

Бабичев А.Н.,

студент

2 курс, Лечебный факультет

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ

Россия, г.Москва

Белокопытов А.С.,

студент

2 курс, Лечебный факультет

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ

Россия, г.Москва

Макеев М.Д.,

студент

2 курс, Лечебный факультет

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ

Фесенко А.В.,

студент

2 курс, Лечебный факультет

ФГАОУ ВО РНИМУ им. Н.И. Пирогова МЗ РФ

Россия, г.Москва

СИНЕГНОЙНАЯ ПАЛОЧКА, ПРОДУЦИРУЮЩАЯ КАРБАПЕНЕМАЗУ– НОВЫЙ ВЫЗОВ

*Аннотация: Устойчивая к карбапенемам синегнойная палочка (CR-PA) является основным патогеном, ассоциированный с оказанием медицинской помощи во всем мире. Подгруппа устойчивых к карбапенемам изолятов *P. aeruginosa* содержит карбапенемазы, однако из-за ограниченного скрининга, фактический процент неизвестен. Обнаружение продуцирующей*

карбапенемазу *P. aeruginosa* в клинической лаборатории - сложная задача. В статье будут рассмотрены стратегии тестирования, доступные для оптимизации терапии инфекций, вызванных *P. aeruginosa*.

Ключевые слова: Синегнойная палочка; карбапенемы; карбапенемаза; тесты на чувствительность к антибиотикам; бета-лактамаза; ингибиторы бета-лактамаз

Abstract: Carbapenem-resistant *Pseudomonas coli* (CR-PA) is a major pathogen associated with health care worldwide. A subset of carbapenem-resistant *P. aeruginosa* isolates contain carbapenemases, but due to limited screening, the actual percentage is unknown. Detection of carbapenemase-producing *P. aeruginosa* in the clinical laboratory is challenging. This article will discuss the testing strategies available to optimize therapy for infections caused by *P. aeruginosa*.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*; carbapenems; carbapenemase; susceptibility testing; beta-lactamase; beta-lactamase inhibitor

Введение

Устойчивая к карбапенемам синегнойная палочка (CR-PA) является основным патогеном, ассоциированным с оказанием медицинской помощи во всем мире. [1-3]. В Соединенных Штатах *P. aeruginosa* является основной причиной пневмонии, связанной с искусственной вентиляцией легких (ВАР) в больницах длительного пребывания и в стационарных отделениях и второй причиной по распространенности ВАР в отделениях интенсивной терапии. Это также третья по распространенности причина инфекций мочевыводящих путей, связанных с катетеризацией [4]. В целом, в Соединенных Штатах 10-30% изолятов *P. aeruginosa* устойчивых к карбапенемам [5,6], в то время как во всем мире этот процент значительно варьируется. Существует несколько ключевых механизмов резистентности к карбапенемам у *P. aeruginosa*. Первым механизмом является выведение лекарственного средства, которое

опосредуется избыточной экспрессией эффлюксного насоса MexAB-OprM [7]. Это приводит к резистентности к большинству бета-лактамных препаратов, за исключением имипенема. Вторым механизмом является избыточная продукция бета-лактамазы AmpC и инактивация белка внешней мембраны OprD. Такое сочетание механизмов может вызывать резистентность практически ко всем антипсевдомональным бета-лактамам. Менее распространенным механизмом резистентности к карбапенемам среди изолятов *P. aeruginosa*, но, по-видимому, встречающимся все чаще, является выработка карбапенемаз [2,8,9]. Этот механизм резистентности к карбапенемам важен, поскольку он значительно изменяет эффективность обычно используемых противосудорожных средств, включая цефтазидим, цефепим, пиперациллин-тазобактам, а также недавно введенных комбинаций бета-лактам/ингибиторов бета-лактамазы, таких как цефтолозан-тазобактам, имипенем-релебактам и цефтазидим-авибактам. Детерминанты устойчивости к карбапенемам, переносимые *P. aeruginosa*, часто кодируются плазмидами типа IncP; интеграторами класса I и плазмидами, которые несут ген blaVIM; а также другими мобильными генетическими элементами, такими как те, которые связаны со вставочными последовательностями с общей областью (ISCRs), повышающими способность организма к распределению резистентности среди множества видов [10]. Кроме того, эти изоляты часто содержат дополнительные детерминанты резистентности, которые снижают клиническую эффективность фторхинолонов и аминогликозидов. Продуцирующие карбапенемазу *P. aeruginosa* (CP-PA) часто устойчивы ко всем этим терапевтическим вариантам, что делает вероятным исход неудачного лечения. CP-PA также ассоциируется с внутрибольничным распространением, что требует проведения мероприятий по профилактике инфекции [11].

