

УЧРЕЖДЕНИЕ ОБРАЗОВАНИЯ  
«БЕЛОРУССКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ  
МЕДИЦИНСКИЙ УНИВЕРСИТЕТ»

Объект авторского права

УДК 579.84: [616.15-022]-07-08:615.281.9(043.3)

**БОНДА**  
**Надежда Александровна**

**ИНФЕКЦИИ КРОВОТОКА, ВЫЗВАННЫЕ  
ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ:  
ЭТИОТРОПНАЯ ТЕРАПИЯ И ИНФЕКЦИОННЫЙ КОНТРОЛЬ**

Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук

по специальности 03.02.03 – микробиология

Минск, 2023

Научная работа выполнена в учреждении образования «Гомельский государственный медицинский университет»

**Научный руководитель:** **Стома Игорь Олегович**, доктор медицинских наук, профессор, ректор Учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет»

**Официальные оппоненты:** **Жаворонок Сергей Владимирович**, доктор медицинских наук, профессор, профессор кафедры инфекционных болезней Учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет»

**Генералов Игорь Иванович**, доктор медицинских наук, профессор, заведующий кафедрой клинической микробиологии Учреждения образования «Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет»

**Оппонирующая организация:** Государственное учреждение «Республиканский научно-практический центр эпидемиологии и микробиологии»

Защита состоится 5 декабря 2023 года в 12.00 на заседании совета по защите диссертаций Д 03.18.04 при учреждении образования «Белорусский государственный медицинский университет» по адресу: 220083, г. Минск, пр-т Дзержинского, 83, e-mail: uchsovet@bsmu.by, тел. (+375 17) 302 16 21.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Учреждения образования «Белорусский государственный медицинский университет».

Автореферат разослан \_\_\_\_\_ ноября 2023 года.

Ученый секретарь совета  
по защите диссертаций Д 03.18.04,  
кандидат медицинских наук, доцент



А.П. Музыченко

## ВВЕДЕНИЕ

Инфекции кровотока являются одной из сложных проблем современной медицины, актуальность которой определяется ростом количества пациентов с данной патологией, высокой летальностью и значительными экономическими затратами, связанными с лечением. Ежегодно регистрируется от 113 до 204 эпизодов инфекции кровеносного русла на 100 000 населения [Kern W.V., et al., 2020, с. 151]. Основное количество инфекций кровотока возникает у пациентов, находящихся на стационарном лечении в отделениях реанимации и интенсивной терапии, гематологии, онкологии, кардиохирургии. Срок госпитализации пациентов в связи с развитием инфекций кровотока может удлиняться на 7–14 суток, а летальность пациентов с данной патологией составляет 14–38% [Nielsen S.L., et al., 2016].

Этиология инфекций кровотока претерпела значительные изменения в связи с увеличением использования инвазивных лечебно-диагностических процедур, иммуносупрессивных препаратов, преобладанием в популяции лиц пожилого возраста, формированием среди микроорганизмов множественной устойчивости к антибиотикам [Claeys K.C., et al., 2020, с. 4]. Таксономическая структура выделенных патогенов зависит от профиля стационара и принятых в нем стандартов терапии основного заболевания и инфекционных осложнений. В многоцентровых исследованиях показано, что среди этиологических агентов инфекций кровотока частота выделения грамотрицательных бактерий может составлять от 25 до 76% с преобладанием штаммов *E. coli*, *K. pneumoniae* и неферментирующих бактерий. Серьезную озабоченность вызывает распространение среди грамотрицательных бактерий устойчивости к карбапенемам [Diekema D.J., et al., 2019, с. 2].

Сокращение времени до начала антибактериальной терапии имеет решающее значение для выживаемости пациентов. Несвоевременное назначение адекватной антибиотикотерапии приводит к увеличению смертности септических пациентов [Claeys K.C., et al., 2020, с.1; Evans L., et al., 2021, с. 1186; Evans L., et al., 2021, с. 1191; Teshome Besu F., et al., 2021, с. 262].

Микробиологические исследования – основа инфекционного контроля и залог успешной терапии инфекций кровотока. Использование нами разработанной лабораторной информационной системы (ЛИС) автоматизированное рабочее место (АРМ) врача-бактериолога «Клиническая микробиология», позволило получить результаты, изложенные в данной диссертации.

## ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

### **Связь работы с крупными научными программами, темами**

Работа выполнялась в рамках задания «Изучение биологических и молекулярно-генетических механизмов устойчивости к полимиксидам у экстремально-антибиотикорезистентных грамотрицательных бактерий и обоснование комбинированной антибиотикотерапии вызываемых ими инфекций» ГПНИ «Фундаментальные и прикладные науки – медицина», № госрегистрации 20200311 от 12.03.2020, срок выполнения 01.01.2020–30.06.2021 гг.

**Цель исследования:** усовершенствовать систему микробиологического мониторинга на основании установленного видового состава, факторов вирулентности и устойчивости к антибактериальным лекарственным средствам грамотрицательных бактерий-возбудителей инфекций кровотока для оптимизации этиотропной терапии.

### **Задачи исследования**

1. Оценить этиологическую структуру возбудителей инфекций кровотока и их антибиотикорезистентность у госпитализированных пациентов.

2. Определить генетические детерминанты антибиотикорезистентности у грамотрицательных микроорганизмов-возбудителей инфекций кровотока.

3. Оценить чувствительность к новым ингибитор-защищенным цефалоспоридам у экстремально-антибиотикорезистентных штаммов грамотрицательных микроорганизмов-возбудителей инфекций кровотока.

4. Усовершенствовать систему микробиологического мониторинга за циркуляцией возбудителей инфекций кровотока и их антибиотикорезистентностью.

**Объект исследования:** клинически значимые штаммы микроорганизмов, выделенные из крови пациентов, находящихся на лечении в больничных организациях здравоохранения.

**Предмет исследования:** этиологическая структура инфекций кровотока; устойчивость грамотрицательных возбудителей инфекций кровотока к антибактериальным лекарственным средствам, ее механизмы и распространенность; молекулярно-биологические механизмы вирулентности и антибиотикорезистентности грамотрицательных возбудителей инфекций кровотока.

### **Научная новизна**

Впервые в Беларуси показана возросшая роль *K. pneumoniae* с множественной и экстремальной антибиотикорезистентностью в этиологии

инфекций кровотока. На фоне пандемии новой коронавирусной инфекции (COVID-19) штаммы *K. pneumoniae* по частоте выделения из крови (43,8%) занимали 1-е место среди грамотрицательных бактерий.

Впервые установлены высокие уровни резистентности ключевых грамотрицательных возбудителей инфекций кровотока (*K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*) к карбапенемам, цефалоспорином III–IV поколений, аминогликозидам, фторхинолонам. Доказана ведущая роль карбапенеморезистентных штаммов *K. pneumoniae* с множественной и экстремальной устойчивостью к антибиотикам в этиологической структуре инфекций кровотока.

Впервые показано преобладание грамотрицательных бактерий с множественной и экстремальной антибиотикорезистентностью в этиологии инфекций кровотока у пациентов с онкопатологией, инфекциями мочевыделительной системы, сепсисом, среди которых чаще всего обнаруживались штаммы *K. pneumoniae*.

Выявлена высокая активность цефтазидима/авибактама в отношении выделенных из крови штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих сериновые карбапенемазы ОХА-48 и КРС. Установлены генетические детерминанты вирулентности и экстремальной антибиотикорезистентности инвазивных изолятов *K. pneumoniae*.

Впервые в Республике Беларусь показано сокращение времени проведения микробиологического исследования в среднем на 18–24 ч при использовании разработанной лабораторной информационной системы АРМ врача-бактериолога «Клиническая микробиология».

### **Положения, выносимые на защиту**

1. В этиологической структуре инфекций кровотока за последние 10 лет доля энтеробактерий (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *Proteus spp.*) увеличилась с 18,9% до 23,7%,  $p=0,001$ . *K. pneumoniae* была 3-м по частоте возбудителем инфекций кровотока после *S. aureus* и коагулазонегативных стафилококков и выделялась в 14,6% случаев,  $p<0,001$ . В период пандемии COVID-19 штаммы *K. pneumoniae* занимали 1-е место по частоте выделения (43,8%) среди грамотрицательных бактерий. Грамотрицательные бактерии были основными возбудителями септических состояний у пациентов с онкопатологией (63,1%), сепсисом (47,5%), инфекцией мочевыделительной системы (48,1%).

2. Инвазивные изоляты ключевых грамотрицательных бактерий (*K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*) имели высокие уровни резистентности к карбапенемам, цефалоспорином III–IV поколений, аминогликозидам, фторхинолонам. Устойчивость к карбапенемам

преимущественно обусловлена выработкой карбапенемаз. Все штаммы *A. baumannii* имели гены ОХА-карбапенемаз ( $bla_{\text{ОХА-23}}$  – 3,3%,  $bla_{\text{ОХА-40}}$  – 96,7%). У 48,2% штаммов *K. pneumoniae* выявлены гены  $bla_{\text{ОХА-48}}$ , у 14,8% –  $bla_{\text{КРС}}$ , у 32,6% –  $bla_{\text{NDM}}$ , у 4,4% одновременно обнаружены гены  $bla_{\text{ОХА-48}}$  и  $bla_{\text{NDM}}$ . Инвазивные штаммы *K. pneumoniae*, представленные сиквенс-типами ST512 и ST395, принадлежащими к клонам высокого эпидемического риска.

