

## АНАЛИЗ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ИЗОЛЯТОВ K. PNEUMONIAE, ВЫДЕЛЕННЫХ В МНОГОПРОФИЛЬНОМ СТАЦИОНАРЕ

**Е. Г. Антонова, И. В. Жильцов**

*Витебский государственный ордена Дружбы народов медицинский университет,  
Витебск, Беларусь*



*Введение.* Распространение инфекций, вызванных множественно-устойчивыми штаммами *K. pneumoniae*, – актуальная проблема.

*Цель.* Изучить резистентность к антибактериальным ЛС госпитальных штаммов *K. pneumoniae* – возбудителей гнойно-септических инфекций, определить уровень устойчивости к полимиксинам карбапенем-резистентных штаммов *K. pneumoniae*, провести анализ их основных профилей антибиотикоустойчивости.

*Материал и методы.* Чувствительность к антибиотикам для 146 клинических изолятов *K. pneumoniae* определяли при помощи диско-диффузионного метода. Для изолятов, резистентных к карбапенемам, использовали метод последовательных микроразведений в бульоне с определением МПК.

*Результаты.* Для большинства клинических изолятов *K. pneumoniae* (85,2%) установлено лишь 3 антибиотика (колистин, тигециклин, амикацин), проявляющих приемлемую активность *in vitro*. Для одного штамма выявлена нечувствительность ко всем антимикробным ЛС.

*Выводы.* Подтверждены данные о чрезвычайно высокой устойчивости *K. pneumoniae* к карбапенемам, фторхинолонам, аминогликозидам. Выявлен высокий уровень резистентности к колистину.

**Ключевые слова:** *K. pneumoniae*, резистентность, карбапенемы, колистин.

*Для цитирования:* Антонова, Е. Г. Анализ антибиотикорезистентности изолятов *K. pneumoniae*, выделенных в многопрофильном стационаре / Е. Г. Антонова, И. В. Жильцов // Журнал Гродненского государственного медицинского университета. 2021. Т. 19, № 1. С. 31-35. <http://dx.doi.org/10.25298/2221-8785-2021-19-1-31-35>.

### Введение

Одна из основных проблем в здравоохранении – неуклонный рост числа инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи, в частности все большую обеспокоенность вызывает повышение частоты нозокомиальных инфекций, вызванных *K. pneumoniae*. Лидерство *K. pneumoniae* среди других оппортунистических возбудителей связано не столько с усилением вирулентных свойств бактерии, сколько с ее способностью быстро формировать резистентность к разным антибактериальным лекарственным средствам (ЛС). Адаптивная (приобретенная) резистентность обусловлена собственно мутациями в геноме или же горизонтальным переносом генетического материала от «резистентного микробного окружения», что может приводить к невосприимчивости практически ко всем классам антибиотиков [1]. Устойчивость *K. pneumoniae* реализуется разными механизмами: модификацией и экранированием мишеней, нарушением проницаемости наружной мембраны, эффлюксом антибиотика. Важное клиническое и эпидемиологическое значение имеет гидролиз бета-лактамазами бета-лактамных антибиотиков, в том числе и карбапенемов. У *K. pneumoniae* была выявлена продукция бета-лактамаз всех четырех известных классов, но наиболее значимая – продукция карбапенемаз – ферментов молекулярных классов А (KPC), В (VIM, NDM, IMP), D (OXA-48) [1, 2, 3].

Цефалоспорины III-IV поколений, широко применяемые ранее для лечения инфекций, вызванных *K. pneumoniae*, уже не являются «препаратами первой линии» в связи с текущим уров-

нем устойчивости к ним данного возбудителя, составляющим более 90% [2]. Распространение штаммов *K. pneumoniae*, обладающих фенотипами множественной и экстремальной резистентности к антибиотикам, требует применения схем стартовой терапии с использованием карбапенемов, глицилциклинов, аминогликозидов и полимиксинов для лечения таких инфекций. Однако, согласно данным последних исследований, наблюдается отчетливая тенденция к повышению резистентности *K. pneumoniae* и к данным группам антибиотиков. Результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРА-ФОН 2015-2016», включавшего 49 стационаров 25 городов России, также указывают на рост приобретенной устойчивости нозокомиальных штаммов *K. pneumoniae*. Так, резистентность к карбапенемам выявлена у 26,5% выделенных изолятов, к амикацину и колистину – у 27,1 и 9,4%, соответственно [2].

