

## МИКРОБИОЛОГИЯ И ВИРУСОЛОГИЯ

УДК 615.33.015.8:579.842.16

Анганова Е.В.<sup>1,2</sup>, Распопина Л.В.<sup>1,3</sup>, Ветохина А.В.<sup>1,4</sup>, Духанина А.В.<sup>2</sup>

### АНТИБИОТИКОУСТОЙЧИВОСТЬ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* К ПРЕПАРАТАМ ЦЕФАЛОСПОРИНОВОГО РЯДА

<sup>1</sup> Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования – филиал ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России (664079, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

<sup>2</sup> ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664025, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 3, Россия)

<sup>3</sup> ОГБУЗ «Иркутская областная инфекционная клиническая больница» (664043, г. Иркутск, ул. Маршала Конева, 90, Россия)

<sup>4</sup> ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак почёта» областная клиническая больница» (664079, г. Иркутск, Юбилейный, 100, Россия)

*Klebsiella pneumoniae* относятся к группе наиболее распространённых и опасных возбудителей инфекционных болезней человека. Несомненный интерес представляет изучение их резистентности к β-лактамным антибиотикам, в частности, к цефалоспорином, широко используемым в антиинфекционной терапии. Цель работы: изучение устойчивости *K. pneumoniae* к цефалоспорином.

Материалы и методы. Исследовано 50 штаммов *K. pneumoniae*, изолированных от больных, находящихся на лечении в Иркутской областной клинической больнице в 2015 г. (мокрота, лаважная жидкость, кровь), а также из секционного материала. Резистентность к четырём антибиотикам (цефотаксим, цефтриаксон, цефтазидим, цефепим) определяли диско-диффузионным методом.

Результаты исследования. Установлено, что к цефалоспорином III поколения были устойчивы 56,0–62,0 % штаммов *K. pneumoniae*; к препарату IV поколения – 58,0 % штаммов. Наиболее высокая резистентность была выявлена в отношении цефтазидима (резистентны 62,0 % штаммов; умеренно резистентны – 20,0 %). Спектр устойчивости ко всем четырём антибиотикам выявлен у 52,0 % штаммов; перекрёстная устойчивость к препаратам цефалоспоринового ряда – у 64,0 %. Устойчивость изолятов из секционного материала была выше, чем у клебсиелл, изолированных из органов и тканей больных. Клебсиеллы, выделенные из лаважной жидкости, чаще ( $p < 0,05$ ) проявляли резистентность к препаратам цефалоспоринового ряда, по сравнению со штаммами, изолированными из мокроты.

Заключение. Штаммы *Klebsiella pneumoniae* характеризуются значительным уровнем резистентности к β-лактамным антибиотикам цефалоспоринового ряда.

**Ключевые слова:** *Klebsiella pneumoniae*, антибиотикорезистентность, цефалоспорины

### ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* TO CEPHALOSPORINS

Anganova E.V.<sup>1,2</sup>, Raspopina L.A.<sup>1,3</sup>, Vetokhina A.V.<sup>1,4</sup>, Dukhanina A.V.<sup>2</sup>

<sup>1</sup> Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education (664079, Irkutsk, Yubileyniy, 100, Russian Federation)

<sup>2</sup> Scientific Center for Family Health and Human Reproduction Problems (664025, Irkutsk, ul. Karla Marksa, 3, Russian Federation)

<sup>3</sup> Irkutsk Regional Clinical Hospital for Infectious Diseases (664043, Irkutsk, ul. Marshala Koneva, 90, Russian Federation)

<sup>4</sup> Irkutsk Regional Clinical Hospital (664079, Irkutsk, Yubileyniy, 100, Russian Federation)

Bacteria *Klebsiella pneumoniae* is one of the most common and dangerous pathogens of human infectious diseases. The research of *K. pneumoniae* resistance to β-lactam antibiotics (cephalosporins), which are widely used in anti-infective therapy, is very relevant. The aims of the work is to study *K. pneumoniae* resistance to cephalosporins. Fifty strains of *K. pneumoniae* isolated from patients (sputum, lavage liquid, blood) of Irkutsk Regional Clinical Hospital and sectional material in 2015 were examined. Resistance to four antibiotics (cefotaxime, ceftriaxone, ceftazidime, cefepime) was determined by disco-diffusion method. 56.0-62.0 % of *K. pneumoniae* strains were resistant to drugs of III generation cephalosporins; 58.0 % – to drug of IV generation (cefepime). *Klebsiella* strains showed the highest resistance to ceftazidime (resistance – 62.0 %; intermediate – 20.0 %). The spectrum of resistance to all four antibiotics was revealed in 52.0 % of strains, cross-resistance – in 64.0 %. The resistance of *K. pneumoniae* from the sectional material was higher than resistance of *Klebsiella* isolated from the organs and tissues of the patients. *Klebsiella* isolated from the lavage fluid more often ( $p < 0.05$ ) showed resistance to cephalosporins compared to strains isolated from sputum. The research brought us to the conclusion that *Klebsiella pneumoniae* strains were characterized by a significant level of resistance to β-lactam antibiotics (cephalosporins).

