

УДК 061+616.9
ББК 51.90
P76

Рецензенты: *В.В. Зверев* – академик РАН, д-р мед. наук, профессор;
В.П. Сергеев – академик РАН, д-р мед. наук, профессор

Россия – Африка: опыт работы Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней/
P76 под ред. д-ра мед. наук, проф. А.Ю. Поповой, акад. РАН, д-ра мед. наук, проф. В.В. Кутырева. – Саратов: Амирит, 2023. – 244 с.

ISBN 978-5-00207-311-5

В коллективной монографии обобщен уникальный многолетний опыт российско-гвинейского сотрудничества в области противодействия инфекционным болезням, который может быть положен в основу при формировании программ научно-технического взаимодействия со многими странами Африки.

В работе освещена деятельность Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней, отображены результаты комплексных совместных научных исследований, экспедиционной и практической работы. Подведены основные итоги и намечены перспективные направления развития партнерских отношений, выстраиваемых Роспотребнадзором и профильными министерствами Гвинейской Республики.

В книге представлены неопубликованные ранее материалы, посвященные вопросам изучения циркуляции природно-очаговых и других социально значимых инфекций, в том числе новой коронавирусной инфекции COVID-19, на территории Гвинейской Республики; разработки и апробации диагностических препаратов и инновационных методов диагностики.

Благодаря полноте и разнообразию изложенного материала, значительному спектру затрагиваемых исследований книга будет интересна и полезна широкому кругу читателей: эпидемиологам, вирусологам, микробиологам, инфекционистам и врачам других специальностей.

Работа выполнена в рамках Распоряжения Правительства Российской Федерации от 14.11.2020 № 2985-р.

УДК 061+616.9
ББК 51.90

ISBN 978-5-00207-311-5

© Федеральная служба по надзору в сфере защиты прав потребителей и благополучия человека, 2023

© ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, 2023

Издание официальное. Настоящее издание не может быть полностью или частично воспроизведено, тиражировано и распространено без разрешения правообладателей

Е.Б. Зуева¹, S. Voumbaly^{2,3}, T.A.L. Balde², В.В. Скворода¹, Д.А. Васильева¹, А.В. Семенов⁴, Арег А. Тоголян¹ (¹ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация; ²Институт прикладной биологии Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика; ³Международный исследовательский центр по тропическим инфекциям в Гвинее, Н'Зерекоре, Гвинейская Республика; ⁴ФБУН «Федеральный научно-исследовательский институт вирусных инфекций «Виром» Роспотребнадзора, Екатеринбург, Российская Федерация)... 162

2.2.4. Характеристика диареогенных *Escherichia coli*, выделенных от пациентов с диарейным синдромом в Гвинейской Республике

М.А. Макарова¹, R. Balde², М.У. Воиро², З.Н. Матвеева¹, Н.П. Гладышева¹, Л.А. Кафтырева¹ (¹ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация; ²Институт прикладной биологии Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика)..... 185

2.2.5. Характеристика резистентности к антимикробным препаратам штаммов *Escherichia coli*, выделенных из микробиоты кишечника жителей Гвинейской Республики

Л.А. Кафтырева¹, R. Balde², М.А. Макарова¹, Д.Е. Полев¹, А.Т. Саитова¹, Н.П. Гладышева¹, М.У. Воиро² (¹ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация; ²Институт прикладной биологии Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика)..... 193

2.3. Современная лабораторная диагностика инфекционных болезней, актуальных для Гвинейской Республики 204

2.3.1. Разработка и апробация лабораторного варианта тест-системы, направленной на выявление антител класса IgG к вирусу желтой лихорадки

Е.И. Кривошеина¹, М.Ю. Карташов¹, С.А. Пьянков¹, Е.В. Найденова², Н.Д. Ушкаленко¹, В.А. Терновой¹, S. Voumbaly³, М.У. Воиро³, А.П. Агафонов¹ (¹ФБУН «Государственный научный центр вирусологии и биотехнологии «Вектор» Роспотребнадзора, р.п. Кольцово, Российская Федерация; ²ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Российская Федерация; ³Институт прикладной биологии Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика)..... 204

2.3.2. Разработка и апробация диагностических препаратов для ускоренного выявления возбудителей малярии

С.Ф. Бикетов¹, Е.В. Найденова², Е.В. Баранова¹, И.Ю. Щит¹, Е.А. Панферцев¹, П.В. Соловьев¹, А.А. Горбатов¹, А.Г. Шевяков¹, М.В. Храмов¹, И.А. Дятлов¹ (¹ФБУН «Государственный научный центр прикладной микробиологии и биотехнологии» Роспотребнадзора, п. Оболенск, Российская Федерация; ²ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Российская Федерация)..... 218

2.3.3. Способ выявления РНК вируса Луйо методом обратной транскрипции и полимеразной цепной реакции в режиме реального времени

Е.В. Найденова¹, В.Г. Дедков², Д.А. Агафонов¹, А.М. Сеничкина¹, В.В. Кутырев¹ (¹ФКУН Российский противочумный институт «Микроб» Роспотребнадзора, Саратов, Российская Федерация; ²ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация) 224

Глава 3. ПОДГОТОВКА СПЕЦИАЛИСТОВ – КЛЮЧЕВОЕ НАПРАВЛЕНИЕ УКРЕПЛЕНИЯ НАЦИОНАЛЬНОГО ПОТЕНЦИАЛА ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКИ И РЕАГИРОВАНИЯ НА СОВРЕМЕННЫЕ УГРОЗЫ БИОЛОГИЧЕСКОГО ХАРАКТЕРА 231