По данным Европейского центра профилактики и контроля заболеваний, устойчивость *K. pneumoniae* к полимиксинам в Европейском регионе в 2014 г. составила 8,2%. Отмечено, что в ряде стран росту устойчивости способствует применение колистина в режиме монотерапии. Так, в Греции резистентность к колистину увеличилась с 3,5% в 2008 г. до 20,8% в 2010 г., в Испании – с 13,1% в 2010 г. до 31,7% в 2012 г., в Италии – с 22,4% в 2011 г. до 43% в 2014 г. [4].

Еще больше усугубляет проблему выявление карбапенем- и колистин-резистентных штаммов *K. pneumoniae* (CR-ColR-Kp). Так, среди 246 карбапенем-резистентных штаммов *K. pneumoniae*, выявленных в ходе проспектив-

ного многоцентрового исследования CRACKLE, доля резистентных к колистину составила 13%, причем этот показатель ассоциировался с высоким риском летальности в стационаре (ОШ 3,48; 95% ДИ 1,73-6,57;  $p < 0,001$ ) [5].

**Цель исследования** – изучить резистентность к антибактериальным ЛС госпитальных штаммов *K. pneumoniae* – возбудителей гнойно-септических инфекций, определить уровень устойчивости к полимиксинам карбапенем-резистентных штаммов *K. pneumoniae*, провести анализ их основных профилей антибиотикоустойчивости.

### Материал и методы

В исследование были включены 146 изолятов *K. pneumoniae*, выделенных в диагностически значимых количествах из проб биологического материала (кровь, ликвор, мокрота или бронхоальвеолярный лаваж, моча, отделяемое из дренажей и ран) пациентов, находившихся на лечении в Витебской областной клинической больнице с сентября 2018 г. по февраль 2020 г. Идентификация возбудителя осуществлялась с применением тест-систем ID 32E ATB Expression (BioMerieux, Франция) на базе научно-практического центра «Инфекция в хирургии». Чувствительность к антибактериальным ЛС (ампициллин, амоксициллин/клавуланат, цефтриаксон, тикарциллин/клавуланат, меропенем, амикацин, цiproфлоксацин, левофлоксацин, тигециклин) определяли при помощи диско-диффузионного метода на агаре Мюллера-Хинтон с использованием стандартных дисков (HiMedia Laboratories, Индия). Для изолятов *K. pneumoniae*, резистентных к карбапенемам, исследовалась чувствительность к ряду антибиотиков (амикацин, цефепим, цiproфлоксацин, тигециклин, колистин) методом последовательных микроразведений в бульоне Мюллера-Хинтон и определением их МПК в соответствии с ISO 207761:2006. При интерпретации результатов руководствовались оценочными критериями EUCAST, версия 10.0.

Контроль качества исследований выполняли с использованием референтных штаммов Аме-

риканской коллекции типовых культур *E. Coli* ATCC 25922.

### Результаты и обсуждение

Все изоляты *K. pneumoniae* ( $n=146$ ), включенные в исследование, имели госпитальное происхождение и были выделены у пациентов позднее, чем через 48 часов от момента поступления их в стационар. Диско-диффузионным методом устойчивость к меропенему выявлена для 86,9% изолятов. Установленный уровень резистентности к меропенему может указывать на продукцию данными бактериями карбапенемаз (что, по сути, и является первичным скринингом), поэтому очевидно, что и к другим карбапенемам уровень резистентности этих изолятов *K. pneumoniae* окажется практически аналогичным [6]. Наибольшей активностью в отношении *K. pneumoniae* обладал тигециклин, доля резистентных к нему клинических изолятов составила всего 10,9%. К амикацину устойчивыми оказались 41,1% госпитальных изолятов. Уровни устойчивости к другим антибиотикам были существенно выше – более 90% (рис. 1).

Для определения чувствительности грамотрицательных бактерий к колистину Европейским комитетом по определению чувствительности к антимикробным препаратам (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing – EUCAST) рекомендован эталонный метод микроразведений в бульоне для определения его минимальной подавляющей концентрации (МПК) [7]. Таким способом для 127 изолятов *K. pneumoniae*, проявивших устойчивость к карбапенемам (диаметр зоны подавления роста вокруг диска, содержащего 10 мкг меропенема, менее 22 мм), были установлены МПК колистина, а также других антибиотиков, используемых как резервные (табл.).