Эпидемиология *P. aeruginosa*, продуцирующей карбапенемазу (CP-PA)

Сообщалось, что изоляты *P. aeruginosa* содержат широкий спектр карбапенемаз во всем мире. Например, в Латинской Америке изоляты включают следующие виды карбапенемаз: KPC, GES, IMP, VIM, NDM и SPM [9]. На Аравийском полуострове имеются VIM, IMP и NDM [8]. В Соединенных Штатах карбапенемазы у *P. aeruginosa* включают KPC, NDM, VIM и IMP [12,13]. К сожалению, некоторые фенотипические методы выявления карбапенемаз, которые используются во всем мире, такие как модифицированный тест Ходжа, демонстрируют либо низкую чувствительность или специфичность, что ставит под сомнение эпидемиологию этих организмов [14]. Приведенная выше проблема, а также отсутствие специальных тестов на выработку карбапенемазы среди CR-PA во всем мире позволяют предположить, что распространенность CR-PA может быть намного выше, чем считается. Разнообразие и растущая распространенность продуцентов карбапенемазы среди CR-PA недавно были отмечены в многонациональной программе эпиднадзора за синегнойной палочкой - ERACE [14]. Из 807 изолятов CR-PA, отобранных в течение 2019-2021 гг. из 17 центров в 12 странах, 33% были фенотипически положительными на карбапенемазу (с использованием метода mCIM), и из них 86% были генотипически положительными, причем наиболее распространенными были VIM и GES. На основании ранее опубликованных эпидемиологических данных ожидалось появление CR-PA на Ближнем Востоке. Также наблюдалась высокая распространенность и разнообразие продуцирующих карбапенемазу *P. aeruginosa* в европейских, южноамериканских и африканских странах. Более того, в медицинских центрах Соединенных Штатов ($n = 5$), в регионе, о котором известно, что он не отличается высокой распространенностью синегнойной палочки, CR-PA были выявлены в 3-30% случаев. Эти текущие глобальные данные свидетельствуют о том, что тестирование на карбапенемазу в CR-PA оправдано. Ключевой вопрос заключается в том, следует ли лабораториям

проводить фенотипическое или генотипическое тестирование продукции бактериями карбапенемазы с помощью ПЦР на наличие специфических генов устойчивости к карбапенемам среди изолятов CR-PA, чтобы помочь программам управления антимикробными препаратами в выборе подходящей терапии псевдомонадных инфекций.

Тестирование продуцирующей карбапенемазу *P. aeruginosa* для содействия управлению антимикробными препаратами