**Key words:** *Klebsiella pneumoniae*, antibiotic resistance, cephalosporins

Бактерии *Klebsiella pneumoniae* являются одними из наиболее распространённых возбудителей инфекционных болезней. Клебсиеллы могут вызывать различные инфекционные заболевания человека: инфекции мочевыводящих и дыхательных путей, острые кишечные инфекции, септицемии, инфекции кожи и мягких тканей и т. д. [1, 9]. Штаммы *K. pneumoniae*, устойчивые к антимикробным препаратам (АМП), представляют серьёзную проблему для практического здравоохранения [2, 3, 8] и отнесены ВОЗ в группу возбудителей с «критически высоким уровнем приоритетности» [10]. Особенно актуальным является вопрос резистентности клебсиелл к  $\beta$ -лактамам антибиотикам, в том числе к цефалоспорином, представляющим наиболее обширный класс АМП и относящимся к важнейшим противобактериальным лекарственным средствам [4]. Благодаря высокой эффективности и низкой токсичности, цефалоспорины занимают одно из первых мест по частоте клинического использования среди всех антимикробных препаратов. Однако в настоящее время имеет место рост устойчивости микроорганизмов, в т. ч. клебсиелл, к препаратам данной группы. В докладе ВОЗ «Устойчивость к антибиотикам – серьёзная угроза общественному здравоохранению» в 2014 г. отмечались широкое распространение в мире и высокая частота встречаемости устойчивости *K. pneumoniae* к цефалоспорином, в т. ч. III поколения. В последние годы отмечается стремительное распространение  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра СТХ-М-типа, особенностью которых является более высокая способность гидролизовать цефалоспорин IV поколения – цефепим.

Учитывая, что проблема инфекций, вызванных антибиотикорезистентными микроорганизмами, является сегодня предметом особой обеспокоенности как врачей, так и организаторов здравоохранения [6], изучение антибиотикоустойчивости бактерий *Klebsiella pneumoniae* является крайне актуальной задачей.

### ЦЕЛЬ ИССЛЕДОВАНИЯ

Оценка уровня устойчивости к препаратам цефалоспоринового ряда *K. pneumoniae*, изолированных из различных органов и тканей больных, а также из секционного материала.

### МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Исследовали штаммы *Klebsiella pneumoniae*, выделенные из различных органов и тканей 44 больных с гнойно-септическими осложнениями, находившихся на стационарном лечении в Иркутской областной клинической больнице в 2015 г. (в т. ч. лаважная бронхоальвеолярная жидкость, мокрота, кровь), а также из секционного материала – 10 образцов (материал головного мозга, сердца, лёгкого, трахеобронхиального дерева). Всего исследовано 50 штаммов клебсиелл. Идентификацию микроорганизмов проводили методами традиционной таксономии с учётом морфологических, культуральных, биохимических и антигенных свойств [7], определение антибиотикорезистентности – стандартизованным диско-диффузионным методом. Использовали четыре антибиотика цефалоспоринового ряда, в т. ч. препараты III поколения – цефотаксим (FOX), цефтриаксон (CRO), цефтазидим (CAZ), IV поколения – цефепим (FEP). Результаты интерпретировали следующим образом: штаммы резистентные (R), чувствительные (S), умеренно резистентные (I). Статистическую обработку данных осуществляли в соответствии с общепринятыми методиками [5].

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Установлено, что к цефалоспорином III поколения (цефотаксим, цефтриаксон, цефтазидим) были устойчивы более половины исследованных изолятов. Количество антибиотикорезистентных штаммов варьировало на уровне 56,0–62,0 %. Обращает на себя внимание значительное количество штаммов *K. pneumoniae*, умеренно резистентных к цефтазидиму (20,0 %). Цефтазидим (с учётом умеренно резистентных изолятов) характеризовался среди цефалоспоринов III поколения наименьшей активностью ( $p < 0,05$ ). К цефалоспорину IV поколения – цефепиму – были устойчивы 58,0 % *K. pneumoniae* (табл. 1).