На основании пограничных значений МПК определены категории чувствительности в соответствии с критериями EUCAST [7]. Резистентность к амикацину среди карбапенемрезистентных штаммов *K. pneumoniae* составила 82,6% (МПК  $\geq 16$  мкг/мл), к цефепиму – 98,4% (МПК  $\geq 8$  мкг/мл). Изоля-

тов, чувствительных к цiproфлоксацину, не выявлено. Активность тигециклина в отношении *K. pneumoniae* определялась по значениям МПК50 (1 мкг/мл) и МПК90 (4 мкг/мл). Резистентность к колистину выявлена у 47,9% изолятов *K. pneumoniae* (МПК  $\geq 2$  мкг/мл), причем для 21,3% значения МПК были равны или выше 64 мкг/мл (рис. 2).

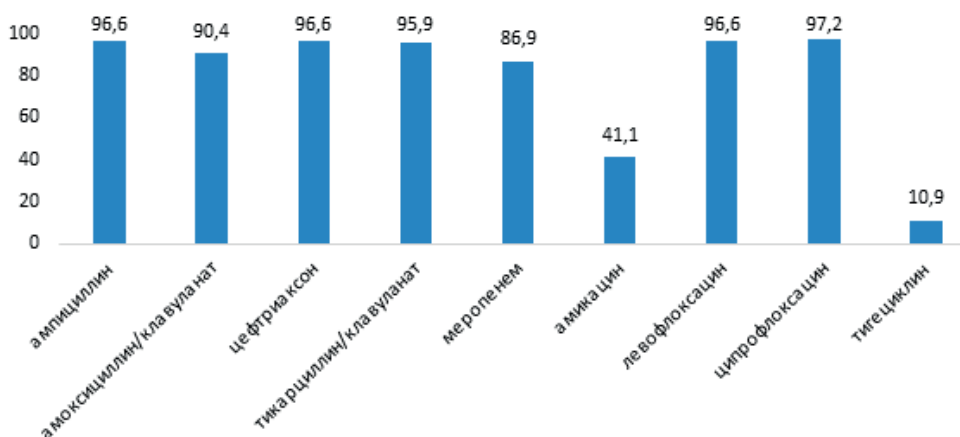


Рисунок 1. – Антибиотикоустойчивость нозокомиальных изолятов *K. pneumoniae* ( $n=146$ )

Figure 1. – Antibiotic resistance of *K. pneumoniae* nosocomial isolates ( $n=146$ )

**Таблица.** – МПК антимикробных лекарственных средств для нозокомиальных карбапенемрезистентных изолятов *K. pneumoniae* (n=127)

**Table.** – MIC of antimicrobial drugs for nosocomial carbapenem-resistant isolates of *K. pneumoniae* (n=127)

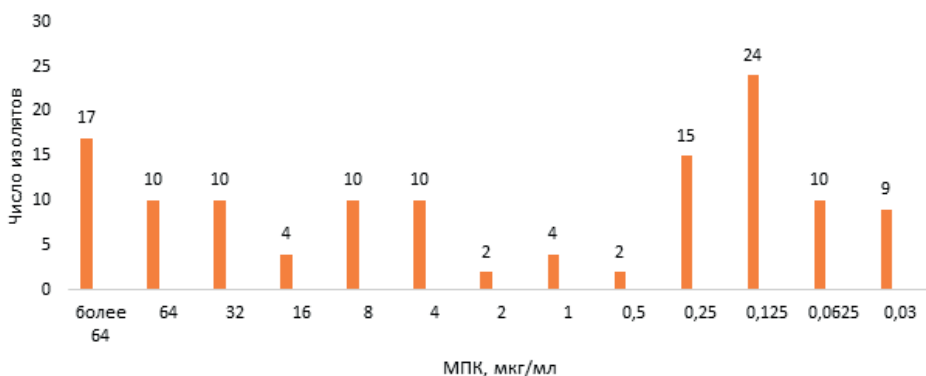
Антибиотик	% изолятов со значением МПК, мкг/мл												
	0,03	0,06	0,125	0,25	0,5	1	2	4	8	16	32	64	>64
Амикацин	–	–	–	–	1,6	0,8	2,4	8,7	3,9	3,1	11,8	7,1	60,6
Ципрофлоксацин	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	1,6	3,9	94,5
Цефепим	–	–	–	–	0,8	–	–	0,8	0,8	0,8	0,8	14,1	81,9
Тигециклин	–	0,8	–	3,9	4,8	27,5	35,4	15,8	11,0	0,8	–	–	–
Колистин	7,1	7,8	18,9	11,9	1,6	3,2	1,6	7,8	7,8	3,2	7,8	7,8	13,5