В настоящее время, когда изолят CR-PA идентифицируется в клинической лаборатории во время первого раунда тестирования на чувствительность к противомикробным препаратам, многие учреждения проводят дополнительные тесты на чувствительность к цефтолозану/тазобактаму, цефтазидиму/авибактаму и/или имипенему/релебактаму с использованием автоматизированного тестирования на чувствительность к противомикробным препаратам (AST) методы, методы диффузии агара (т.е. градиентные диффузионные полоски) или дисковая диффузия для руководства терапией. Эти противомикробные средства обладают высокой активностью в отношении широкого спектра, хотя и не всех, CR-PA [15-17]. Однако не все лаборатории имеют доступ к панелям для тестирования чувствительности, полоскам или дискам для этих комбинаций бета-лактама/ингибиторов бета-лактамазы. Кроме того, тестирование градиентных диффузионных полосок и дисковых диффузионных тестов на эти новые противомикробные препараты требует еще 16-20 ч инкубации после получения первоначальных результатов теста на чувствительность, что может замедлить процесс принятия решения о назначении терапии. Более своевременные данные, такие как данные, полученные с помощью коммерческой ПЦР или иммунохроматографических тестов для исключения наиболее распространенных карбапенемаз, могут направить клиницистов к раннему применению цефтолозана/тазобактама, цефтазидима/авибактама и имипенема/релебактама, поскольку они

высокоактивны в отношении CR-PA, не продуцирующих карбапенемазу. С другой стороны, обнаружение карбапенемаз, особенно металло-бета-лактамаз (например, IMP, NDM и VIM), укажет на необходимость рассмотрения цефидерокола [1,18] или комбинированной терапии, включающей азтреонам [19-21]

Как лаборатории должны проводить тестирование на CR-PA? Существует два подхода к тестированию, которые могли бы направлять усилия по управлению антимикробными препаратами и, таким образом, улучшать результаты лечения (рис. 1, варианты 1 и 2). Первый подход (вариант 1) заключается в тестировании колоний *P. aeruginosa* с помощью широкого фенотипического теста на карбапенемазу, такого как модифицированный метод инактивации карбапенема (mCIM) или тест CarbaNP [22,23]. Эти тесты показывают, присутствует ли в изоляте карбапенемаза или нет, но не указывают, к какому типу карбапенемаз это относится (т.е. серин в сравнении с металл-бета-лактамазой). Однако проведение второго mCIM-теста в присутствии EDTA (т.е. eCIM-теста) может дифференцировать сывороточные карбапенемазы (которые не ингибируются EDTA) от металлокарбапенемаз, что является ключевой информацией для выбора анти-псевдомонадной терапии. Альтернативно, если проводится только mCIM-тест и он положительный, для идентификации конкретных классов присутствующих карбапенемаз (например, KPC, VIM, IMP, VIM и OXA-48) может быть использован генотипический тест, либо ПЦР, либо иммунохроматографический тест) [24-26]. Было показано, что несколько коммерческих тестов являются точными для выявления карбапенемаз или генов устойчивости к карбапенемам, хотя стоимость тестов может варьироваться в зависимости от страны. Следует отметить, что тест mCIM может вызывать трудности с обнаружением некоторых карбапенемаз, таких как IMP [27,28], хотя недавнее исследование показало, что комбинация тестов mCIM и eCIM эффективна для обнаружения большинства других