3. Показана высокая микробиологическая активность цефтазидима/авибактама в отношении инвазивных штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих сериновые карбапенемазы ОХА-48 и КРС, и отсутствие активности в отношении продуцентов металло- $\beta$ -лактамазы (МБЛ) NDM. Выявленное у 37,0% инвазивных штаммов *K. pneumoniae* генов  $bla_{\text{NDM}}$  не позволяет рекомендовать эмпирическое применение цефтазидима/авибактама для терапии тяжелых внутрибольничных инфекций кровотока, а требует проведения микробиологического исследования с определением чувствительности к нему или с детекцией генов карбапенемаз.

4. Разработанная лабораторная информационная система АРМ врача-бактериолога «Клиническая микробиология» обеспечивает оперативную электронную передачу результатов диагностических исследований (в течение 1 ч от момента завершения исследования), что сокращает проведение микробиологического исследования в среднем на 18–24 ч, позволяет получать доступ к результатам микробиологических исследований в каждой конкретной организации здравоохранения, а также к систематизированным упорядоченным данным по микробному пейзажу и профилям антибиотикорезистентности микроорганизмов, циркулирующих в организациях здравоохранения на региональном уровне.

### **Личный вклад соискателя ученой степени**

Совместно с научным руководителем определены тема, цель, задачи диссертационного исследования, группы, характеристики, объем выборок, используемые методы. Систематизация и составление электронных баз данных, их обработка и анализ, оценка и обобщение полученных результатов, написание всех глав диссертации, подготовка иллюстраций и таблиц, разработка дизайна графического представления результатов проведена лично соискателем. Совместно с научным руководителем сформулированы и оформлены положения, выносимые на защиту, выводы, рекомендации по практическому применению.

Экспериментальные исследования выполнялись диссертантом на базе микробиологической лаборатории государственного учреждения «Гомельский областной центр гигиены, эпидемиологии и общественного

здоровья», научно-исследовательской лаборатории и кафедры микробиологии, вирусологии и иммунологии учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет». Соискателем самостоятельно проведены исследования крови на стерильность по выделению гемокультур ручным методом, а также с использованием геманализатора BacT/ALERT 3D [4–А, 5–А, 7–А, 11–А, 15–А–18–А], определена чувствительность выделенных инвазивных изолятов к антимикробным препаратам автоматизированным методом с использованием анализатора VITEK 2 Compact [1–А–3–А, 5–А–8–А, 15–А–18–А], выявлены гены резистентности к карбапенемным антибиотикам методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) [3–А, 5–А, 6–А, 9–А, 10–А, 12–А]. Автор принимала непосредственное участие в определении чувствительности инвазивных штаммов *K. pneumoniae* к цефтазидиму/авибактаму [8–А, 18–А], генетических детерминант резистентности и вирулентности инвазивных штаммов *K. pneumoniae* [9–А, 10–А].

Автором самостоятельно разработана лабораторная информационная система АРМ врача-бактериолога «Клиническая микробиология» [10–А, 13–А, 14–А].

Все научные результаты и положения, изложенные в диссертации, автором получены лично. Основные научные результаты исследований написаны в соавторстве и представлены в опубликованных статьях в рецензируемых журналах [1–А–10–А], в рецензируемых сборниках [11–А – 15–А], тезисах научных докладов [16–А–18–А].

#### **Апробация диссертации и информация об использовании ее результатов**

Результаты диссертационного исследования представлены и обсуждены на Всероссийском конгрессе по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии «XXIV Кашкинские чтения» (Санкт-Петербург, 09–11.06.2021), VII Внеочередном онлайн-Конгрессе Международной общественной организации «Евро-Азиатское общество по инфекционным болезням» (Санкт-Петербург, 19–21.05.2021), II республиканской научно-практической конференции с международным участием «Непрерывное профессиональное образование и аттестация медицинских работников: вызовы времени» (Гомель, 23–24.09.2021), 32-м Европейском конгрессе по клинической микробиологии и инфекционным болезням «Portugal ECCMID 2022» (Лиссабон, 23–26.04.2022), международной научно-практической конференции «Современные аспекты инфекционных болезней и микробиологии» (Гомель, 14–15.09.2022),

Республиканской научно-практической конференции «Современные аспекты гигиены, эпидемиологии и профилактической медицины», посвященной 100-летию санитарно-эпидемиологической службы Гомельской области (Гомель, 04.11.2022).

Разработана лабораторная информационная система – автоматизированное рабочее место врача-бактериолога «Клиническая микробиология», которая внедрена в лабораторный процесс по разделу клинических микробиологических исследований в 4 зональных центрах гигиены и эпидемиологии («Мозырский зональный ЦГЭ», «Речицкий зональный ЦГЭ», «Рогачевский зональный ЦГЭ», «Светлогорский зональный ЦГЭ») и 13 районных ЦГЭ («Брагинский районный ЦГЭ», «Буда-Кошелевский районный ЦГЭ», «Ветковский районный ЦГЭ», «Добрушский районный ЦГЭ», «Ельский районный ЦГЭ», «Житковичский районный ЦГЭ», «Жлобинский районный ЦГЭ», «Калинковичский районный ЦГЭ», «Лельчицкий районный ЦГЭ», «Октябрьский районный ЦГЭ», «Петриковский районный ЦГЭ», «Хойникский районный ЦГЭ», «Чечерский районный ЦГЭ»).

В Республиканскую коллекцию патогенных биологических агентов (ПБА) ГУ «Республиканский научно-практический центр (РНПЦ) эпидемиологии и микробиологии» депонированы 2 выделенных из крови экстремально-антибиотикорезистентных штамма *K. pneumoniae* (номера депонентов: РКПБА-Б-613, РКПБА-Б-617).

### **Опубликованность результатов диссертации**

По материалам и полученным результатам диссертации в соавторстве опубликовано 10 статей в рецензируемых научных журналах, включенных в перечень научных изданий Республики Беларусь для опубликования результатов диссертационных исследований, соответствующих пункту 19 Положения о присуждении ученых степеней и присвоении ученых званий (общий объем 6,1 авторских листа), включая 3 статьи в научных журналах, выпускаемых в Российской Федерации, а также включенных в международную библиографическую базу Scopus, 5 статей и 3 тезиса докладов в журналах и сборниках научных трудов и материалов конференций (общий объем 1,9 авторских листа). Общий объем опубликованных материалов – 8,0 авторских листов.

### **Структура и объем диссертации**

Диссертация состоит из введения, общей характеристики работы, главы аналитического обзора литературы, главы описания материалов и



методов исследования, 3 глав результатов собственных исследований, заключения, списка использованных источников и приложений.

Список использованных источников (библиографический список, список публикаций соискателя) занимает 14 страниц и содержит 26 русскоязычных источников и 94 работы иностранных авторов, а также 18 публикаций соискателя.

Текст диссертации занимает 93 страницы, работа иллюстрирована 13 таблицами, 16 рисунками (13 страниц). В приложениях представлены 17 актов о внедрении лабораторной информационной системы Автоматизированное рабочее место врача-бактериолога «Клиническая микробиология», 2 удостоверения о депонировании в Республиканскую коллекцию патогенных биологических агентов РНПЦ эпидемиологии и микробиологии штаммов *Klebsiella pneumoniae* (продуцентов карбапенемаз ОХА-48, NDM), приложения занимают 19 страниц.

## ОСНОВНАЯ ЧАСТЬ

### Материалы и методы исследования

В исследование включены клинически значимые штаммы микроорганизмов, выделенные из крови пациентов, на стационарном лечении в ОЗ г. Гомеля и Гомельской области: 477 положительных гемокультур (январь 2011 г. – декабрь 2014 г.), 789 положительных гемокультур (январь 2016 г. – декабрь 2020 г.). Гемокультуривирование проводили с использованием 2-фазной среды HiCombi (HiMedia, Индия), с применением автоматического геманализатора BacT/ALERT 3D (BioMerieux, Франция).

Для 290 штаммов грамотрицательных бактерий определены уровни антибиотикорезистентности с применением автоматического микробиологического анализатора VITEK 2 Compact (BioMerieux, Франция). Дополнительно проведен сравнительный анализ этиологической структуры и профилей резистентности 176 положительных гемокультур, выделенных в 2020 г. в условиях пандемии COVID-19. Контрольную группу составил 171 изолят положительных гемокультур, изученных в 2019 г.

Для 249 штаммов положительных гемокультур грамотрицательных бактерий с множественной и/или экстремальной устойчивостью к антибиотикам (135 штаммов *K. pneumoniae*, 91 штамм *A. baumannii* и 23 штамма *P. aeruginosa*) определены гены метало- $\beta$ -лактамаз, а также сериновых методом ПЦР на диагностических наборах «АмплиСенс» («Центральный научно-исследовательский институт эпидемиологии», Россия. Амплификацию с гибридационно-флуоресцентной детекцией в режиме «реального времени» проводили на планшетном амплификаторе CFX96 Touch («Applied», США).