Заключение 236

2.2.5. ХАРАКТЕРИСТИКА РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИМИКРОБНЫМ ПРЕПАРАТАМ ШТАММОВ *ESCHERICHIA COLI*, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ МИКРОБИОТЫ КИШЕЧНИКА ЖИТЕЛЕЙ ГВИНЕЙСКОЙ РЕСПУБЛИКИ

*Л.А. Кафтырева¹, R. Balde², М.А. Макарова¹, Д.Е. Полев¹, А.Т. Саимова¹,
Н.П. Гладышева¹, М.У. Voiro²*

¹ФБУН «Санкт-Петербургский НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера», Санкт-Петербург, Российская Федерация; ²Институт прикладной биологии Гвинеи, Киндия, Гвинейская Республика

В последние десятилетия неблагоприятный эффект для здоровья человека связан не только с появлением «новых» инфекций или возвращением «старых», но и с появлением феномена резистентности возбудителей инфекционных заболеваний к антимикробным препаратам, приводящего к резкому снижению клинической эффективности этиотропной терапии инфекционных болезней. Широко распространенные болезни, такие как пневмония, послеоперационные инфекции, диарейные заболевания и инфекции, передаваемые половым путем, а также самые смертоносные инфекционные заболевания: туберкулез, ВИЧ и малярия, – все чаще остаются неизлечимыми по причине формирования и распространения устойчивости к лекарственным препаратам. Микроорганизмы с множественной резистентностью к АМП являются причиной возникновения тяжелых форм внутрибольничных гнойно-септических инфекций, разнообразных инфекционных заболеваний (туберкулеза, дизентерии, сальмонеллезов, брюшного тифа и др.) [1–3].

Хотя неудачи терапии, связанные с резистентностью к АМП возбудителей, и не вызывают такого общественного резонанса, как появление новых инфекций, актуальность и масштабность этой проблемы в полной мере осознана международным медицинским сообществом. В 2001 г. Всемирной организацией здравоохранения была принята «Глобальная стратегия ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам» [4]. Предотвращение формирования и распространения резистентных микроорганизмов к АМП признано ВОЗ и мировым сообществом многих стран глобальной проблемой национального приоритета и рассматривается как одна из угроз национальной безопасности [5–7]. Во многих странах разработаны национальные программы по борьбе с распространением резистентности к АМП. В феврале 2004 г. на совещании экспертов ВОЗ (Германия), посвященном ходу реализации «Глобальной стратегии ВОЗ по сдерживанию устойчивости к противомикробным препаратам», было предложено рассматривать феномен антибиотикорезистентности в бактериальных популяциях как новую инфекцию.

В 2015 г. Всемирная ассамблея здравоохранения одобрила Глобальный план действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам, цель которого состояла

в обеспечении на длительный срок стабильности успешного лечения и профилактики инфекционных болезней с помощью эффективных и безопасных лекарственных средств гарантированного качества, которые должны быть доступны всем, кто в них нуждается [8].

В ходе проведения Генеральной Ассамблеи Организации Объединенных Наций 21.09.2016 на заседании высшего уровня, посвященном резистентности возбудителей инфекционных заболеваний к АМП, руководители стран продемонстрировали растущее осознание значения этой проблемы. Это был четвертый случай, когда на заседании высшего уровня Генеральной Ассамблеи обсуждался вопрос здравоохранения. В принятой политической декларации все 193 государства – члены ООН обязались разработать межсекторальные национальные планы действий в соответствии с Глобальным планом действий по борьбе с устойчивостью к АМП, принятым Всемирной ассамблеей здравоохранения, включив вторую стратегическую задачу: накапливать знания и фактологическую базу с помощью научных исследований и проведения эпидемиологического надзора. Государства подтвердили решимость ликвидировать злоупотребление антимикробными лекарственными препаратами при лечении человека и животных, а также использовании их в сельском хозяйстве и признали необходимость создать надежные системы мониторинга инфекционных заболеваний, вызванных резистентными к АМП клонами возбудителей [8].

В настоящее время в мире растет понимание необходимости разрабатывать новые антибиотики, и на этом фоне государства-члены указали на недостатки соответствующего рынка и призвали принять новые меры для стимулирования инвестиций в исследования и разработку новых, эффективных и доступных лекарственных препаратов, средств экспресс-диагностики и других важных методов лечения, которые заменят АМП, утратившие эффективность. В ответ на этот призыв и в соответствии с Глобальным планом действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам ВОЗ, для обеспечения идентификации патогенов, вызывающих наибольшее беспокойство, разработан приоритетный перечень антибиотикорезистентных бактерий, который должен стать основой для научных исследований и разработки новых АМП [1, 9].

В 2016 г. в свете роста понимания необходимости разрабатывать новые антибиотики и в целях поддержки осуществления Глобального плана действий по борьбе с устойчивостью к противомикробным препаратам составлен список приоритетных патогенов, в который включены бактериальные возбудители инфекционных заболеваний, резистентные к АМП. Список позволит обеспечить проведение научных исследований и разработку новых и эффективных лекарственных препаратов. Составление списка также было продиктовано рекомендациями, содержащимися в опубликованном в 2016 г. докладе ООН по глобальному реагированию на кризисы в области здравоохранения, в котором обращалось особое внимание на угрозы для человечества, обусловленные резистентностью к АМП недостаточно изученных бактерий.