Проведённые нами исследования показали, что резистентность изолятов *K. pneumoniae* из секционного материала была выше, чем у клебсиелл, изолированных от больных из различных органов и тканей; при этом значимые различия выявлены в отношении цефотаксима – 80,0 % и 50,0 % соответственно ( $p < 0,05$ ). Следует отметить, что штаммов, выделенных из секционного материала, чувствительных к цефтазидиму, не

Таблица 1

Резистентность *Klebsiella pneumoniae* к препаратам цефалоспоринового ряда (%)

| Антимикробный препарат | Материал от больных (n = 40)             |      |      | Секционный материал (n = 10) |      |      | Всего (n = 50) |      |      |
|------------------------|--|------|------|------------------------------|------|------|----------------|------|------|
|                        | Характеристика антибиотикорезистентности |      |      |                              |      |      |                |      |      |
|                        | R  | S    | I    | R                            | S    | I    | R              | S    | I    |
| Цефотаксим             | 50,0                                     | 50,0 | 0,0  | 80,0                         | 20,0 | 0,0  | 56,0           | 44,0 | 0,0  |
| Цефтриаксон            | 57,5                                     | 42,5 | 0,0  | 80,0                         | 20,0 | 0,0  | 60,0           | 40,0 | 0,0  |
| Цефтазидим             | 60,0                                     | 25,0 | 15,0 | 70,0                         | 0,0  | 30,0 | 62,0           | 18,0 | 20,0 |
| Цефепим                | 52,5                                     | 45,0 | 2,5  | 80,0                         | 20,0 | 0,0  | 58,0           | 40,0 | 2,0  |

Примечание. R – резистентные; S – чувствительные; I – умеренно резистентные.