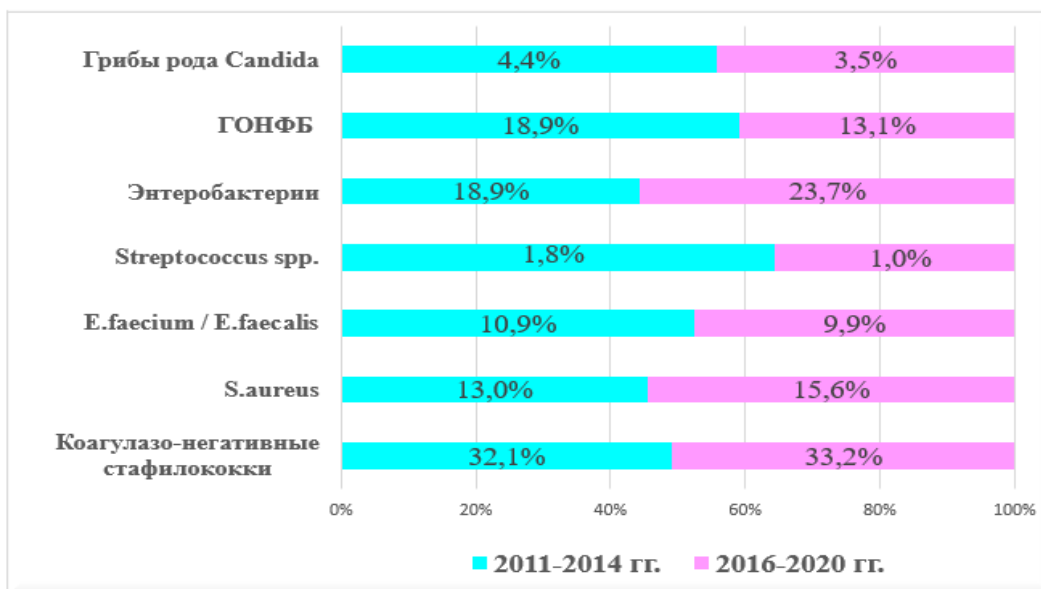
Для 23 гемокультур *K. pneumoniae* с подтвержденной продукцией карбапенемаз определены минимальные подавляющие концентрации (МПК) цефтазидима/авибактама, цефтолозана/тазобактама методом микро-разведений в бульоне. Тестирование по определению чувствительности проводили на планшетах Sensititre («Thermo Fisher Scientific», США).

Для 2 карбапенемрезистентных множественно-антибиотикорезистентных положительных гемокультур *K. pneumoniae*, а также 2 чувствительных к карбапенемам инвазивных штаммов *K. pneumoniae* выполнено полногеномное секвенирование на платформе Illumina MiSeq. Сборку генома до уровня контигов производили с помощью приложения SPAdes Genome Assembler на сервисе Illumina BaseSpace Sequence Hub и набора программ в среде Linux. Оценку качества сборки генома проводили с помощью сервиса QUAST. Аннотацию геномных последовательностей выполняли с помощью программного пакета Unipro UGENE v.1.29.0. Определение принадлежности штамма к сиквенстипу осуществлялось сравнением результатов секвенирования с последовательностями, приведенными в международной базе данных Института Пастера. Определение генетических детерминант вирулентности и резистентности выполняли с помощью веб-ресурсов: PlasmidFinder 2.1, VirulenceFinder-2.0, ResFinder v4.1, комплексная база данных по исследованиям антибиотиков (Comprehensive Antibiotic Research Database, CARD).

Статистическую обработку данных проводили при помощи программы Statistica 10.0. Проверку соответствия вида распределения количественных признаков модели осуществляли с помощью критерия Шапиро – Уилка. Описание нормально распределенных количественных признаков представляли в виде среднего значения и стандартного отклонения ( $M \pm sd$ ). Для выявления связи между независимыми группами качественных признаков использовался критерий  $\chi^2$  Пирсона, критерий  $\chi^2$  с поправкой Йетса или точный критерий Фишера. Уровень значимости ( $\alpha$ ) принят равным 0,05.

### **Этиологическая структура инфекции кровотока**

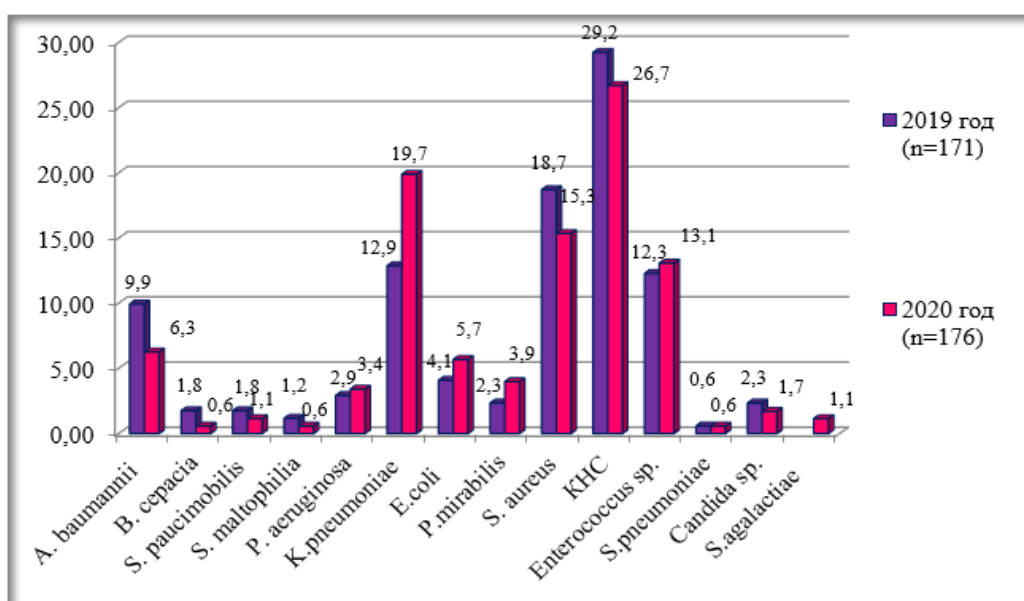
За последние 10 лет произошло увеличение доли энтеробактерий (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *Proteus spp.*) в общей этиологической структуре инфекций кровотока с 18,9% до 23,7%,  $p=0,001$  (рисунок 1). Преобладали штаммы *K. pneumoniae* – 115 культур (62,0%). В общей этиологической структуре *K. pneumoniae* была 3-м по частоте возбудителем инфекций кровотока после *S. aureus* и коагулазонегативных стафилококков и выделялась в 14,6% случаев,  $p<0,001$ .



**Рисунок 1 – Этиологическая структура возбудителей инфекции кровотока**

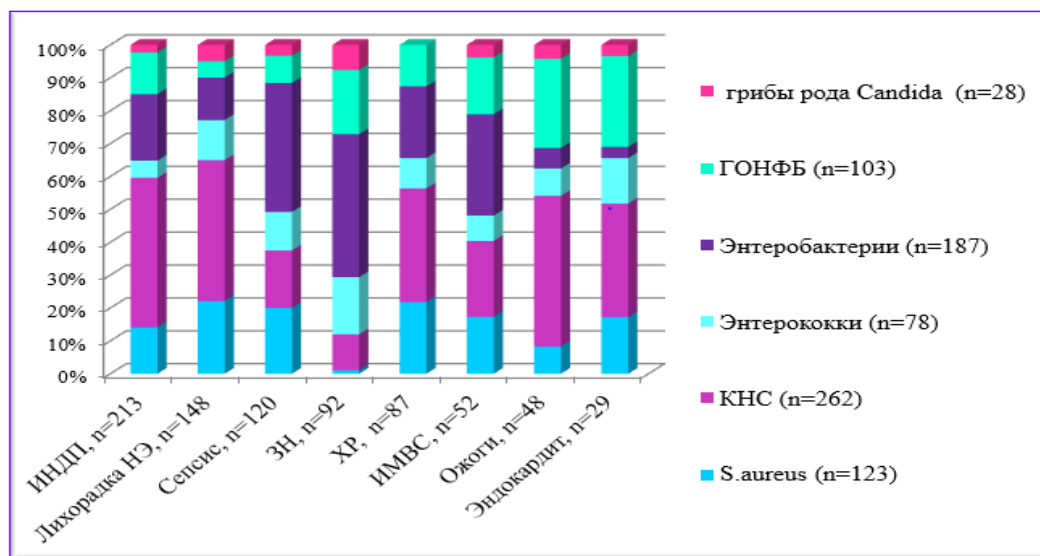
Среди грамотрицательных неферментирующих бактерий с наибольшей частотой выделялись штаммы *A. baumannii*– выделено 57 культур (55,3%).

В 2020 г. отмечено увеличение частоты выделения грамотрицательных бактерий в сравнении с 2019 г.: 44,9% и 35,1% соответственно,  $p < 0,01$ . В период пандемии COVID-19 штаммы *K. pneumoniae* занимали 1-е место по частоте выделения (43,8%) среди грамотрицательных бактерий (рисунок 2).



**Рисунок 2 – Этиология инфекций кровотока в 2019–2020 гг. (частота выделения положительных гемокультур, %)**

Грамотрицательные бактерии – основные возбудители септических состояний у пациентов с онкопатологией (63,1%), из них 43,5% энтеробактерий, инфекциями мочевыделительной системы (48,1%), из них 30,8% энтеробактерий, сепсисом (47,5%), из них 39,2% энтеробактерий, из которых чаще всего обнаруживались штаммы *K. pneumoniae* (рисунок 3).



**Рисунок 3 – Видовой состав возбудителей бактериемий у пациентов с различными патологическими состояниями**

Среди этиологических агентов инфекционного эндокардита в 2016–2020 гг. отмечены случаи выделения грамотрицательных неферментирующих бактерий (главным образом *A. baumannii*).

### **Устойчивость инвазивных изолятов грамотрицательных бактерий к антибактериальным лекарственным средствам**

Для инвазивных изолятов *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* показано преобладание штаммов с множественной и экстремальной устойчивостью к антибиотикам.

Уровень резистентности у выделенных из крови штаммов *A. baumannii* к цефалоспорином III–IV поколения достигал 100%. Устойчивыми к имипенему были 94,4%, к меропенему 94,0% протестированных изолятов.

Для инвазивных изолятов *P. aeruginosa* также отмечены высокие уровни резистентности к цефалоспорином III–IV поколения – от 93,3% к цефтазидиму и цефепиму до 100% к цефтриаксону и цефотаксиму. К карбапенемам были устойчивы от 85,7% (к имипенему) до 86,5% (к меропенему) протестированных изолятов.