Ограничение информации о распространенности устойчивости к колистину среди изолятов энтеробактерий с множественной антибиотикорезистентностью, в том числе среди *K. pneumoniae*, объясняется в первую очередь сложностью и трудоемкостью микробиологических методов, используемых для этих целей. Тем не менее, недавняя идентификация детерминанты резистентности к полимиксину, передаваемой плазмидами (*mcg-1*), в сочетании с широким применением данного антибиотика вызвала весьма серьезную озабоченность в связи с тем, что создалась потенциальная возможность быстрого распространения устойчивости к колистину [8]. Кроме того, ситуация может усугубляться тем, что возможны вспышки внутрибольничных инфекций, связанные с такими штаммами *K. pneumoniae*. Так, исследование, проведенное в 2014 г. во Франции, показало, что из 561 штамма *K. pneumoniae*, продуцирующих карбапенемазы, устойчивыми к колистину оказались 6,2%. При этом была выявлена клональная вспышка – 15 изолятов *K. pneumoniae*, принадлежавших к типу последовательности ST11, показали разные уровни устойчивости к колистину (от 4 до 64 мкг/мл) и содержали ген карбапенемазы OXA-48 и ген бета-лактамазы расширенного спектра CTX-M-15 [9].

В нашей работе в соответствии с полученными результатами были определены основные профили чувствительности к антибиотикам для выделенных клинических изолятов *K. pneumoniae*. Только 4 штамма из 146 (2,7%) оказались чувствительными ко всем тестируемым антимикробным ЛС. Среди оставшихся 142 штаммов выявлены следующие преобладающие профили антибиотикочувствительности (рис. 3): чувствительные только к колистину и тигециклину (38,7%), чувствительные только к тигециклину (20,4%), чувствительные только к колистину, тигециклину и амикацину (11,3%), чувствительные только к тигециклину и амикацину (10,6%), чувствительные только к амикацину (4,2%). Таким образом, лишь 3 антимикробных ЛС проявляли активность *in vitro* для подавляющего большинства клинических изолятов *K. pneumoniae* (85,2%), а для одного штамма выявлена нечувствительность ко всем антимикробным ЛС, включая «резервные». Полученные результаты говорят о широком распространении экстремальной антибиотикорезистентности среди госпитальных штаммов *K. pneumoniae* в многопрофильном стационаре.