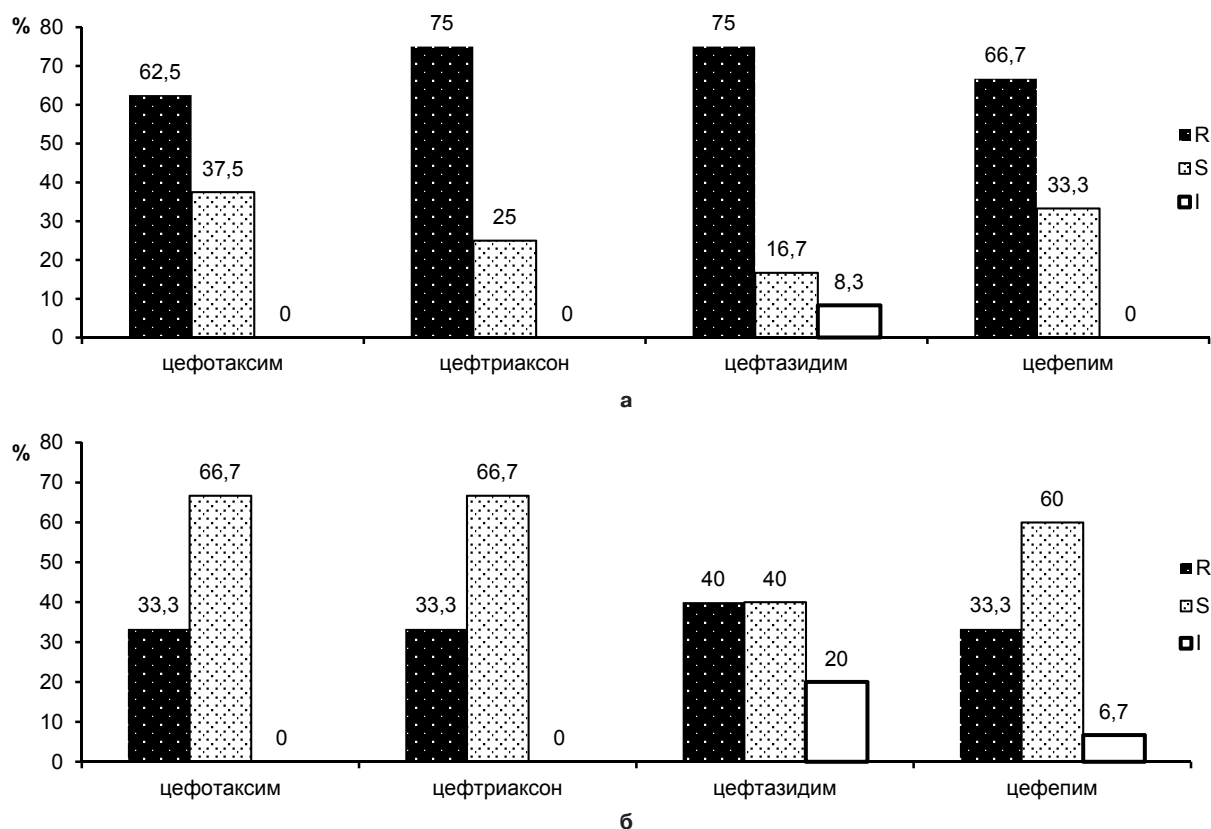


Рис. 1. Антибиотикорезистентность штаммов *Klebsiella pneumoniae*, изолированных из лаважной жидкости (а) и мокроты (б) (%).

выявлено: все изоляты оказались либо резистентными (70,0 %) либо умеренно устойчивыми (30,0 %).

Клебсиеллы, выделенные из лаважной жидкости (рис. 1а), практически в два раза чаще ( $p < 0,05$ ) проявляли резистентность к препаратам цефалоспоринового ряда, по сравнению со штаммами, изолированными из мокроты (рис. 1б). Так, клебсиеллы, изолированные из лаважной жидкости, были устойчивы к цефотаксиму в 62,5 % случаев, из мокроты – в 33,3 %; к цефтриаксону – в 75,0 % и 33,3 % случаев соответственно; к цефтазидиму – в 75,0 % и 40,0 % случаев соответственно; к цефепиму – в 66,7 % и 33,3 % случаев соответственно.

Изоляты *K.pneumoniae*, полученные из секционного материала (сердце – 1 штамм, трахеобронхиальное дерево – 1 штамм, головной мозг – 1 штамм), были устойчивы ко всем четырём антимикробным препаратам. Клебсиеллы, выделенные из лёгких (7 штаммов из секционного материала) к цефотаксиму, цефтриаксону и цефепиму были резистентны в 71,5 % случаев; к цефтазидиму – в 57,1 % случаев. При этом среди *K. pneumoniae*, выделенных из лёгких, не было штаммов, чувствительных к цефтазидиму: 42,9 % изолятов оказались умеренно резистентными.

У половины исследованных штаммов (52,0 %) установлен фенотип резистентности ко всем четырём исследованным антимикробным препаратам (CRO, CAZ, CTX, FEP), в т. ч. у клебсиелл, изолированных из различных органов и тканей – 43,2 % (из них из лаважной жидкости – 58,3 %; из мокроты – 50,0 %); из секционного материала – 70,0 % ( $p > 0,05$ ).

Перекрёстная устойчивость к препаратам цефалоспоринового ряда выявлена у 64,0 % изолятов, в т. ч. у клебсиелл, выделенных из различных органов и тканей – у 54,5 %; из секционного материала – 80,0 %.

Анализируя резистентность штаммов *K. pneumoniae* к препаратам цефалоспоринового ряда, следует отметить, что в РФ, по данным многолетних многоцентровых исследований (1997–2015 гг.), отмечается высокий уровень устойчивости к АМП данного класса (цефотаксим –  $68,8 \pm 6,1$  %; цефтриаксон –  $58,3 \pm 7,5$  %; цефтазидим –  $61,8 \pm 6,1$  %; цефепим –  $59,9 \pm 5,9$  %). При этом имеет место неуклонный рост устойчивости ( $p < 0,05$ ) к цефалоспоринам: к цефотаксиму – с 56,5 % в 1997 г. до 83,5 % в 2015 г.; к цефтазидиму – с 45,6 % с 1997 г. до 80,3 % в 2015 г.; к цефтаролину – с 42,8 % в 2011 г. до 85,5 % в 2015 г., к цефепиму – с 35,0 % в 2011 г. до 81,4 % в 2015 г. Исключение составил цефтриаксон, устойчивость к которому варьировала, составляя 58,7 % в 1997 г. с последующим ростом до 83,1 % в 2003 г. и снижением до 29,4 % в 2007 г.