Штаммы *K. pneumoniae* были устойчивы к большинству антибиотиков, для которых выполнялось тестирование. Так, нечувствительными к цефотаксиму были 89,3% штаммов *K. pneumoniae*, к имипенему – 87,3%, к меропенему – 73,5%. Чувствительность сохранялась к тигециклину, устойчивость к которому выявлена только у 32,2% штаммов *K. pneumoniae*.

В период пандемии COVID-19 устойчивость *A. baumannii*, *P. aeruginosa* к цефалоспорином III–IV поколения, карбапенемам, фторхинолонам, аминогликозидам достигла рубежа в 100%.

Устойчивость *K. pneumoniae* к цефалоспорином III–IV поколения, карбапенемам превысила рубеж 92,2%, фторхинолонам, аминогликозидам превысила рубеж 84,0%.

### **Распространенность генов карбапенемаз среди грамотрицательных микроорганизмов-возбудителей инфекций кровотока**

Экстремальная антибиотикорезистентность грамотрицательных бактерий ассоциирована с продукцией карбапенемаз. Продукция карбапенемаз выявлена у 21,7% штаммов *P. aeruginosa* (МБЛ VIM), всех протестированных штаммов *A. baumannii* (ОХА-23 у 3,3% изолятов, ОХА-40 – у 96,7%), у 48,2% штаммов *K. pneumoniae* ОХА-48, у 14,8% изолятов карбапенемаза КРС, у 32,6% МБЛ NDM, еще 4,4% являлись копродукентами β-лактамаз ОХА-48 и NDM (таблица 1).

Таблица 1 – Гены β-лактамаз экстремально-антибиотикорезистентных инвазивных изолятов *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae*

β-лактамаза			<i>K. pneumoniae</i> (n=135)		<i>A. baumannii</i> (n=91)		<i>P. aeruginosa</i> (n=23)	
			Абс.	%	Абс.	%	Абс.	%
Сериновые	Класс А	КРС	20	14,8	–	–	–	–
		ОХА-48	65	48,2	–	–	–	–
	Класс D	ОХА-40	–	–	88	96,7	–	–
		ОХА-23	–	–	3	3,3	–	–
Металло-β-лактамазы	Класс В	NDM	44	32,6	–	–	–	–
		VIM	–	–	–	–	5	21,7
Копродуценты β-лактамаз		ОХА-48+NDM	6	4,4	–	–	–	–

## Молекулярно-генетические механизмы устойчивости *K. pneumoniae* к антибиотикам по данным полногеномного секвенирования

Протестированные штаммы имели гены устойчивости к  $\beta$  – лактамным антибиотикам: обнаружены гены карбапенемаз KPC-3 и NDM-1, у большинства штаммов выявлены гены  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра действия сразу нескольких типов (SHV, TEM, CTX-M, OXA (без карбапенемазной активности) (рисунок 4).

	Гены	Кр-329 (ST 395)	Кр-366 (ST 111)	Кр-476 (ST 512)	Кр-1271 (ST 101)
Карбапенемаза	<i>bla</i> NDM				1
	<i>bla</i> KPC			3	
$\beta$ -лактамы	<i>bla</i> <sub>TEM</sub>	1B			1A
	<i>bla</i> <sub>CTX-M</sub>	15			
	<i>bla</i> <sub>SHV</sub>	11	11, 79, 89, 40, 56	11	1, 26, 106
	<i>bla</i> <sub>OXA</sub>	1, 48			
Аминогликозиды	<i>aac</i> (6')	lb-cr		lb10, lb-cr	
	<i>ant</i> (2'')	Ia			
	<i>aph</i> (3')	VI		Ia	VI
	<i>aadA</i>	1		2	
	<i>armA</i>				
Фторхинолоны	<i>gyrA</i>	S83I		S83I	D87N
	<i>parC</i>	S80I		S80I	S80I
	<i>qnr</i>	S1			S1
Фосфомицин	<i>uhpT</i>				
	<i>FosA</i>	6	6	6	6
Хлорамфеникол	<i>cat</i>	I		I	

	Гены	Кр-329 (ST 395)	Кр-366 (ST 111)	Кр-476 (ST 512)	Кр-1271 (ST 101)
Полимиксины	<i>AmT</i>				
	<i>eptB</i>				
Эффлюкс	<i>bacR</i>				
	<i>LptD</i>				
	<i>qacEdelta</i>	1		1	
	<i>CRP</i>				
	<i>H-NS</i>				
	<i>oqxA</i>				
	<i>oqxB</i>				
	<i>Kpn</i>	F, E, H, G	F, E, H, G	F, E, H, G	F, E, G, H
	<i>emrR</i>				
	<i>marA</i>				
<i>msbA</i>					
<i>tet(D)</i>					
Дефект поринов	<i>ompK37</i>				
	<i>OmpA</i>				

**Рисунок 4 – Перечень генетических детерминант антибиотикорезистентности инвазивных штаммов *K. pneumoniae***

Примечание – Наличие генетических детерминант обозначено цветной заливкой, при наличии генетических вариантов они указаны внутри цветных ячеек.

Гены устойчивости к аминогликозидам выявлены у 3 из 4 штаммов, наиболее распространенными были *aph* (3'), *aac*6'. Генетические детерминанты устойчивости к фторхинолонам имели 3 из 4 штаммов (гены *gyrA*, *parC*, *qnr*). Ген *FosA*, отвечающий за устойчивость к фосфомицину, выявлен у всех 4 штаммов. Ген устойчивости *cat* к хлорамфениколу выявлены у 2 из 4 штаммов. У всех штаммов выявлены гены, кодирующие устойчивость к полимиксинам, образование эффлюксных насосов основных семейств, выявлены дефекты пориновых каналов (рисунок 4).

### Молекулярно-генетические маркеры вирулентности инвазивных штаммов *K. pneumoniae* по данным полногеномного секвенирования

На основании результатов секвенирования геномов установлено, что штаммы *K. pneumoniae* относились к 4 различным сиквенс-типам. «Клоны высокого риска» были представлены штаммами Кр-329 (ST395) и Кр-476 (ST512). Выделенный из мочи штамм *K. pneumoniae* Кр-329 относится к сиквенс-типу ST395, широко распространенному в Российской Федерации, ряде европейских стран, Китае. Все штаммы имели гипермукоидный фенотип, определяемый в фенотипическом стринг-тесте (таблица 2).

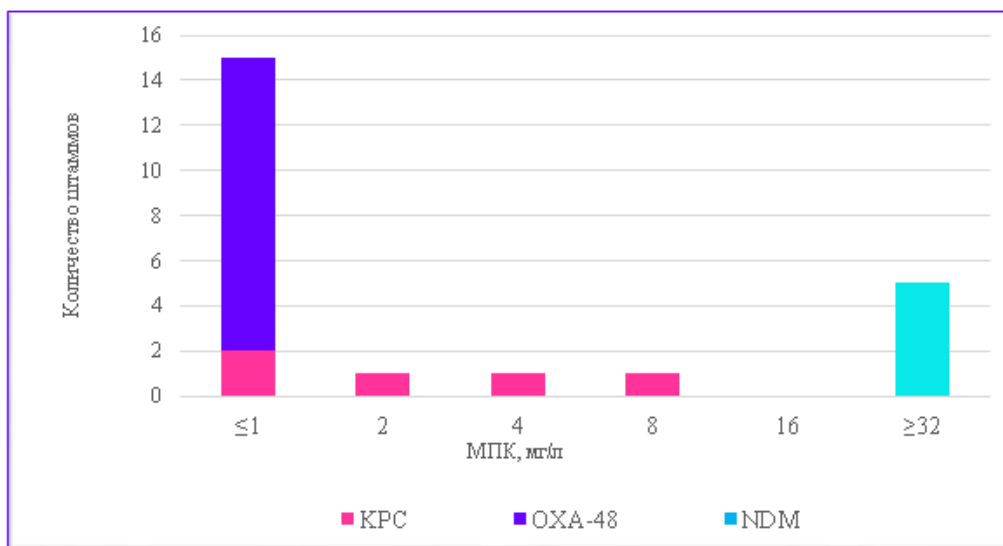
Таблица 2 – Принадлежность к сиквенс-типам и перечень генетических маркеров вирулентности инвазивных штаммов *K. pneumoniae*

Штамм	Био-материал	Стационар	Стринг-тест	Сиквенс-тип	Фактор вирулентности
<i>Кр-329</i>	Моча	ГУЗ «ГГКБ №1», г. Гомель	+	<b>ST 395</b>	fimH, fyuA, irp2, iutA, terC
<i>Кр-366</i>	Раневое отделяемое	ГУЗ «ГГКБ №2», г. Гомель	+	<b>ST 111</b>	fimH, iutA
<i>Кр-476</i>	Кровь	ГУЗ «ГГКБ №3», г. Гомель	+	<b>ST 512</b>	fimH, iutA, clpK1
<i>Кр-1271</i>	Кровь	У «Жлобинская ЦРБ»	+	<b>ST 101</b>	fimH, fyuA, irp2, iutA

Гены аэробактина *iutA* обнаружены в качестве молекулярных маркеров гипервирулентности у всех протестированных штаммов. Вторым по распространенности среди детерминант факторов вирулентности был ген иерсиниабактина *irp2*, который обнаруживался у 2 штаммов. Большая плазмида вирулентности *pLVK* ни у одного из штаммов обнаружена не была.