27.02.2017 ВОЗ публикует список 12 видов бактерий («приоритетных патогенов»), которые представляют наибольшую угрозу для здоровья человека и срочно требуется создание новых антибиотиков. В этом документе подчеркивается угроза, которую представляют грамотрицательные бактерии с множественной резистентностью к АМП, способные на генетическом уровне передавать гены, кодирующие резистентность к определенным АМП другим бактериям [9]. В списке ВОЗ бактерии разделены на три группы по уровню потребности в создании новых АМП: 1) крайне приоритетные; 2) высокоприоритетные; 3) среднеприоритетные. При внесении возбудителей в список применялись следующие критерии: летальность вызываемых ими инфекций; наличие или отсутствие необходимости длительной госпитализации; частота устойчивости к существующим АМП в медицинской практике; динамичная передача инфекции среди животных, от животных человеку и от человека че-

ловеку; наличие возможностей профилактики (пищевая гигиена, вакцинация); сколько вариантов лечения остается в распоряжении врача; находятся ли новые антибиотики от этих инфекций уже на этапе разработки.

К крайне приоритетной группе относят бактерии с множественной лекарственной устойчивостью, представляющие опасность для пациентов больниц и лечебно-реабилитационных центров, а также для пациентов, для лечения которых необходимы аппараты для искусственной вентиляции легких и венозные катетеры [10]. В эту группу входят *Acinetobacter*, *Pseudomonas* и различные виды семейства *Enterobacteriaceae* (*Klebsiella* spp., *Escherichia coli*, *Serratia*, *Proteus*) и др., которые могут вызывать тяжелые и часто смертельные инфекции (кровотока, пневмонию, сепсис). У этих бактерий сформировалась устойчивость к действию широкого ряда АМП, включая карбапенемы и цефалоспорины третьего поколения – наиболее эффективные из имеющихся препаратов для лечения бактериальных инфекций с множественной лекарственной устойчивостью. Вторая и третья группы относятся к категории с высоким и средним уровнем приоритетности: включают другие бактерии с растущей лекарственной устойчивостью, которые вызывают более распространенные заболевания, такие как гонорея, сальмонеллез, кампилобактериозы. В документе подчеркивается, что новые эффективные АМП являются жизненно необходимыми, но само по себе это не решит проблему. Для борьбы с устойчивостью к антибиотикам необходимо стремиться к рациональному использованию существующих АМП при лечении болезней людей и животных, а также рациональному использованию новых антибиотиков, которые будут появляться в будущем.

Во всех приведенных документах наряду с комплексом мероприятий, направленных на оптимизацию применения АМП, большое внимание уделяется изучению закономерностей формирования и распространения резистентности в бактериальных популяциях. В борьбе с антибиотикорезистентностью основным направлением является организация системы мониторинга циркуляции резистентных микроорганизмов и генов, детерминирующих устойчивость к АМП. Единая стандартизированная методология определения чувствительности микроорганизмов к АМП и единые критерии интерпретации, основанные на современных знаниях о механизмах резистентности и фармакокинетики АМП, позволят улучшить качество исследований и проводить эффективный мониторинг резистентности не только на уровне отдельного стационара, но и региона или страны [4, 11–14]. Проблемы в изучении бремени резистентности к АМП возбудителей различных заболеваний на сегодняшний день включают отсутствие фактических данных об инфекциях, вызываемых резистентными к антибиотикам бактериями среди населения и в медицинских организациях, данных о частоте возникновения этих инфекций и их бремени. ВОЗ испытывает недостаток качественных данных, характеризующих внебольничные инфекции и ситуацию в странах со средним и низким уровнем дохода. Очевидны значительные пробелы в эпидемиологических данных (за исключением туберкулеза), особенно в Африканском регионе и регионе Восточного Средиземноморья [15, 16]. Пробелы в оценке распространенности обусловлены не только отсутствием систем эпидемиологического надзора, но и скудными или некачественными средствами диагностики – проблемой многих стран с низким уровнем дохода [13, 17]. Резистентность к антибиотикам является многогранной межсекторальной проблемой, влияющей на человека, животных, пищу и окружающую среду, поэтому на основе взаимосвязанной и интегрированной системы «Единое здоровье» возможно обеспечить более комплексный эпидемиологический надзор, охватывающий все четыре указанных сектора. Существует неотложная потребность во внедрении более стандартизированных подходов к профилактике и контролю инфекционных заболеваний. Лечение пациентов с учетом специфики их заболевания еще более осложняется нехваткой микробиологических лабораторий в странах с низким и средним уровнем дохода [18–20].

Цель исследования – оценить уровень, спектр резистентности к антимикробным препаратам, охарактеризовать гены, кодирующие резистентность штаммов *Escherichia coli*, выделенных из проб испражнений жителей Гвинейской Республики.

Материалы и методы. Исследование проводилось в рамках научно-исследовательской работы «Изучение этиологической структуры и молекулярно-генетическая характеристика возбудителей диарейных заболеваний в Гвинейской Республике» в период 2019–2022 гг. в лаборатории Российско-Гвинейского научно-исследовательского центра эпидемиологии и профилактики инфекционных болезней Роспотребнадзора (г. Киндия, Гвинейская Республика), а также лаборатории кишечных инфекций ФБУН НИИ эпидемиологии и микробиологии имени Пастера (Санкт-Петербург, Россия).

В период 2019–2022 гг. при исследовании 724 проб испражнений детей и взрослых с диарейным синдромом были отобраны 53 штамма *E. coli* для углубленного изучения резистентности к 15 АМП разных фармакологических групп.