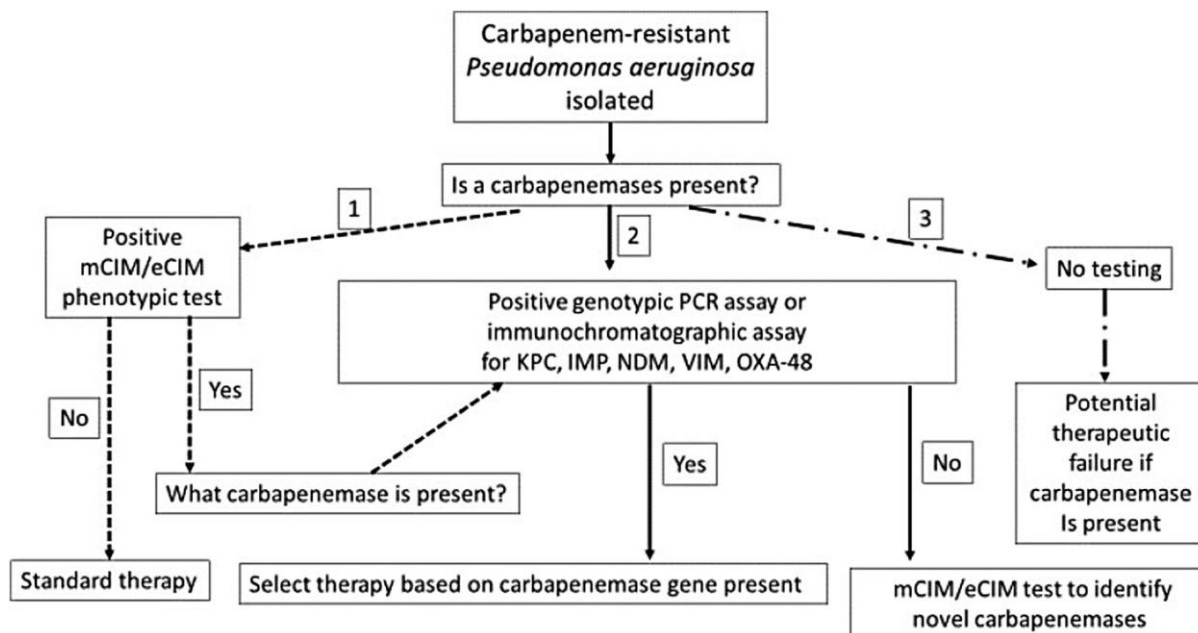


Рисунок 1. Варианты лабораторного скрининга для выявления продуцентов карбапенемазы среди карбапенем-резистентных *P. aeruginosa*.

Второй вариант тестирования - начать с коммерческого ПЦР или иммунохроматографического теста, который выявляет КРС, VIM, IMP, VIM и OXA-48, и, если этот тест отрицательный, продолжить с помощью mCIM или комбинированных тестов mCIM/eCIM. Преимущество последнего подхода заключается в том, что как ПЦР, так и иммунохроматографический тест часто могут быть завершены менее чем за 1 час, что, хотя и потенциально более дорого для лаборатории, может привести к более точным терапевтическим вмешательствам в сроки, которые могут составлять на 48 часов раньше, чем 1 вариант. Это делает первоначальное использование этих методов экономически эффективным. Хотя секвенирование всего генома (WGS) изолированных колоний может предоставить гораздо больше информации о механизмах противомикробной резистентности у изолята *P. aeruginosa* по сравнению с фенотипическими и генотипическими методами, упомянутыми выше, медленное получение результатов, технические знания, необходимые для экстракции нуклеиновых кислот, подготовка библиотек, секвенирование, наконец, отсутствие стандартизированных баз данных для преобразования

генотипов в фенотипы, которые могут быть легко поняты клиницистами, в настоящее время ограничивают использование WGS исследовательскими учреждениями, а не больничными лабораториями.

Вариант 3 заключается в том, чтобы не проводить дополнительных тестов и проводить лечение эмпирически, но это не рекомендуется, поскольку число неудачных методов лечения, несомненно, увеличится по мере дальнейшего распространения изолятов CR-PA по всему миру. В то время как аргумент в пользу отказа от дополнительных фенотипических и генотипических оценок продукции карбапенемазы при CR-PA часто фокусируется на воспринимаемой ценности теста по отношению к проценту положительных результатов, персоналу и ресурсам тестирования, клиническая реализация недавно разработанного алгоритма поможет оптимизировать рабочий процесс обнаружения карбапенемазы в лаборатории[27]. Важно отметить, что доступность тестов, будь то положительных или отрицательных, приводит к практическим результатам в виде усиленных терапевтических мероприятий и/или мероприятий по инфекционному контролю, которые играют центральную роль в обеспечении хороших клинических исходов при минимизации распространения CR-PA.

Заключение

Растет вероятность неудачных исходов в лечении инфекций, вызванных карбапенем-резистентными *P. aeruginosa* из-за нераспознанного наличия карбапенемаз. Сочетание фенотипических и генотипических методов может значительно сократить время до начала эффективной терапии и улучшить результаты лечения пациентов. Тем не менее, эти тесты часто не проводятся на изолятах *P. aeruginosa* во многих клинических лабораториях. Таким образом, оптимизация терапии при инфекциях, вызванных *P. aeruginosa*, остается сложной задачей.