### Активность цефтазидима/авибактама в отношении экстремально антибиотикорезистентных карбапенемазопродуцирующих штаммов *K. pneumoniae*

Методом микроразведений в бульоне определены МПК цефтазидима/авибактама, цефтолозана/тазобактама для экстремально-антибиотикорезистентных карбапенемазопродуцирующих штаммов. Все штаммы были устойчивы к цефтолозану/тазобактаму (МПК  $\geq 64$  мг/л). МПК цефтазидима/авибактама для исследуемых штаммов находились в диапазоне от  $\leq 1$  мг/л до  $\geq 32$  мг/л и зависели от типа продуцируемой карбапенемазы (рисунок 5).



**Рисунок 5 – Распределение МПК цефтазидима/авибактама для штаммов *K. pneumoniae* – продуцентов карбапенемаз различных типов**

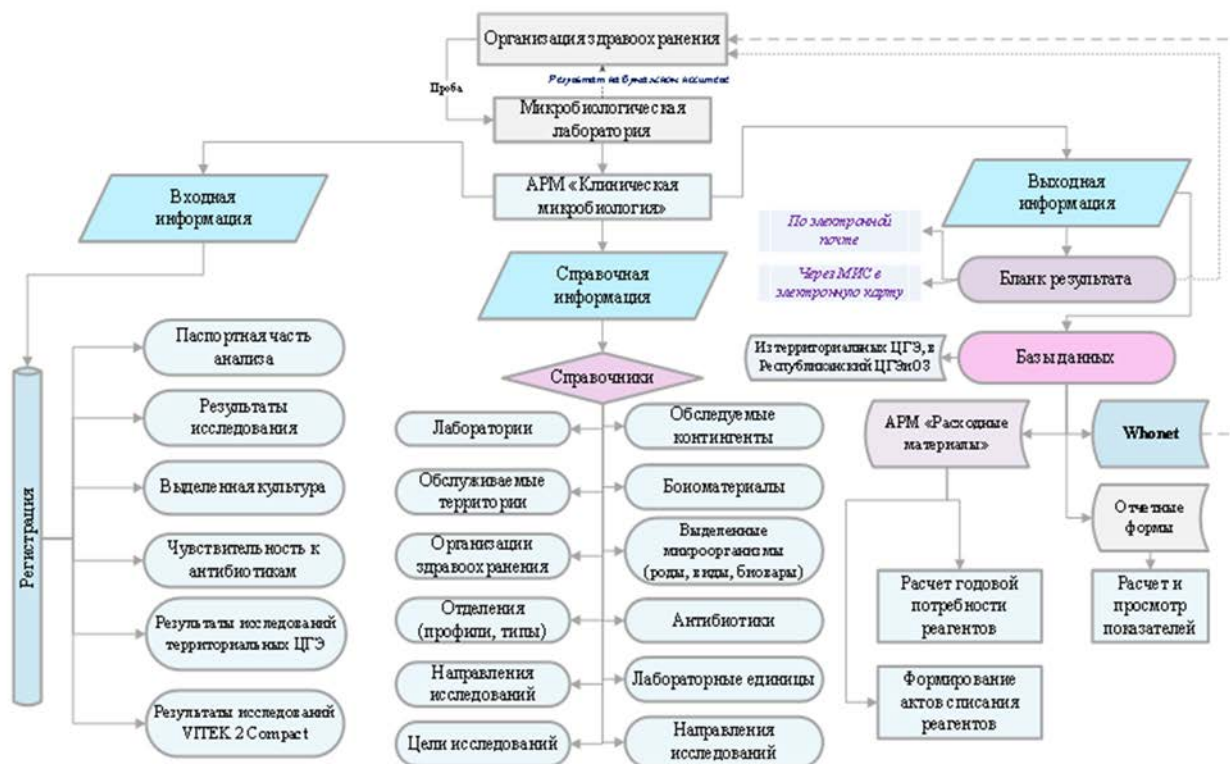
Все продуценты карбапенемазы ОХА-48 были чувствительны к цефтазидиму/авибактаму и имели МПК  $\leq 1$  мг/л. Продуценты карбапенемазы КРС также сохраняли чувствительность (МПК от  $\leq 1$  мг/л до 8 мг/л). Все продуценты МБЛ NDM были устойчивы к цефтазидиму/авибактаму (МПК  $\geq 32$  мг/л).

#### **Функционирование лабораторной информационной системы АРМ врача-бактериолога «Клиническая микробиология» при организации микробиологического мониторинга**

Для повышения оперативности и надежности обработки информации по разделу клинических микробиологических исследований создана ЛИС АРМ врача-бактериолога «Клиническая микробиология».

Все анализы, доставляемые в микробиологические лаборатории ЦГЭ Гомельской области, и результаты их исследований регистрируются в лабораторных журналах и вносятся в базу данных АРМа «Клиническая микробиология» (рисунок 6). Полученные результаты исследований оперативно в формате pdf передаются на электронные адреса в обслуживаемые организации здравоохранения, направившие пробы биоматериала на исследование, что сокращает проведение микробиологического исследования в среднем на 18–24 ч.





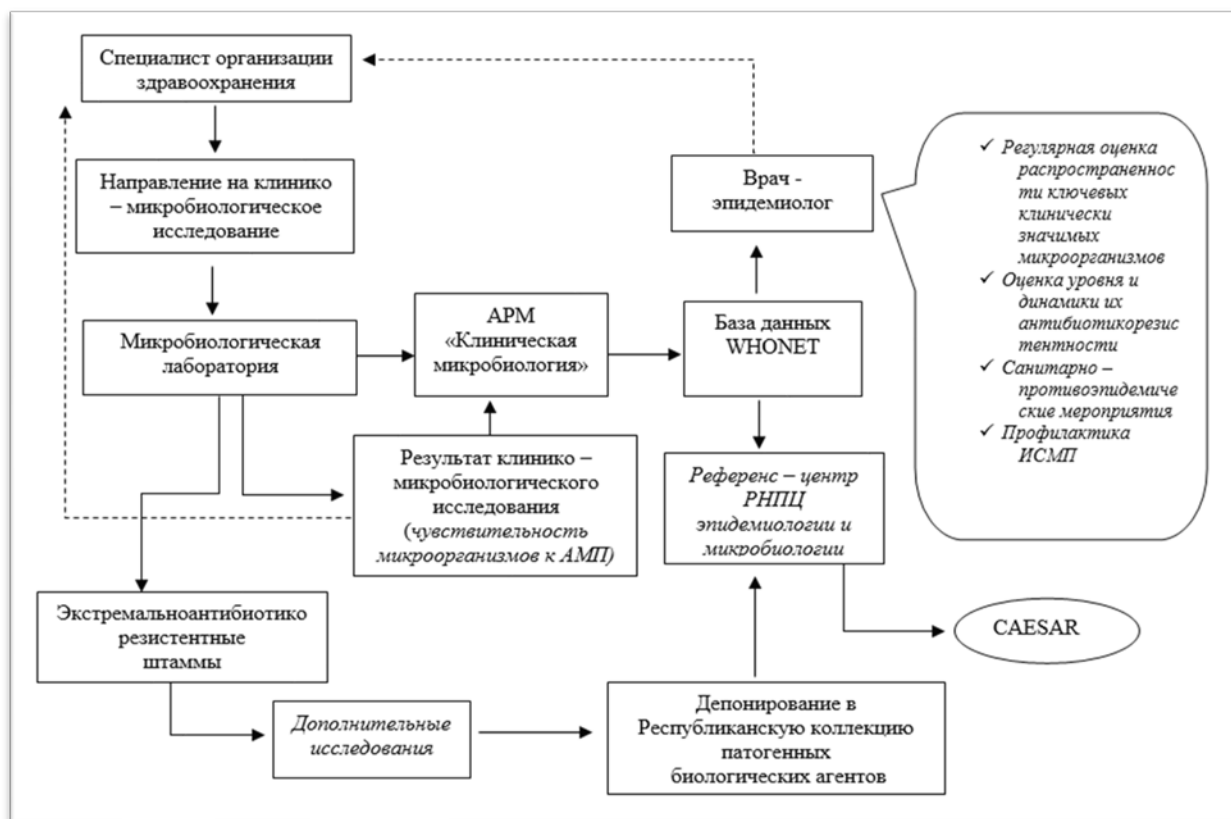
**Рисунок 6 – Лабораторная информационная система АРМ врача-бактериолога «Клиническая микробиология»**

В систему надзора за антибиотикорезистентностью в Гомельской области включены микробиологические лаборатории 18 ЦГЭ, в том числе Гомельский областной ЦГЭ и ОЗ, 5 областных стационаров, 2 центральных районных больниц.

В базу программы АРМа «Клиническая микробиология» Гомельского областного ЦГЭ и ОЗ ежемесячно собираются данные о проведенных микробиологических исследованиях и полученных результатах из всех территориальных ЦГЭ Гомельской области. Затем эти данные автоматически пополняют базу программы WHONET, применяемую для проведения мониторинга резистентности клинически значимых микроорганизмов к антибактериальным лекарственным средствам в организациях здравоохранения города Гомеля и Гомельской области.

Дополнительно в базу вносят данные, полученные от специалистов микробиологических лабораторий организаций здравоохранения, заполненные ими вручную.

Вся база данных программы по области ежеквартально направляется в Национальный референс-центр по надзору за антибиотикорезистентностью РНПЦ эпидемиологии и микробиологии (рисунок 7).



**Рисунок 7 – Схема взаимодействия участников системы надзора за антибиотикорезистентностью г. Гомеля и Гомельской области**

Ежемесячно информация о резистентности микроорганизмов, выделяемых в микробиологических лабораториях, представляется в организации здравоохранения (базы данных). Кроме того, ежеквартально проводится анализ данных и также направляется в курируемые стационары. В стационарах области приказами по учреждению здравоохранения назначены ответственные лица, курирующие программу WHONET, адаптированную к ЛИС АРМ «Клиническая микробиология» центров гигиены и эпидемиологии.