Ферментативную характеристику штаммов изучали набором «ЭНТЕРОтест 24» (Erba, Чехия). Чувствительность к АМП проводили диско-диффузионным методом на агаре Мюллера – Хинатон (Оболенск, Россия) с дисками Oxoid (Великобритания) согласно клиническим рекомендациям «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам» 2018–2021 гг.: к β-лактамам пенициллинам (ампициллину, амоксициллину/клавуланату); цефалоспорином III–IV поколения (цефотаксиму, цефтазидиму, цефепиму); карбапенемам (меропенему); аминогликозидам (гентамицину, тобрамицину, амикацину); тетрациклину; хлорамфениколу; хинолонам/фторхинолонам (налидиксовой кислоте и ципрофлоксацину); нитрофурантоину и триметоприму/сульфаметоксазолу. К фенотипу множественной резистентности (MDR) в соответствии с международными критериями были отнесены штаммы, устойчивые к трем классам АМП, включая продуцентов бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) и карбапенемаз; фенотипом экстремальной резистентности (XDR) характеризовали штаммы, устойчивые ко всем АМП, за исключением одного или двух классов.

Тотальную ДНК из бактериальных штаммов выделяли с использованием набора QIAamp DNA mini kit (Qiagen). Полногеномное секвенирование ДНК осуществляли с использованием платформ для секвенирования MiSeq (Illumina, США) и DNBSEQ-G50 (MGI, Китай). Для секвенирования на платформе Illumina брали по 200 нг тотальной ДНК, фрагментировали ее ультразвуком на приборе Covaris M220 (Covaris, США) и конвертировали в библиотеку ДНК с помощью набора TruSeq DNA Nano LP (Illumina, США) в соответствии с протоколом производителя. Двустороннюю размерную селекцию библиотек ДНК осуществляли с расчетом на медианное значение размера ДНК-вставки 500–550 п.н. Секвенирование проводили на приборе MiSeq с использованием реагентов MiSeq Reagent kit V3 (Illumina, США) с длиной прочтения 2×300. Для секвенирования на платформе MGI брали по 200 нг тотальной ДНК и готовили библиотеки с помощью набора MGIEasy FS DNA Kit, с ферментативной фрагментацией ДНК, в соответствии с протоколом производителя. Секвенирование проводили на приборе DNBSEQ-G50 (MGI, Китай) с длиной прочтения 2×100 с использованием наборов DNBSEQ-G50RS High-throughput Sequencing Kit (FCL PE100/FCS PE150) (MGI, Китай).

Сырые прочтения обрабатывали программой Trim Galore! (версия 0.6.7) для удаления последовательностей адаптеров и обрезки по качеству. Контроль качества обработки осуществляли в программе FastQC (версия 0.11.9). Сборку геномов осуществляли *de novo* с помощью ПО SPAdes assembler (версия 3.13.1) [21]. Результаты сборки оценивали в QUAST (версия 5.2.0) [22]. Поиск генетических факторов устойчивости к АМП проводили в программе ResFinder [23].

Результаты. Из 15 тестируемых АМП не выявлены резистентные штаммы *E. coli* к меропенему (группа карбапенемов), амикацину (группа аминогликозидов) и нитрофурантоину (группа нитрофуранов) (рис. 2.29).

Из 53 изученных штаммов *E. coli* 52 (98,1 %) характеризовались резистентностью к АМП.

Доля штаммов, резистентных к б-лактамам АМП, составила 88,7 % к ампициллину и 26,4 % к цефалоспорином III–IV поколения. К хинолонам (налиндиксовой кислоте) и фторхинолонам (ципрофлоксацину) резистентность выявлена у 34 и 1,9 % штаммов соответственно. Отмечены высокие уровни резистентности к тетрациклину (66,0 %) и триметоприму/сульфаметоксазолу (71,7 %). К аминогликозидам резистентность выявлена у 17,0 % штаммов к гентамицину и 13,2 % к тобрамицину.

Анализ геномов с помощью платформы ResFinder 2.1 (<https://cge.cbs.dtu.dk/services/ResFinder/>) показал наличие генов резистентности к б-лактамам, тетрациклину, хлорамфениколу, аминогликозидам, триметоприму/сульфаметоксазолу и однонуклеотидных замен и мутаций в генах *gyrA*, *parC* и *parE*, обуславливающих резистентность к хинолонам и фторхинолонам (табл. 2.65).

По суммарным данным резистентность штаммов *E. coli* к ампициллину и цефалоспорином III–IV поколения была обусловлена продукцией б-лактамаз генетических семейств TEM-1, OXA-1 и CTX-M, кодируемых генами *blaTEM-1*, *blaOXA-1*, *blaCTX-M-15*, *blaCTX-M-27* и *blaCTX-M-42*. Гены резистентности к б-лактамам препаратам выявлены в сочетаниях и изолированно (*blaTEM-1 ϵ* + *blaOXA-1*; *blaTEM-1 ϵ* + *blaCTX-M-15*; *blaTEM-1 ϵ* + *blaCTX-M-27*; *blaCTX-M-42* + *blaCTX-M-15* и др.).