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, установлен значительный уровень резистентности штаммов *K. pneumoniae* к  $\beta$ -лактамам антибиотикам цефалоспоринового ряда, что отражает общую ситуацию по РФ. Проведённые исследования показали, что к цефалоспорином III поколения были устойчивы 56,0–62,0 % штаммов, изолированных из различных органов и тканей больных, а также из секционного материала;

к препарату IV поколения цефепиму – 58,0 % штаммов *K. pneumoniae*. Наиболее высокая резистентность была выявлена в отношении цефтазидима ( $p < 0,05$ ). Устойчивость изолятов из секционного материала была выше, чем у клебсиелл, изолированных из органов и тканей больных. Клебсиеллы, выделенные из лаважной жидкости, чаще проявляли резистентность к препаратам цефалоспоринового ряда, по сравнению со штаммами, изолированными из мокроты. Более чем у половины исследованных штаммов (52,0 %) выявлен самый широкий спектр антибиотикостойчивости (ко всем четырём антибиотикам); перекрёстная устойчивость к препаратам цефалоспоринового ряда отмечена у 64,0 %.

#### ЛИТЕРАТУРА REFERENCES

1. Анганова Е.В., Духанина А.В., Савилов Е.Д. Бактерии рода *Klebsiella* в этиологической структуре бактериальных ОКИ, оценка их патогенности на уровне фенотипа и генотипа // Эпидемиология и вакцинопрофилактика. – 2011. – № 6. – С. 62–65.

Anganova EV, Dukhanina AV, Savilov ED. (2011). *Klebsiella* bacteria in the etiological structure of bacterial acute intestinal infections and assessment of their pathogenicity on the phenotype and genotype levels [Bakterii roda *Klebsiella* v etiologicalheskoy strukture bakterialnykh OKI, otsenka ikh patogennosti na urovne feno- i genotipa]. *Epidemiologiya i vaksinoprofilaktika*, (6), 62-65.

2. Анганова Е.В. Антибиотикорезистентность условно-патогенных энтеробактерий, выделенных от больных острыми кишечными инфекциями // Сибирский медицинский журнал. – 2012. – № 7. – С. 98–99.

Anganova EV. (2012). Antibiotic resistance of the opportunistic *Enterobacteriaceae* isolated from the patients with acute intestinal infections [Antibiotikorezistentnost' uslovno-patogennykh ehnterobakteriy, vydelennykh ot bolnykh ostrymi kischechnymi infektsiyami]. *Sibirskiy meditsinskiy zhurnal*, (7), 98-99.

3. Анганова Е.В., Крюкова Н.Ф., Савилов Е.Д. Антибиотикорезистентность микроорганизмов, выделенных от больных хирургического стационара // Бюл. ВСНЦ СО РАМН. – 2016. – Т. 1, № 3 (109). – С. 55–59.

Anganova EV, Kryukova NF, Savilov ED. (2016). Antibiotic resistance of microorganisms isolated from patients from surgical hospital [Antibiotikorezistentnost mikroorganizmov vydelennykh ot bolnykh khirurgicheskogo statsionara]. *Bulleten' Vostocno-Sibirskogo nauchnogo centra*, 3 (109), 105-110.

4. Гельфанд Б.Р., Белоцерковский Б.З., Милюкова И.А., Проценко Д.Н., Гельфанд Е.Б., Попов Т.В. Значение энтеробактерий в этиологии нозокомиальных инфекций у больных в критических состояниях. Со-

временные возможности антимикробной терапии // *Анналы хирургии*. – 2015. – № 4. – С. 12–26.

Gelfand BR, Belotserkovsky BZ, Milyukova IA, Protsenko DN, Gelfand EB, Popov TV. (2015). Significance of *Enterobacteriaceae* in the etiology of nosocomial infections in patients in critical conditions. Modern possibilities of antimicrobial therapy [Znachenie ehnterobakteriy v etiologii nozokomial'nykh infektsiy u bolnykh v kriticheskikh sostoyaniyakh. Sovremennyye vozmozhnosti antimikrobnoy terapii]. *Annaly khirurgii*, (4), 12-26.

5. Гланц С. Медико-биологическая статистика; пер. с англ. – М.: Практика, 1999. – 459 с.

Glanz S. (1999). Biomedical statistics [*Medikobio-logicheskaya statistika*]. Moskva, 459 p.

6. Козлов Р.А., Голуб А.В. Стратегия использования антимикробных препаратов как попытка ренессанса антибиотиков // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2011. – № 4, Т. 13. – С. 322–334.

Kozlov RA, Golub AV. (2011). The strategy of using antimicrobial drugs as an attempt to antibiotics renaissance [Strategiya ispolzovaniya antimikrobnnykh preparatov kak popytka renessansa antibiotikov]. *Klinicheskaya mikrobiologiya i antimikrobnaya khimioterapiya*, 13 (4), 322-334.

7. Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-диагностических учреждений: Приказ № 535 МЗ СССР от 22.04.85.

On the unification of microbiological (bacteriological) methods of research used in clinical diagnostic laboratories of medicodiagnostic institutions. (1985). [Ob unifikatsii mikrobiologicheskikh bakteriologicheskikh, metodov issledovaniya, primenyaemykh v kliniko-diagnosticheskikh laboratoriyakh lechebno-diagnosticheskikh uchrezhdeniy].

8. Покудина И.О., Коваленко К.А. Распространённость и вклад в антибиотикостойчивость β-лактамаз у амбулаторных изолятов *Klebsiella pneumoniae* // Международный журнал прикладных и фундаментальных исследований. – 2016. – № 12 (2). – С. 295–298.

Pokudina IO, Kovalenko KA. (2016). Prevalence and contribution to antibiotic resistance of β-lactamases in outpatient *Klebsiella pneumoniae* isolates [Rasprostranennost i vklad v antibiotikoustoychivost' β-laktamaz u ambulatornykh izolyatov *Klebsiella pneumoniae*]. *Mezhdunarodnyi zhurnal prikladnykh i fundamental'nykh issledovaniy*, 12 (2), 295-298.

9. Lin WH. (2014). Clinical and microbiological characteristics of *Klebsiella pneumoniae* from community-acquired recurrent urinary tract infections. *Eur. J. Clin. Microbiol. Infect. Dis.*, (9), 1533-1539.

10. WHO publishes list of bacteria for which new antibiotics are urgently needed. (2017). Available at: <http://www.who.int/mediacentre/news/releases/2017/bacteria-antibiotics-needed/en>.

#### Сведения об авторах Information about the authors

**Анганова Елена Витальевна** – доктор биологических наук, профессор кафедры эпидемиологии и микробиологии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиала ФГБОУ «Российская медицинская

академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, старший научный сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (664025, г. Иркутск, ул. Карла Маркса, 3; тел. (3952) 33-34-25; e-mail: eva.irk@mail.ru)

**Anganova Elena Vitalyevna** – Doctor of Biological Sciences, Professor at the Department of Epidemiology and Microbiology of Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Senior Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (664025, Irkutsk, ul. Karla Marksa, 3; tel. (3952) 33-34-25; e-mail: eva.irk@mail.ru)

**Распопина Любовь Анатольевна** – ассистент кафедры эпидемиологии и микробиологии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиала ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, заведующая бактериологическим отделом ОГБУЗ «Иркутская областная инфекционная клиническая больница» (664043, г. Иркутск, ул. Маршала Конева, 90; тел. (3952) 30-04-42; e-mail: raspopina.lub@yandex.ru)

**Raspopina Lyubov Anatolyevna** – Teaching Assistant at the Department of Epidemiology and Microbiology of Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Head of Bacteriological department of Irkutsk Regional Clinical Hospital for Infectious Diseases (664043, Irkutsk, ul. Marshala Koneva, 90; tel. (3952) 30-04-42; e-mail: raspopina.lub@yandex.ru)

**Ветохина Антонина Владиславовна** – ассистент кафедры эпидемиологии и микробиологии Иркутской государственной медицинской академии последипломного образования – филиала ФГБОУ «Российская медицинская академия непрерывного профессионального образования» Минздрава России, заведующая бактериологической лабораторией ЦЛИ ГБУЗ «Иркутская ордена «Знак почёта» областная клиническая больница» (664049, г. Иркутск, Юбилейный, 100, тел. (3952) 40-79-02; e-mail: an.vetohina@yandex.ru)

**Vetokhina Antonina Vladislavovna** – Teaching Assistant at the Department of Epidemiology and Microbiology of Irkutsk State Medical Academy of Postgraduate Education – Branch Campus of the Russian Medical Academy of Continuing Professional Education, Head of Bacteriological Department of Irkutsk Regional Clinical Hospital (664049, Irkutsk, Yubileyniy, 100; tel. (3952) 40-79-02; e-mail: an.vetohina@yandex.ru)

**Духанина Алла Владимировна** – кандидат биологических наук, сотрудник лаборатории эпидемиологически и социально-значимых инфекций ФГБНУ «Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека» (e-mail: duhanina.alla@yandex.ru)

**Dukhanina Alla Vladimirovna** – Candidate of Biological Sciences, Research Officer at the Laboratory of Epidemiologically and Socially Significant Infections of Scientific Centre for Family Health and Human Reproduction Problems (e-mail: duhanina.alla@yandex.ru)