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

### Основные научные результаты диссертации

1. В структуре возбудителей инфекций кровотока на протяжении 5 лет (2016–2020 гг.) преобладали грамположительные микроорганизмы (59,7%,  $p < 0,001$ ), среди них – КНС (55,6%). Частое обнаружение в гемокультурах КНС требует проведения оценки качества забора крови для микробиологического исследования в лечебных учреждениях и адекватной интерпретации полученных результатов для исключения ложной бактериемии, связанной с внешней контаминацией [4–А, 7–А, 8–А, 11–А, 16–А, 17–А].

2. За последние 10 лет в общей этиологической структуре инфекций кровотока произошло увеличение доли энтеробактерий (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *Proteus spp.*) до 23,7% (в 2011–2014 гг. – 18,9%,  $p=0,001$ ). Среди энтеробактерий преобладали штаммы *K. pneumoniae* – 62,0%. *K. pneumoniae* была 3-м по частоте возбудителем инфекций кровотока после *S. aureus* и коагулазонегативных стафилококков и выделялась в 14,6% случаев,  $p<0,001$  [4–А, 7–А, 8–А, 11–А, 16–А–18–А].

3. Показано увеличение результативности при проведении микробиологического исследования крови на стерильность на протяжении 5 лет на 2,9% (в 2016–2020 гг. общая высеваемость составила 13,4%, в 2011–2014 гг. – 10,5%,  $p<0,01$ ). Установлена большая эффективность и скорость выполнения микробиологического исследования с использованием Автоматической системы для гемокультивирования в сравнении с традиционной ручной методикой (17,9% и 12,6% соответственно,  $p<0,01$ ) [4–А, 7–А, 11–А].

4. В период пандемии COVID-19 в этиологической структуре инфекций кровотока установлено увеличение частоты выделения грамотрицательных бактерий (*K. pneumoniae*, *E. coli*, *Proteus mirabilis*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *S. maltophilia*, *B. cepacia*, *S. paucimobilis*) – 44,9% (в 2019 г. 35,1%,  $p<0,01$ ). Среди грамотрицательных бактерий преобладали представители семейства *Enterobacteriaceae* 65,0% (в 2019 г. 55,0%,  $p<0,01$ ), среди которых 1-е место по частоте выделения занимали штаммы *K. pneumoniae* – 67,3%. В период пандемии COVID-19 штаммы *K. pneumoniae* занимали 1-е место по частоте выделения (43,8%) среди грамотрицательных бактерий. В общей этиологической структуре частота выделения изолятов *K. pneumoniae* в 2020 г. увеличилась в 1,5 раза по сравнению с 2019 г. (19,7% и 12,9% соответственно,  $p<0,01$ ) [10–А, 15–А].

5. В этиологической структуре бактериемии в 2016–2020 гг. грамотрицательные бактерии были основными возбудителями септических состояний у пациентов с онкопатологией (63,1%), из них энтеробактерий 43,5%, инфекциями мочевыделительной системы (48,1%), из них энтеробактерий 30,8%, сепсисом (47,5%), из них энтеробактерий 39,2%, из которых чаще всего обнаруживались штаммы *K. pneumoniae*. Выявлена возросшая роль грамотрицательных неферментирующих бактерий (синегнойная палочка, ацинетобактеры) у пациентов с онкопатологией (19,6%) и ожоговой болезнью (27,1%). Среди этиологических агентов инфекционного эндокардита значительно преобладали грамположительные возбудители (65,5%). Вместе с тем за последние 5 лет у данных пациентов

отмечены случаи выделения ГОНФБ (27,6%), среди которых чаще всего выделялись штаммы *A. baumannii* – 50,0% (в 2011–2014 гг. ГОНФБ в качестве положительной гемокультуры не выделялись) [4–А, 7–А, 11–А, 16–А–18–А].

6. Показаны высокие уровни резистентности (MDR, XDR) грамотрицательных бактерий (*K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*, *A. baumannii*) к антибактериальным лекарственным средствам. Уровень резистентности у выделенных из крови штаммов *A. baumannii* к цефалоспорином III–IV поколения достигал 100%. Устойчивыми к имипенему были 94,4%, к меропенему 94,0% протестированных изолятов. У выделенных из крови изолятов *A. baumannii* отмечались высокие уровни резистентности к аминогликозидам (от 80% до 84,2%), фторхинолонам (от 92,3% до 93,8%) [2–А, 3–А, 7–А, 16–А].

Для инвазивных изолятов *P. aeruginosa* отмечены высокие уровни резистентности к цефалоспорином III–IV поколения, от 93,3% к цефтазидиму и цефепиму до 100% к цефтриаксону и цефотаксиму. К карбапенемам были устойчивы от 85,7% (к имипенему) до 86,5% (к меропенему) протестированных изолятов. Отмечены высокие уровни резистентности к аминогликозидам (75–80%) и фторхинолонам (90,0–90,9%) [3–А, 7–А, 16–А].

Выделенные из крови штаммы *K. pneumoniae* были устойчивы к большинству антибиотиков, для которых выполнялось тестирование. Нечувствительными к цефотаксиму были 89,3%, штаммов, к имипенему – 87,3%, к меропенему – 73,5%. Чувствительность сохранялась к тигециклину, устойчивость к которому выявлена только у 32,2% штаммов *K. pneumoniae* [3–А, 5–А–8–А, 16–А].

Выделенные штаммы *A. baumannii*, *P. aeruginosa*, *K. pneumoniae* в период пандемии COVID-19 демонстрировали неуклонный рост резистентности к основным антимикробным препаратам, формируя XDR. Устойчивость *A. baumannii*, *P. aeruginosa* к цефалоспорином III–IV поколения, карбапенемам, фторхинолонам, аминогликозидам достигла рубежа в 100%. Устойчивость *K. pneumoniae* к цефалоспорином III–IV поколения, карбапенемам превысила рубеж 92,2%, к фторхинолонам, аминогликозидам – 84,0% [10–А, 15–А].

7. Экстремальная антибиотикорезистентность грамотрицательных бактерий (*A. baumannii*, *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa*) ассоциирована с продукцией карбапенемаз. Продукция карбапенемаз выявлена у 21,7% штаммов *P. aeruginosa* (МБЛ VIM), всех протестированных штаммов *A. baumannii* (ОХА-23 у 3,3% изолятов, ОХА-40 – у 96,7%), у 48,2% штаммов

*K. pneumoniae* OXA-48, у 14,8% изолятов карбапенемаза KPC, у 32,6% металло-β-лактамаза NDM, еще 4,4% были копродукентами β-лактамаз OXA-48 и NDM. Показана принадлежность инвазивных штаммов *K. pneumoniae* к «клонам высокого эпидемического риска» (ST395, ST512) и наличие у карбапенемрезистентного штамма, выделенного из крови (ST512) гена карбапенемазы blaNDM [1–А, 2–А, 5–А, 6–А, 8–А–10–А, 12–А, 18–А].

8. Все инвазивные штаммы *K. pneumoniae* имели гипермукоидный фенотип, определяемый в фенотипическом стринг-тесте. Гены аэробактина *iutA* обнаружены в качестве молекулярных маркеров гипервирулентности у всех протестированных штаммов. Вторым по распространенности среди детерминант факторов вирулентности был ген иерсиниабактина *irp2*, который обнаруживался у 2 штаммов [9–А].

9. В этиологической структуре инфекции кровотока ведущую роль играют карбапенеморезистентные штаммы *K. pneumoniae* с множественной и экстремальной устойчивостью к антибиотикам. Инвазивные изоляты *K. pneumoniae*, несущие гены карбапенемаз OXA-48 и NDM, широко распространены в организациях здравоохранения Гомельской области. Результаты полногеномного секвенирования отражают значительную устойчивость выделенных из крови гипермукоидных штаммов *K. pneumoniae* к большинству антибиотиков, включая β-лактамы, аминогликозиды, фторхинолоны, фосфомицин, хлорамфеникол, полимиксины [3–А, 5–А, 6–А, 8–А, 9–А, 10–А, 12–А, 18–А].

10. Выявлена высокая активность цефтазидима/авибактама в отношении всех протестированных к данной комбинации штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих сериновые карбапенемазы OXA-48 и KPC, вместе с тем все продуценты металло-β-лактамазы NDM демонстрировали высокие уровни МПК и были резистентны. Наличие генов металло-β-лактамазы NDM у 37,0% инвазивных изолятов *K. pneumoniae* не позволяет рекомендовать назначение цефтазидима/авибактама для эмпирической терапии инфекции кровотока. Вместе с тем выявленная высокая активность цефтазидима/авибактама (МПКот ≤1 мг/л до 8 мг/л) в отношении штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих сериновые карбапенемазы, позволяет рассматривать его как эффективный препарат для целенаправленной этиотропной терапии тяжелых внутрибольничных инфекций, в том числе инфекций кровотока, вызванных штаммами грамотрицательных бактерий с множественной и экстремальной антибиотикорезистентностью [8–А, 18–А].