У фенотипически резистентных к группе хинолонов/фторхинолонов штаммов выявлены хромосомные мутации (однонуклеотидные замены) в генах *gyrA*, *parC*, *parE*; плазмидопосредованные гены (*qnr* и др.) не обнаружены. В то же время у пяти штаммов,

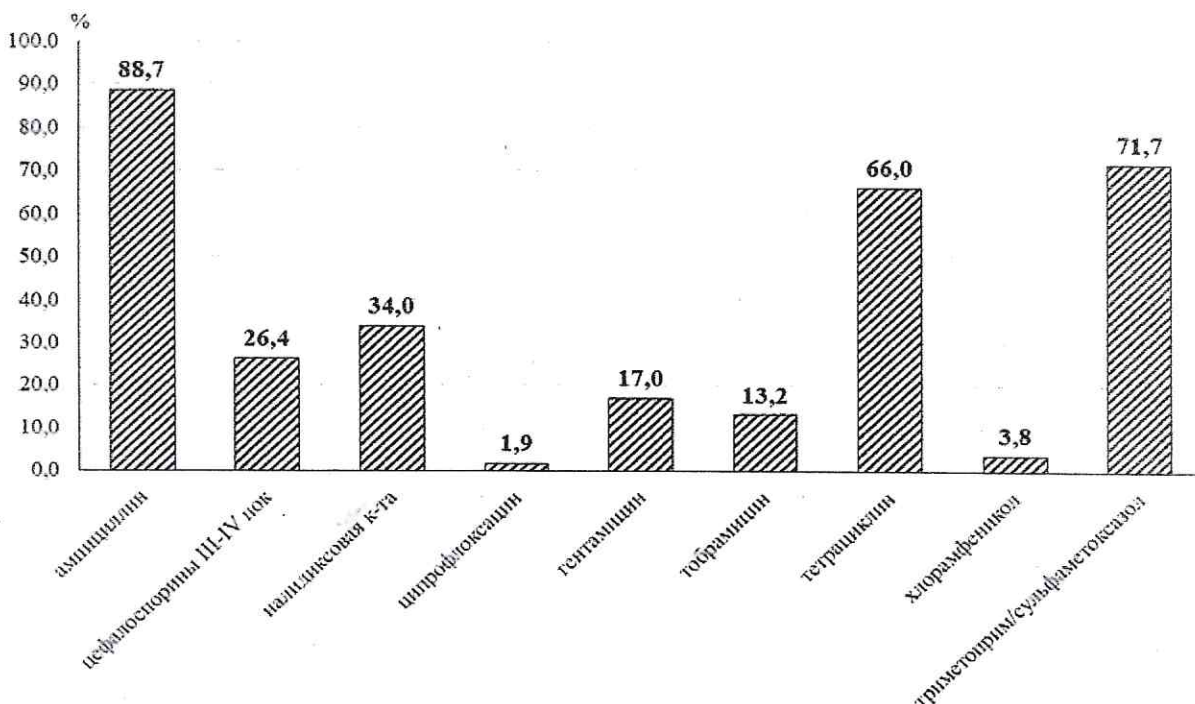


Рис. 2.29. Доля резистентных штаммов в популяции *E. coli*, выделенных из проб испражнений пациентов Гвинеической Республики с диарейным синдромом

Таблица 2.65

Генетические детерминанты, определяющие резистентность к АМП штаммов *E. coli*, выделенных в Гвинейской Республике

Антимикробный препарат	Детерминанты резистентности	
	ген	число штаммов, абс.
Аминопенициллины (ампициллин)	<i>bla</i> _{TEM-1}	48
	<i>bla</i> _{OXA-1}	3
Цефалоспорины III–IV поколения	<i>bla</i> _{CIX-M-15}	7
	<i>bla</i> _{CIX-M-27}	7
	<i>bla</i> _{CIX-M-42}	1
Налидиксовая кислота	* <i>gyrA</i> p. S83A	1
	* <i>gyrA</i> p. S83L	16
	* <i>parE</i> p. I529L	7
Ципрофлоксацин	* <i>gyrA</i> p. D87N	1
	* <i>parC</i> p. S57T	1
	* <i>parC</i> p. S80T	1
	* <i>parE</i> p. S458A	1
Аминогликозиды (гентамицин, тобрамицин)	<i>aac(3)-IIId</i>	8
Тетрациклин	<i>tetA</i>	21
	<i>tetB</i>	12
	<i>tetD</i>	5
Хлорамфеникол	<i>catA</i>	2
Триметоприм/сульфаметоксазол	<i>dfrA</i>	38
	<i>sul1</i>	11
	<i>sul2</i>	33

* мутации/нуклеотидные замены в хромосомных генах.

фенотипически чувствительных к налидиксовой кислоте, выявлен плазмидоопосредованный ген *qnrS1*, определяющий резистентность низкого уровня к хинолонам.

Во всех случаях устойчивость к аминогликозидам (гентамицину и тобрамицину) была опосредована синтезом бифункционального фермента AAC(3'), кодируемого геном *aac(3)-IIId*.

Резистентность к тетрациклину была обусловлена продукцией эффлюкс генов, кодируемых *tetA*, *tetB*, *tetD*.

Устойчивость штаммов к комбинированному препарату триметоприму/сульфаметоксазолу была обусловлена наличием генов резистентности к триметоприму (*dfrA*) и сульфаметоксазолу (*sul1* и/или *sul2*).

По результатам изучения резистентности штаммов диско-диффузионным методом (ДДМ) были выявлены 13 фенотипов резистентности (табл. 2.66). Семь штаммов (13,2 %) характеризовались резистентностью к одному АМП, 49 % были резистентны к трем классам, 15,1 % – к четырем, 18,9 % – к пяти и один штамм (1,9 %) – к шести классам АМП.