Использованные источники:

[1] Horcajada JP, Montero M, Oliver A, et al. Epidemiology and treatment of multidrug-resistant and extensively drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* infections. *Clin Microbiol Rev.* 2019 Sep 18;32 (4):e00031–19.

[2] Wang M-G, Liu Z-Y, Liao X-P, et al. Retrospective data insight into the global distribution of carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics (Basel).* 2021 May 9;10(5):548.

[3] Al-Orphaly M, Hadi HA, Eltayeb FK, et al. Epidemiology of multidrug-resistant *Pseudomonas aeruginosa* in the Middle East and North Africa region. *mSphere.* 2021 May 19;6(3):e00202–21.

[4] Weiner-Lastinger LM, Abner S, Edwards JR, et al. Antimicrobial-resistant pathogens associated with adult healthcare-associated infections: summary of data reported to the National Healthcare Safety Network, 2015–2017. *Infect Control Hosp Epidemiol.* 2020 Jan;41(1):1–18.

[5] Woodworth KR, Walters MS, Weiner LM, et al. Vital signs: containment of novel multidrug-resistant organisms and resistance mechanisms – United States, 2006–2017. *MMWR Morb Mortal Wkly Rep.* 2018 Apr 6;67(13):396–401.

[6] Almarzoky Abuhussain SS, Sutherland CA, Nicolau DP. In vitro potency of antipseudomonal β -lactams against blood and respiratory isolates of *P. aeruginosa* collected from US hospitals. *J Thorac Dis.* 2019 May;11(5):1896–1902.

[7] Livermore DM. Multiple mechanisms of antimicrobial resistance in *Pseudomonas aeruginosa*: our worst nightmare? *Clin Infect Dis.* 2002 Mar 1;34(5):634–640.

[8] Zowawi HM, Balkhy HH, Walsh TR, et al. β Lactamase production in key gram-negative pathogen isolates from the Arabian peninsula. *Clin Microbiol Rev.* 2013 Jul;26(3):361–380.

[9] Escandón-Vargas K, Reyes S, Gutiérrez S, et al. The epidemiology of carbapenemases in Latin America and the Caribbean. *Expert Rev Anti Infect Ther.* 2017 Mar;15(3):277–297.

[10] Yoon E-J, Jeong SH. Mobile carbapenemase genes in *Pseudomonas aeruginosa*. *Front Microbiol*. 2021 Feb 18;12:614058.

[11] Center for Disease Control and Prevention. 2019 AR Threats Report [Internet]. [cited 2019 May 8]. Available from: <https://www.cdc.gov/drugresistance/biggest-threats.html>.

[12] Poirel L, Nordmann P, Lagrutta E, et al. Emergence of KPC-producing *Pseudomonas aeruginosa* in the United States. *Antimicrob Agents Chemother*. 2010 Jul;54(7):3072.

[13] Walters MS, Grass JE, Bulens SN, et al. Carbapenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa* at US Emerging infections program sites, 2015. *Emerging Infect Dis*. 2019 Jul;25(7):1281–1288.

[14] Simner PJ, Opene BNA, Chambers KK, et al. Carbapenemase detection among carbapenem-resistant glucose-nonfermenting gram-negative bacilli. *J Clin Microbiol*. 2017 Sep;55(9):2858–2864.

[15] Grupper M, Sutherland C, Nicolau DP. Multicenter evaluation of ceftazidime-avibactam and ceftolozane-tazobactam inhibitory activity against meropenem-nonsusceptible *Pseudomonas aeruginosa* from blood, respiratory tract, and wounds. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017 Oct;61(10):e00875–17.

[16] Humphries RM, Hindler JA, Wong-Beringer A, et al. Activity of ceftolozane-tazobactam and ceftazidime-avibactam against beta-lactam-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates. *Antimicrob Agents Chemother*. 2017 Dec;61(12):e01858–17.