11. Распространение MDR-hvKp в организациях здравоохранения является неизбежным. Конвергенция гипервирулентности и устойчивости к

противомикробным препаратам у  $h\nu Kp$  может значительно усугубить клиническое течение инфекции и затруднить ее этиотропную терапию. Определение молекулярных маркеров резистентности и вирулентности госпитальных штаммов *K. pneumoniae* необходимо для проведения мер инфекционного контроля и эпидемиологического надзора за распространением множественно-антибиотикорезистентных гипервирулентных штаммов *K. pneumoniae*. Требуется проведение дополнительных противоэпидемических мероприятий для сдерживания быстрой диссеминации инвазивных изолятов грамотрицательных бактерий с множественной, экстремальной и полной устойчивостью к антибиотикам в организациях здравоохранения г. Гомеля и Гомельской области [3–А, 5–А, 6–А, 9–А, 10–А, 13–А, 14–А].

12. На современном этапе для совершенствования системы эпидемиологического надзора и проведения эффективного микробиологического мониторинга при осуществлении инфекционного контроля с целью оптимизации эмпирической и этиотропной терапии внутрибольничных инфекций целесообразно использовать ЛИС АРМ врача-бактериолога «Клиническая микробиология», позволяющую получать доступ к создаваемым в микробиологических лабораториях базам данных о проведенных исследованиях и полученных результатах, анализировать и оценивать их [3–А, 10–А, 13–А, 14–А].

### **Рекомендации по практическому использованию результатов**

1. В практической деятельности микробиологических лабораторий рекомендуется применять автоматизированный метод при исследовании крови на стерильность (сокращение сроков получения положительных гемокультур на 3 дня), проведении видовой идентификации возбудителей инфекций кровотока (сокращение времени исследования до 24 ч).

2. В лабораторном процессе микробиологических лабораторий рекомендуется проводить фенотипическое определение продукции БЛРС у инвазивных изолятов грамотрицательных бактерий-возбудителей инфекции кровотока автоматизированными системами или ручными методами (диск-диффузионный, микроразведений в бульоне).

3. В лечебном процессе клиническим специалистам рекомендуется учитывать при назначении эмпирической антибактериальной терапии полученные данные о преобладании среди грамотрицательных бактерий-возбудителей инфекций кровотока штаммов с множественной и экстремальной антибиотикорезистентностью.

4. В лечебном процессе клиническим специалистам рекомендуется рассматривать цефтазидим/авибактам как эффективный препарат для целенаправленной этиотропной антибактериальной терапии тяжелых инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в том числе инфекций кровотока, вызванных полирезистентными штаммами грамотрицательных бактерий. Вместе с тем учитывая разнообразие механизмов и фенотипов резистентности госпитальных изолятов грамотрицательных бактерий к  $\beta$ -лактамным антибиотикам и антимикробным препаратам других классов, их широкого распространения во внутрибольничной среде, высокого потенциала формирования множественной и экстремальной антибиотикорезистентности решающее значение для выбора оптимальной этиотропной (целенаправленной) антибактериальной терапии имеет быстрая микробиологическая диагностика видовой идентификации возбудителей, определения их антибиотикограмм, детекции детерминант резистентности с привлечением надежных стандартизованных методов определения минимальных подавляющих концентраций карбапенемов, полимиксинов и новых ингибитор-защищенных цефалоспоринов.

5. В практической деятельности врачей-лаборантов микробиологических лабораторий, врачей-эпидемиологов с целью совершенствования системы микробиологического мониторинга рекомендуется применять ЛИС АРМ врача-бактериолога «Клиническая микробиология», улучшающей методологию сбора данных, процесса обработки информации и представления итоговых результатов, что позволит получить доступ к результатам микробиологических исследований в каждой конкретной организации здравоохранения, к систематизированным, упорядоченным данным по микробному пейзажу и профилям антибиотикорезистентности микроорганизмов, циркулирующих в организациях здравоохранения на региональном уровне, а также обеспечит оперативное адресное получение (в т. ч. в электронную медицинскую карту пациента) результатов диагностических исследований, что сократит проведение микробиологического исследования в среднем на 18–24 ч.

## СПИСОК ПУБЛИКАЦИЙ СОИСКАТЕЛЯ УЧЕНОЙ СТЕПЕНИ

### Статьи в рецензируемых журналах

1–А. Тапальский, Д. В. Система микробиологического мониторинга экстремально-антибиотикорезистентных и панрезистентных бактериальных патогенов с определением чувствительности к комбинациям антибиотиков / Д. В. Тапальский, Н. А. Бонда, Л. В. Лагун // Вестник ВГМУ. – 2018. – Т. 17, № 1. – С. 50–58.

2–А. Тапальский, Д. В. *Acinetobacter baumannii*: распространенность, спектр и динамика антибиотикорезистентности, чувствительность к комбинациям антибиотиков / Д. В. Тапальский, Н. А. Бонда // Журнал ГрГМУ. – 2018. – Т. 16, № 3. – С. 286–291.

3–А. Распространенность карбапенемаза-продуцирующих грамотрицательных бактерий в Гомельской области / Д. В. Тапальский, Н. А. Бонда, О. В. Осипкина, И. А. Карпов // Медицинский журнал. – 2018. – № 3. – С. 129–135.

4–А. Бонда, Н. А. Этиологическая структура инфекций кровотока / Н. А. Бонда, Л. В. Лагун, Д. В. Тапальский // Проблемы здоровья и экологии. – 2018. – № 4 (58). – С. 15–20.

5–А. Распространенность карбапенемазопродуцирующих *Klebsiella pneumoniae* в Гомельской области / Д. В. Тапальский, Т. А. Петровская, Н. А. Бонда, А. И. Козлова, О. В. Осипкина // Журнал микробиологии, эпидемиологии и иммунобиологии. – 2019. – № 4. – С. 53–58.

6–А. Тапальский, Д. В. Распространенность *Klebsiella pneumoniae*–продуцентов карбапенемаз в Гомельской области Беларуси и их чувствительность к антибиотикам, комбинациям антибиотиков, дезинфектантам / Д. В. Тапальский, О. М. Савченко, Н. А. Бонда // Инфекция и иммунитет. – 2019. – Т. 9, № 5–6. – С. 671–679.

7–А. Бонда, Н. А. Клинико-лабораторные характеристики и этиологическая структура инфекций кровотока: результаты мультицентрового клинического исследования / Н. А. Бонда, Д. В. Тапальский, И. О. Стома // Инфекционные болезни: новости, мнения, обучение. – 2021. – Т. 10, № 2. – С. 54–59.

8–А. Тапальский, Д. В. *Klebsiella pneumoniae* с множественной устойчивостью к антибиотикам в этиологии инфекций кровотока / Д. В. Тапальский, Н. А. Бонда, Е. В. Карпова, И. О. Стома // Клиническая инфектология и паразитология. – 2021. – Т. 10, № 2. – С. 179–186.

9–А. Молекулярно-генетические маркеры резистентности и вирулентности инвазивных штаммов *Klebsiella pneumoniae* по данным полногеномного секвенирования / Н. А. Бонда, И. О. Стома, О. В. Осипкина,



А. А. Зятыков, А. С. Шафорост, Е. В. Карпова, Д. В. Тапальский // Проблемы здоровья и экологии. – 2023. – Т. 20, № 1. – С. 7–15.

10–А. Система микробиологического мониторинга для оценки антибиотикорезистентности возбудителей инфекций кровотока и ее генетических детерминант / Н. А. Бонда, Е. В. Карпова, Д. В. Тапальский, И. О. Стома // Клиническая инфектология и паразитология. – 2023. – Т. 12, № 1. – С. 6–16.

### **Статьи в рецензируемых сборниках**

11–А. Бонда, Н. А. Этиологическая структура бактериемий у пациентов лечебных учреждений г. Гомеля / Н. А. Бонда, С. В. Осмоловский, Д. В. Тапальский // Актуальные проблемы медицины : сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. с междунар. участием, посвящ. 25-летию основания учреждения образования «Гомельский государственный медицинский университет», Гомель, 5–6 нояб. 2015 г. / Гомел. гос. мед. ун-т ; редкол. : А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель : ГомГМУ, 2016. – С. 96–98.

12–А. Детекция генов карбапенемаз у экстремально антибиотикорезистентных грамотрицательных возбудителей бактериальных инфекций / Д. В. Тапальский, А. И. Козлова, Н. А. Бонда, Т. А. Петровская, Л. В. Лагун // Актуальные проблемы медицины : сб. науч. ст. Респ. науч.-практ. конф. и 27-й итоговой науч. сессии Гомел. гос. мед. ун-та, Гомель, 2–3 нояб. 2017 г. / Гомел. гос. мед. ун-т ; редкол. : А. Н. Лызиков [и др.]. – Гомель : ГомГМУ, 2018. – С. 748–751.

13–А. Опыт организации государственного санитарного надзора за функционированием системы инфекционного контроля в организациях здравоохранения Гомельской области / О. В. Васильева, Н. А. Бонда, Л. П. Мамчиц, Е. В. Гандыш // Здоровье и окружающая среда : сб. материалов междунар. науч.-практ. конф., посвящ. 95-летию санитар.-эпидем. службы Респ. Беларусь, Минск, 30 сент.–1 окт. 2021 г. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Науч.-практ. центр гигиены ; ред. : С. И. Сычик [и др.]. – Минск, 2021. – С. 11–13.

14–А. Организация эффективной системы микробиологического мониторинга при осуществлении инфекционного контроля в организациях здравоохранения города Гомеля и Гомельской области / Н. А. Бонда, О. В. Васильева, Т. С. Березняцкая, О. Н. Тульженкова, И. Ф. Салажкова, Е. В. Гандыш // Современные аспекты гигиены, эпидемиологии и профилактической медицины : материалы науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию санитарно-эпидемиологической службы Гомельской области, Гомель, 4 нояб. 2022 г. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Гомел. обл. центр

гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Гомел. гос. мед. ун-т ; редкол. : С. А. Белый [и др.]. – Гомель, 2022. – С. 215–222.