Таблица 2.66

**Фенотипическая и генетическая характеристика резистентности
к АМП штаммов *E. coli* в Гвинеической Республике**

Резистентность			
фенотип	n	генотип	n
АМП	5	<i>bla</i> _{TEM-1}	4
НК	1	<i>gyrA p. S83L</i>	1
ТЕТ	1	<i>tetA</i>	1
АМП+ТЕТ+ТСМ	24	<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>tetD</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul2</i>	1
		<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>tetA</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul1</i>	1
		<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>tetA</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul2</i>	6
		<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>tetB</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul2</i>	5
		<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>tetA</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul1</i> + <i>sul2</i>	9
		<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>tetA</i> + <i>tetB</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul1</i>	1
		<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>tetD</i> + <i>dfrA</i>	1
АМП+НК+ТСМ	2	<i>bla</i> _{TEM-1} +* <i>gyrA p. S83L</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul2</i>	2
АМП+ЦС+НК+ТСМ	2	<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>bla</i> _{CIX-M-15} + <i>bla</i> _{CIX-M-42} +* <i>gyrA p. S83A</i> + <i>dfrA</i>	2
АМП+ЦС+ТЕТ+ТСМ	3	<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>bla</i> _{CIX-M-15} + <i>tetA</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul2</i>	2
		<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>bla</i> _{CIX-M-15} + <i>tetB</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul2</i>	1
АМП+НК+ТЕТ+ТСМ	2	<i>bla</i> _{TEM-1} +* <i>gyrA p. S83L</i> + <i>tetA</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul2</i>	1
		<i>bla</i> _{TEM-1} +* <i>gyrA p. S83L</i> + <i>tetB</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul2</i>	1
НК+ТЕТ+ТСМ+ГЕН	1	* <i>gyrA p. S83L</i> + <i>tetA</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul2</i> + <i>aac(3)-IId</i>	1
АМП+ЦС+НК+ГЕН+ТОБ	7	<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>bla</i> _{CIX-M-27} +* <i>gyrA p. S83L</i> +* <i>parE p. I529L</i> + <i>aac(3)-IId</i>	7
АМП+ЦС+ТЕТ+ТСМ+ГЕН	1	<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>bla</i> _{CIX-M-15} + <i>tetB</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul2</i> + <i>aac(3)-IId</i>	1
АМП+НК+ТЕТ+ТСМ+ХФ	2	<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>bla</i> _{OXA-1} +* <i>gyrA p. S83L</i> + <i>tetB</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul2</i> + <i>catA</i>	2
АМП+ЦС+НК+ЦИП+- ТЕТ+ТСМ	1	<i>bla</i> _{TEM-1} + <i>bla</i> _{OXA-1} + <i>bla</i> _{CIX-M-15} +* <i>gyrA p. S83L</i> +* <i>gyrA p. D87N</i> +* <i>parC p. S57T</i> +* <i>parC p. S80T</i> + <i>parE p. S458A</i> + <i>tetD</i> + <i>dfrA</i> + <i>sul2</i>	1
Всего	13		Всего 22

Примечание: АМП – ампициллин; ЦС – цефалоспорины III–IV поколения; НК – налидиксовая кислота; ЦИП – ципрофлоксацин; ГЕН – гентамицин; ТОБ – тобрамицин; ТЕТ – тетрациклин; ХФ – хлорамфеникол; ТСМ – триметоприм/сульфаметоксазол.

MDR-фенотип выявлен у 88,7 % изученных штаммов. Статистически значимо превалировал фенотип сочетанной резистентности: ампициллин+тетрациклин+триметоприм/сульфаметоксазол, $p < 0,05$.

Анализ присутствия генетических детерминант выявил 22 генотипа, что свидетельствует о высокой гетерогенности фенотипов резистентности штаммов *E. coli*, выделенных при диарейных заболеваниях жителей Гвинеической Республики. Наиболее распространенный фенотип резистентности (АМП+ТЕТ+ТСМ), выявленный у 24 из 52 (46,15 %) устойчивых штаммов, представлен семью генотипами.

Устойчивость к дезинфектантам отмечена у 81 % штаммов, имевших гены устойчивости к четвертичным аммониевым соединениям (ген *qacE*), кислородоактивным соединениям (ген *sitABCD*) и/или альдегидам (ген *formA*).

В арсенале современных методологий изучения эпидемиологических, микробиологических, молекулярно-генетических особенностей возбудителей инфекционных заболеваний есть большой набор методов, необходимых для точной видовой идентификации и детекции конкретных биологических свойств клинически значимых микроорганизмов. Внедрение в практику методов полногеномного секвенирования является необходимой мерой, которая позволит сократить трудо- и времязатраты на изучение штаммов/клонов за счет сведения большей части лабораторных процедур к выделению тотальной ДНК бактерий и единому протоколу пробоподготовки, секвенирования и анализа данных.

Проведенное нами исследование с использованием методов полногеномного секвенирования показало, что в Гвинейской Республике резистентность к АМП в популяции *E. coli* достигла значительного уровня. 98 % изученных штаммов характеризовались спектром резистентности, включающим от 1 (ампициллин) до 9 различных АМП (ампициллин и цефалоспорины III и IV поколения, хинолоны и фторхинолоны, аминогликозиды, тетрациклины, триметоприм/сульфаметоксазол, хлорамфеникол), а также дезинфектанты, широко применяемые в разных странах мира.

Известно, что основным фактором, определяющим формирование устойчивости, является избыточное и неправильное применение АМП, а также отсутствие программ учета и контроля данных их потребления для понимания ситуации на глобальном уровне, в каждой стране и конкретном стационаре. Эта проблема в первую очередь требует решения на стационарном этапе оказания медицинской помощи для ограничения циркуляции «госпитальных штаммов» бактерий с множественным и экстремальным фенотипом резистентности. Частое назначение пациентам антибиотиков из групп риска создает условия для селекции резистентных клонов возбудителей и быстрого развития устойчивости к ним.

