benichou L., Duval R.E. *In vitro* synergy of colistin combinations against colistin-resistant *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, and *Klebsiella pneumoniae* isolates. *Antimicrob Agents Chemother.* 2012;56(9):4856-4861. DOI: 10.1128/AAC.05996-11
17. MacNair C.R., Stokes J.M., Carfrae L.A., Fiebig-Comyn A.A., Coombes B.K., Mulvey M.R., et al. Overcoming *mcr-1* mediated colistin resistance with colistin in combination with other antibiotics. *Nat Commun.* 2018;9(1):458. DOI: 10.1038/s41467-018-02875-z
18. Francisco G.R., Bueno M.F.C., Cerdeira L., Lincopan N., lenne S., Souza T.A., et al. Draft genome sequences of KPC-2- and CTX-M-15-producing *Klebsiella pneumoniae* ST437 isolated from a clinical sample and urban rivers in Sao Paulo, Brazil. *J Glob Antimicrob Resist.* 2019;16:74-75. DOI: 10.1016/j.jgar.2018.12.003
19. Lomonaco S., Crawford M.A., Lascols C., Timme R.E., Anderson K., Hodge D.R., et al. Resistome of carbapenem- and colistin-resistant *Klebsiella pneumoniae* clinical isolates. *PLoS One.* 2018;13(6):e0198526. DOI: 10.1371/journal.pone.0198526
20. Weng X.B., Mi Z.H., Wang C.X., Zhu J.M. Draft genome sequence of a *Klebsiella pneumoniae* strain (new sequence type 2357) carrying Tn3926. *Genome Announc.* 2016;4(5):e00986-16. DOI: 10.1128/genomeA.00986-16
21. Yang Y., Higgins C.H., Rehman I., Galvao K.N., Brito I.L., Bicalho M.L., et al. Genomic diversity, virulence, and antimicrobial resistance of *Klebsiella pneumoniae* strains from cows and humans. *Appl Environ Microbiol.* 2019;85(6):e02654-18. DOI: 10.1128/AEM.02654-18
22. Abdelsalam M.F.A., Abdalla M.S., El-Abhar H.S.E. Prospective, comparative clinical study between high-dose colistin monotherapy and colistin-meropenem combination therapy for treatment of hospital-acquired pneumonia and ventilator-associated pneumonia caused by multidrug-resistant *Klebsiella pneumoniae*. *J Glob Antimicrob Resist.* 2018;15:127-135. DOI: 10.1016/j.jgar.2018.07.003
23. Eeek S.D. Principles and problems of combined antibiotic therapy. *Postgrad Med J.* 1956;32(396):324-327. DOI: 10.1136/pgmj.32.369.324
24. Ocampo P.S., Lazar V., Papp B., Arnoldini M., Abel zur Wiesch P., Busa-Fekete R., et al. Antagonism between bacteriostatic and bactericidal antibiotics is prevalent. *Antimicrob Agents Chemother.* 2014;58(8):4573-4582. DOI: 10.1128/AAC.02463-14
25. Kadar B., Szasz M., Kristof K., Pesti N., Krizsan G., Szentandrassy J., et al. *In vitro* activity of clarithromycin in combination with other antimicrobial agents against biofilm-forming *Pseudomonas aeruginosa* strains. *Acta Microbiol Immunol Hung.* 2010;57(3):235-245. DOI: 10.1556/AMicr.57.2010.3.8