15–А. Особенности этиологической структуры и профилей резистентности госпитальных штаммов на фоне пандемии COVID-19 / И. Л. Губич, Н. А. Бонда, В. А. Лазакович, О. Н. Тульженкова, И. Ф. Салажкова, Е. В. Гандыш // Современные аспекты гигиены, эпидемиологии и профилактической медицины : материалы науч.-практ. конф., посвящ. 100-летию санитарно-эпидемиологической службы Гомельской области, Гомель, 4 нояб. 2022 г. / М-во здравоохран. Респ. Беларусь, Гомел. обл. центр гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья, Гомел. гос. мед. ун-т ; редкол. : С. А. Белый [и др.]. – Гомель, 2022. – С. 235–241.

#### **Тезисы докладов**

16–А. Бонда, Н. А. Этиологическая структура и антибиотикорезистентность возбудителей инфекций кровотока / Н. А. Бонда, Д. В. Тапальский, И. О. Стома // Материалы VII внеочередного онлайн конгресса Евро-азиатского общества по инфекционным болезням, Санкт-Петербург, 19–21 мая 2021 г. – [Опубл. в журн.] Журнал инфектологии. – 2021. – Т. 13, № 2, прил. 1. – С. 20–21.

17–А. Бонда, Н. А. Видовой состав возбудителей бактериемий при различных патологических состояниях / Н. А. Бонда, Д. В. Тапальский, И. О. Стома // Всероссийский конгресс по медицинской микробиологии, клинической микологии и иммунологии (XXIV Кашкинские чтения) : тез. – [Опубл. в журн.] Проблемы медицинской микологии. – 2021. – Т. 23, № 2. – С. 59.

18–А. Susceptibility to ceftazidime/avibactam and other antibiotics in carbapenemase-producing bloodstream isolates of *K. pneumoniae* [Electronic resource] / I. O. Stoma, N. A. Bonda, E. V. Karpova, D. V. Tapalski // 32nd European Congress of Clinical Microbiology & Infectious Diseases (ECCMID 2022), Lisbon, Portugal 23–26 april. 2022. – Mode of access: <https://elibrary.escmid.org/?search%5Bquery%5D=%22Nadezhda+Bonda%22#results>. – Date of access: 22.05.2023.

## РЭЗІЮМЭ

Бонда Надзея Аляксандраўна

### Інфекцыі крывацёку, выкліканыя грамадмоўнымі бактэрыямі: этыятропная тэрапія і інфекцыйны кантроль

**Ключавыя словы:** грамадмоўныя бактэрыі, інфекцыі крывацёку, антыбіётыкарэзістэнтнасць, карбапенемазы, вірулентнасць, мікрабіялагічны маніторынг.

**Мэта даследавання:** удасканаліць сістэму мікрабіялагічнага маніторынгу на падставе ўстаноўленага відавочнага складу, фактараў вірулентнасці і ўстойлівасці да антыбактэрыяльных лекавых сродкаў грамадмоўных бактэрыя-узбуджальнікаў інфекцый крывацёку для аптымізацыі этиятропнай тэрапіі.

**Метады даследавання:** мікрабіялагічныя (краявідавочная ідэнтыфікацыя, вызначэнне адчувальнасці да антыбіётыкаў, мінімальна пераважных канцэнтрацый антыбіётыкаў), малекулярна-генетычныя (выяўленне генаў карбапенемаз, поўнагенамнае секвеніраванне), статыстычныя.

**Атрыманыя вынікі і іх навізна:** упершыню ў Рэспубліцы Беларусь паказана ўзрослая роля *K. pneumoniae* з множнай і экстрэмальнай антыбіётыкарэзістэнтнасцю ў этиялогіі інфекцый крывацёку. На фоне пандэміі COVID-19 сярод грамадмоўных бактэрыя першае месца займала *K. pneumoniae* (43,8%). Устаноўлены высокія ўзроўні рэзістэнтнасці *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* да асноўных класах антыбіётыкаў. Экстрэмальная антыбіётыкарэзістэнтнасць грамадмоўных бактэрыя асацыявана з прадукцыяй карбапенемаз. Выяўлена высокая актыўнасць цэфтазідзіма/авібактама ў дачыненні да інвазіўных штамаў *K. pneumoniae*, прадукцыючых серынавыя карбапенемазы. Паказана скарачэнне часу правядзення мікрабіялагічнага даследавання ў сярэднім на 18–24 гадзіны пры выкарыстанні распрацаванай лабараторнай інфармацыйнай сістэмы АРМ лекара-бактэрыёлага «Клінічная мікрабіялогія».

**Рэкамендацыі па выкарыстанні:** атрыманыя вынікі могуць выкарыстоўвацца для правядзення этиятропнай антыбактэрыяльнай тэрапіі цяжкіх ўнутрыбальнічных інфекцый крывацёку.

**Галіна выкарыстання:** інфекталогія, клінічная мікрабіялогія, антымیکробная хіміятэрапія, эпідэміялогія.

## РЕЗЮМЕ

Бонда Надежда Александровна

### Инфекции кровотока, вызванные грамотрицательными бактериями: этиотропная терапия и инфекционный контроль

**Ключевые слова:** грамотрицательные бактерии, инфекции кровотока, антибиотикорезистентность, карбапенемазы, вирулентность, микробиологический мониторинг.

**Цель работы:** усовершенствовать систему микробиологического мониторинга на основании установленного видового состава, факторов вирулентности и устойчивости к антибактериальным лекарственным средствам грамотрицательных бактерий-возбудителей инфекций кровотока для оптимизации этиотропной терапии.

**Методы исследования:** микробиологические (видовая идентификация, определение чувствительности к антибиотикам, минимальных подавляющих концентраций антибиотиков), молекулярно-генетические (выявление генов карбапенемаз, полногеномное секвенирование), статистические.

**Полученные результаты и их новизна:** впервые в Республике Беларусь показана возросшая роль *K. pneumoniae* с множественной и экстремальной антибиотикорезистентностью в этиологии инфекций кровотока. На фоне пандемии COVID-19 среди грамотрицательных бактерий первое место занимала *K. pneumoniae* (43,8%). Установлены высокие уровни резистентности *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* к основным классам антибиотиков. Экстремальная антибиотикорезистентность грамотрицательных бактерий ассоциирована с продукцией карбапенемаз. Выявлена высокая активность цефтазидима/авибактама в отношении инвазивных штаммов *K. pneumoniae*, продуцирующих сериновые карбапенемазы. Показано сокращение времени проведения микробиологического исследования в среднем на 18–24 ч при использовании разработанной лабораторной информационной системы АРМ врача-бактериолога «Клиническая микробиология».

**Рекомендации по использованию:** полученные результаты могут использоваться для проведения этиотропной антибактериальной терапии тяжёлых внутрибольничных инфекций кровотока.

**Область применения:** инфектология, клиническая микробиология, антимикробная химиотерапия, эпидемиология.

## ABSTRACT

**Bonda Nadezhda Alexandrovna**

### **Bloodstream infections caused by gram-negative bacteria: etiologic therapy and infection control**

**Keywords:** gram-negative bacteria, bloodstream infections, antibiotic resistance, carbapenemases, virulence, microbiological monitoring

**Aim of the study:** to improve the microbiological monitoring system based on the established species composition, virulence factors and resistance to antibacterial drugs of gram-negative bacteria - pathogens of bloodstream infections to optimize etiologic therapy.

**Research methods:** microbiological (species identification, determination of sensitivity to antibiotics hemocultures, minimum suppressive concentrations antibiotics), molecular genetic (detection of carbapenemase genes, genome-wide sequencing), statistical.

**Results and their novelty:** for the first time in the Republic of Belarus, the increased role of *K. pneumoniae* with multiple and extreme antibiotic resistance in the etiology of bloodstream infections has been shown. Against the background of the COVID-19 pandemic, *K. rpeimopiae* took the first place among gram-negative bacteria (43.8%). High levels of resistance of *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *P. aeruginosa* to the main classes of antibiotics have been established. Extreme antibiotic resistance of gram-negative bacteria is associated with the production of carbapenemases. A high activity of ceftazidime/avibactam was detected against *K. pneumoniae* strains isolated from blood, producing serine carbapenemases OXA-48 and KPC. It is shown that the time of microbiological examination is reduced by an average of 18–24 hours when using the developed laboratory information system of the bacteriologist "Clinical Microbiology".

**Recommendations for use:** the results obtained can be used for targeted etiologic antibacterial therapy of severe nosocomial bloodstream infections.

**Field of application:** infectology, clinical microbiology, antimicrobial chemotherapy, epidemiology.



Научное издание

**БОНДА Надежда Александровна**

**ИНФЕКЦИИ КРОВОТОКА, ВЫЗВАННЫЕ  
ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫМИ БАКТЕРИЯМИ:  
ЭТИОТРОПНАЯ ТЕРАПИЯ И ИНФЕКЦИОННЫЙ КОНТРОЛЬ**

**Автореферат  
диссертации на соискание ученой степени  
кандидата медицинских наук**

**по специальности 03.02.03 – микробиология**

Подписано в печать 01.11.2023.

Формат 60×84/16. Бумага офсетная 80 г/м<sup>2</sup>. Гарнитура Times New Roman.

Усл. печ. л. 1,63. Уч.-изд. л. 1,37. Тираж 60 экз. Заказ № 520.

Издатель и полиграфическое исполнение:  
учреждение образования «Гомельский государственный медицинский университет».

Свидетельство о государственной регистрации издателя,  
изготовителя, распространителя печатных изданий № 1/46 от 03.10.2013.

ул. Ланге, 5, 246000, Гомель.