Наши исследования показали, что в Гвинейской Республике пациенты уже на этапе оказания медицинской помощи в амбулаторных условиях колонизированы возбудителем *E. coli* с фенотипом множественной лекарственной устойчивости.

Устойчивость к АМП продолжает оставаться глобальной проблемой во многих частях мира. Ее масштабы недостаточно изучены, в частности данные о резистентности к АМП возбудителей бактериальных инфекций, в том числе ИСМП, отсутствуют для 42,6 % стран Африканского континента [16]. На сегодняшний день Африка относится к континенту с самыми высокими показателями резистентности к АМП в мире. Устойчивость штаммов в популяциях *Streptococcus pneumoniae* к пенициллину составляет 26,7 %, устойчивость к амоксициллину *Haemophilus influenzae* – 34,0 %. Резистентность к амоксициллину, триметоприму и гентамицину штаммов *E. coli* достигает 88,1; 80,7 и 29,8 % соответственно [16]. Сообщения о резистентности *Neisseria gonorrhoeae* к цефтриаксону отсутствуют, а резистентность к хинолонам составляет 37,5 %. Высокая резистентность к карбапенемам характерна для штаммов *Acinetobacter* spp. и *Pseudomonas aeruginosa* (возбудителей внутрибольничных инфекций – ИСМП), но редко встречается у представителей семейства *Enterobacteriaceae*. Уровень резистентности к обычно назначаемым АМП был значительным. Пенициллины, цефтриаксон и метронидазол были наиболее назначаемыми АМП, а длительное назначение АМП (до 6 дней и более) после хирургических операции проводится практически во всех странах Африки для профилактики инфекций, в области хирургического вмешательства.

Существуют серьезные опасения по поводу роста резистентности к АМП во многих странах мира, что может привести к увеличению заболеваемости и смертности в этих странах, а также к значительным экономическим затратам. Эти опасения привели к появлению множества инициатив на глобальном и национальном уровнях под эгидой ВОЗ, включая

разработку национальных планов действий по сдерживанию развития резистентности к используемым АМП и рациональному использованию АМП [15, 20, 24–28].

Недавнее исследование показало, что только в 2019 г. во всем мире было зарегистрировано 1,27 млн смертей, связанных с обусловленными резистентными к АМП возбудителями инфекционных заболеваний, с наибольшим бременем в странах Западной Африки [24]. Наряду с этим высокий уровень свободного назначения и продажи АМП отмечается во всех секторах экономики Африки, в том числе при ОРВИ [29]. Потребление АМП в сельскохозяйственных секторах во всех странах Африки так же вызывает озабоченность, поскольку увеличивает давление отбора для резистентных клонов возбудителей [20, 27, 30]. Первоочередной задачей в странах Африки является подход «Единое здоровье» в сочетании с мерами по запрету самостоятельной покупки АМП для снижения резистентности в будущем.

Опасения по поводу роста заболеваемости, смертности и затрат, связанных с устойчивостью к АМП, привели к множеству международных, региональных, национальных и местных мероприятий и стратегий, направленных на решение этой ситуации, включая подход «Единое здоровье» и разработку глобальных планов действий по борьбе с устойчивостью к АМП [4, 7, 14, 28, 31, 32]. В настоящее время в Африке и за ее пределами все чаще принимается оценка назначений АМП в соответствии с современными рекомендациями ВОЗ, учитывая масштабы текущего назначения АМП. На сегодняшний день африканские страны находятся на разных этапах реализации и мониторинга своих планов действий. Ключевым направлением деятельности в рамках национальных планов действий является понимание текущих моделей использования АМП и развития резистентности.

Некоторые африканские страны имеют высокие показатели использования АМП в больницах, опубликованные исследования по всей Африке сообщают о распространенности от 52,0 до 88,2 % среди пациентов стационаров [10, 12–14, 26, 32].

Неправильное использование АМП усугубляется национальными рекомендациями в Африке, в которых предлагается назначать ряд АМП пациентам с COVID-19 и другими вирусными инфекциями.

Список литературы

1. Всемирная организация здравоохранения: Приоритизация патогенов как ориентир для поиска, научного исследования и разработки новых антибиотиков для лечения инфекций, вызванных лекарственно-резистентными бактериями, включая туберкулез [Prioritization of pathogens to guide discovery, research and development of new antibiotics for drug-resistant bacterial infections, including tuberculosis], 2021. Лицензия: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. – URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/311820/9789240026384-rus.pdf?sequence=7&isAllowed=y>.
2. Всемирная организация здравоохранения: сайт: ВОЗ публикует список бактерий, для борьбы с которыми срочно требуется создание новых антибиотиков, 2017. – URL: <https://www.who.int/ru/news/item/27-02-2017-who-publishes-list-of-bacteria-for-which-new-antibiotics-are-urgently-needed>.
3. Bell D., Hansen K.S. Relative burdens of the COVID-19, malaria, tuberculosis, and HIV/AIDS epidemics in sub-Saharan Africa // *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*. – 2021. – Vol. 105, No. 6. – P. 1510.
4. World Health Organization: Global strategy for containment of antimicrobial resistance, 2001. – URL: http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/66860/WHO_CDS_CSR_DRS_2001.2.pdf;jsessionid=992915BD0DC-QC50AD5A4658B8520C1F4?sequence=1.
5. Dailynews: сайт. Обновляется в течение суток: Ngwenya R. Drug resistance now a pandemic: Chiwenga. – URL: <https://dailynews.co.zw/drug-resistance-now-a-pandemic-chiwenga/> (дата обращения: 16.12.2021).
6. National Intelligence Estimate: National intelligence council. The global infectious disease threat and its implications for the United States, 2000. — URL: https://www.dni.gov/files/documents/infectiousdiseases_2000.pdf.
7. World Health Organization: Central Asian and European surveillance of antimicrobial resistance: annual report 2020, 2020. – URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/345873/WHO-EURO-2020-3469-43228-60585-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.