[17] Pogue JM, Kaye KS, Veve MP, et al. Ceftolozane/tazobactam vs polymyxin or aminoglycoside-based regimens for the treatment of drug-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Clin Infect Dis*. 2020 Jul 11;71(2):304–310.

[18] Hackel MA, Tsuji M, Yamano Y, et al. In vitro activity of the siderophore cephalosporin, cefiderocol, against carbapenem-nonsusceptible and multidrug-resistant isolates of gram-negative Bacilli collected worldwide in 2014 to 2016. *Antimicrob Agents Chemother*. 2018 Jan 25;62(2):e01968–17.

[19] Vasoo S, Cunningham SA, Cole NC, et al. In vitro activities of Ceftazidime-Avibactam, aztreonam-avibactam, and a panel of older and contemporary antimicrobial agents against carbapenemase-producing gram-negative bacilli. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Dec;59(12):7842–7846.

[20] Brown AC, Malik S, Huang J, et al. 484. Metallo- β Lactamase-Positive carbapenem-resistant enterobacteriaceae and *Pseudomonas aeruginosa* in the antibiotic resistance laboratory network, 2017–2018. *Open Forum Infect Dis.* 2019 Oct 23;6 (Supplement_2):S237–S237.

[21] Li H, Estabrook M, Jacoby GA, et al. In vitro susceptibility of characterized β -lactamase-producing strains tested with avibactam combinations. *Antimicrob Agents Chemother.* 2015 Mar;59(3):1789–1793.

[22] Simner PJ, Johnson JK, Brasso WB, et al. Multicenter evaluation of the modified Carbapenem inactivation method and the carba NP for detection of Carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa* and *acinetobacter baumannii*. *J Clin Microbiol.* 2018;56(1):e01369–17.

[23] Gill CM, Lasko MJ, Asempa TE, et al. Evaluation of the EDTA-modified Carbapenem inactivation method (eCIM) for detecting metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *J Clin Microbiol.* 2020 Apr 1;e02015–19.

[24] Moore NM, Li H, Schejbal D, et al. Comparison of two commercial molecular tests and a laboratory-developed modification of the CDC 2019-nCoV reverse transcriptase PCR assay for the detection of SARSCoV-2. *J Clin Microbiol.* 2020 Jul 23;58(8):e00938–20.

[25] Kanahashi T, Matsumura Y, Yamamoto M, et al. Comparison of the Xpert Carba-R and NG-test CARBA5 for the detection of carbapenemases in an IMP-type carbapenemase endemic region in Japan. *J Infect Chemother.* 2021 Mar;27(3):503–506.

[26] Gill CM, Asempa TE, Tickler IA, et al. Evaluation of the Xpert Carba-R NxG assay for detection of carbapenemase genes in a global challenge set of

Pseudomonas aeruginosa isolates. *J Clin Microbiol*. 2020 Nov 18;58(12):e01098–20.

[27] Gill CM, Asempa TE, Nicolau DP. Development and application of a pragmatic algorithm to guide definitive carbapenemase testing to identify carbapenemase-producing *Pseudomonas aeruginosa*. *Antibiotics (Basel)*. 2020 Oct 27;9(11):738.

[28] Lasko MJ, Gill CM, Asempa TE, et al. EDTA-modified carbapenem inactivation method (eCIM) for detecting IMP metallo- β -lactamase-producing *Pseudomonas aeruginosa*: an assessment of increasing EDTA concentrations. *BMC Microbiol*. 2020 Jul 20;20 (1):220.

[29] Tenover FC, Dela Cruz CM, Dewell S, et al. Does the presence of multiple β -lactamases in gramnegative bacilli impact the results of antimicrobial susceptibility tests and extended-spectrum β -lactamase and carbapenemase confirmation methods? *J Glob Antimicrob Resist*. 2020 Sep 2;23:87–93.