8. World Health Organization: Global Action Plan on Antimicrobial Resistance, 2016. – URL: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/864486/retrieve>.
9. Всемирная организация здравоохранения: Реализация стратегии ликвидации туберкулеза: основные положения [Implementing the end TB strategy: the essentials], 2018. Лицензия: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. – URL: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1211258/retrieve>.
10. Tornberg-Belanger S.N. et al. Antimicrobial resistance including Extended Spectrum Beta Lactamases (ESBL) among *E. coli* isolated from Kenyan children at hospital discharge // PLoS Neglected Tropical Diseases. – 2022. – Vol. 16, No. 3. – P. E0010283.
11. Murray C.J.L. et al. Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis // The Lancet. – 2022. – Vol. 399, No. 10325. – P. 629–655.
12. Vincent J.L. et al. International study of the prevalence and outcomes of infection in intensive care units // Jama. – 2009. – Vol. 302, No. 21. – P. 2323–2329.
13. World Health Organization: Antimicrobial stewardship programmes in health-care facilities in low- and middle-income countries. A practical toolkit, 2019. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. – URL: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1257395/retrieve>.
14. World Health Organization: GLASS guide for national surveillance systems for monitoring antimicrobial consumption in hospitals, 2020. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. – URL: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1312893/retrieve>.
15. Revive.GARDP: сайт: Mirfin Mpundu / Moving from paper to action – The status of National AMR Action Plans in African countries. – URL: <https://revive.gardp.org/moving-from-paper-to-action-the-status-of-national-amr-action-plans-in-african-countries/>.
16. Tadesse B.T. et al. Antimicrobial resistance in Africa: a systematic review // BMC Infectious Diseases. – 2017. – Vol. 17. – P. 1–17.
17. Ayukekbong J.A., Ntemgwa M., Atabe A.N. The threat of antimicrobial resistance in developing countries: causes and control strategies // Antimicrobial Resistance & Infection Control. – 2017. – Vol. 6, No. 1. – P. 1–8.
18. Founou L.L. et al. Antibiotic resistance in food animals in Africa: a systematic review and meta-analysis // Microbial Drug Resistance. – 2018. – Vol. 24, No. 5. – P. 648–665.
19. Godman B. et al. Tackling antimicrobial resistance across sub-Saharan Africa: Current challenges and implications for the future // Expert Opinion on Drug Safety. – 2022. – Vol. 21, No. 8. – P. 1089–1111.
20. Nayiga S. et al. Use of antibiotics to treat humans and animals in Uganda: a cross-sectional survey of households and farmers in rural, urban and peri-urban settings // JAC Antimicrob Resist. – 2020. – Vol. 2, No. 4. – P. dlaa082.
21. Prjibelski A. et al. Using SPAdes de novo assembler // Current Protocols in Bioinformatics. – 2020. – Vol. 70, No. 1. – P. E102.
22. Gurevich A. et al. QUAST: quality assessment tool for genome assemblies // Bioinformatics. – 2013. – Vol. 29, No. 8. – P. 1072–1075.
23. Zankari E. et al. Identification of acquired antimicrobial resistance genes // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2012. – Vol. 67, No. 11. – P. 2640–2644.
24. Financial Times: сайт: David Pilling. Antibiotic resistance in Africa: ‘a pandemic that is already here’. – URL: <https://www.ft.com/content/95f150df-5ce6-43cf-aa8d-01ac3bdcff0ef>. (дата обращения: 07.03.2022).
25. Kalungia A.C. et al. Non-prescription sale and dispensing of antibiotics in community pharmacies in Zambia // Expert Review of Anti-Infective Therapy. – 2016. – Vol. 14, No. 12. – P. 1215–1223.
26. WHO Regional Office for Europe: WHO Regional Office for Europe Antimicrobial Medicines Consumption (AMC) Network: AMC data, 2014–2018, 2021. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. – URL: <https://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/342930/9789289055567-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.
27. World Health Organization: Monitoring global progress on antimicrobial resistance: Tripartite AMR country self-assessment survey (TrACSS) 2019–2020. Global analysis report, 2019. – URL: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1336519/retrieve>.
28. World Health Organization: WHO implementation handbook for national action plans on antimicrobial resistance: guidance for the human health sector, 2022. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. – URL: <https://apps.who.int/iris/rest/bitstreams/1412287/retrieve>.
29. Kibuule D., Kagoya H.R., Godman B. Antibiotic use in acute respiratory infections in under-fives in Uganda: findings and implications // Expert Review of Anti-Infective Therapy. – 2016. – Vol. 14, No. 9. – P. 863–872.

30. Federal Ministries of Agriculture, Enviroment and Health: National Action Plan for Antimicrobial Resistance 2017–2022, 2017 – URL: https://ncdc.gov.ng/themes/common/docs/protocols/77_1511368219.pdf.
31. World Health Organization: European strategic action plan on antibiotic resistance, 2011. – URL: https://www.euro.who.int/__data/assets/pdf_file/0008/147734/wd14E_AntibioticResistance_111380.pdf.
32. World Health Organization: Guidelines on core components of infection prevention and control programmes at the national and acute health care facility level, 2016. Licence: CC BY-NC-SA 3.0 IGO. – URL: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/251730/9789241549929-eng.pdf?sequence=1&isAllowed=y>.