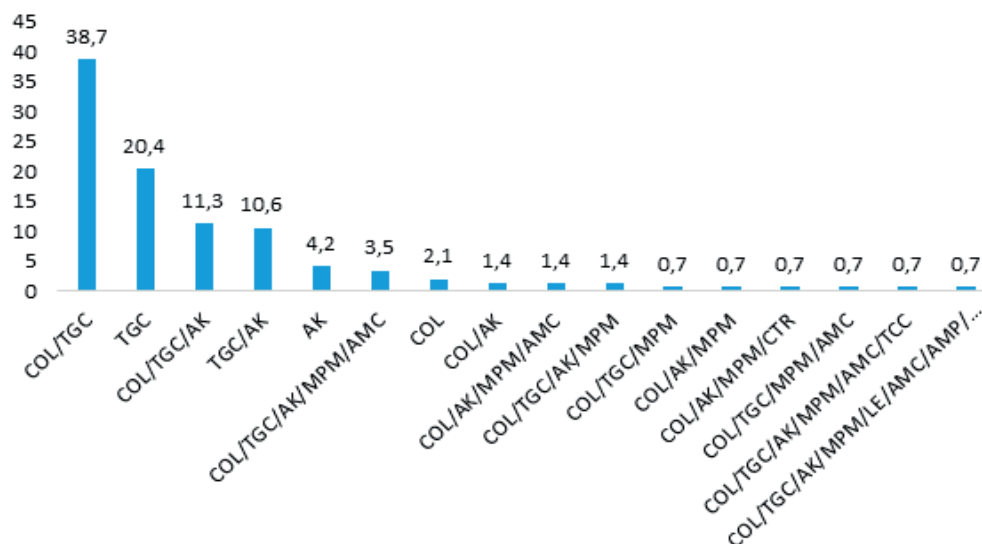
### Выводы

Результаты проведенного исследования подтверждают данные о чрезвычайно высокой устойчивости нозокомиальных изолятов *K. pneumoniae* к бета-лактамам антибиотикам, в том числе к ингибитор-защищенным пенициллинам и карбапенемам, а также фторхинолонам и аминогликозидам. Обращает на себя внимание особо высокий уровень резистентности *K. pneumoniae* к колистину, который до недавнего времени был антибиотиком глубокого резерва. Ограниченный арсенал эффективных *in vitro* антимикроб-



**Рисунок 2.** – Распределение МПК колистина для карбапенемрезистентных штаммов *K. pneumoniae* (n=127), определенных методом микроразведений в бульоне

**Figure 2.** – Distribution of colistin MIC for carbapenem-resistant strains of *K. pneumoniae* (n=127), determined by broth microdilution



**Рисунок 3. – Профили чувствительности к антибиотикам клинических изолятов *K. pneumoniae* (n=142)**  
**COL-колистин, TGC-тигециклин, АК-амикацин, МРМ-меропенем, АМС-амоксциллин/клавуланат, CTR-цефтриаксон, ТСС-тикарциллин/клавуланат, LE-левофлоксацин, АМР-ампициллин**  
**Figure 3. – Profiles of antibiotic susceptibility of clinical isolates of *K. pneumoniae* (n=142)**  
**COL-colistin, TGC-tigecycline, AK-amikacin, MPM-meropenem, AMC-amoxicillin/clavulanate, CTR-ceftriaxone, TCC-ticarcillin/clavulanate, LE-levofloxacin, AMP-ampicillin**

ных ЛС существенно осложняет процесс лечения пациентов с госпитальными инфекциями, что влечет за собой увеличение не только стои-

мости терапии, но и повышение риска неблагоприятного исхода.

### Литература

1. Почему *Klebsiella pneumoniae* становится лидирующим оппортунистическим патогеном / И. В. Чеботарь [и др.] // Клиническая микробиология, антимикробная химиотерапия. – 2020. – Т. 22, № 1. – С. 4-19. – doi: 10.36488/cmac.2020.1.4-19.
2. Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Enterobacteriales* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования «МАРАФОН 2015-2016» / М. В. Сухорукова [и др.] // Клиническая микробиология, антимикробная химиотерапия. – 2019. – Т. 21, № 2. – С. 147-159. – doi: 10.36488/cmac.2019.2.147-159.
3. Резистентность продуцирующих карбапенемазы штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных от пациентов с ортопедической инфекцией / С. А. Божкова [и др.] // Клиническая микробиология, антимикробная химиотерапия. – 2020. – Т. 22, № 1. – С. 47-52. – doi: 10.36488/cmac.2020.1.47-52.
4. Jeannot, K. Resistance to polymyxins in Gram-negative organisms / K. Jeannot, A. Bolard, P. Plésiat // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2017. – Vol. 49, № 5. – P. 526-535. – doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.11.029.
5. Colistin Resistance in Carbapenem-Resistant *Klebsiella pneumoniae*: Laboratory Detection and Impact on Mortality / L. J. Rojas [et al.] // Clin Infect Dis. – 2017. – Vol. 64, № 6. – P. 711-718. – doi: 10.1093/cid/ciw805.
6. Попов, Д. А. Сравнительная характеристика современных методов определения продукции карбапенемаз / Д. А. Попов // Клиническая микробиология, антимикробная химиотерапия. – 2019. – Т. 21, № 2. – С. 125-133. – doi: 10.36488/cmac.2019.2.125-133.
7. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST) [Electronic resource]. – Mode of access: <http://www.eucast.org/clinical-breakpoints>. – Date of access: 05.04. 2020.
8. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study / Y. Y. Liu [et al.] // Lancet Infect Dis. – 2016. – Vol. 16, № 2. – P. 161-168. – doi: 10.1016/S1473-3099(15)00424-7.
9. National survey of colistin resistance among carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and outbreak caused by colistin-resistant OXA-48 producing *Klebsiella pneumoniae*, France, 2014 / A. Jayol [et al.] // Euro Surveill. – 2016. – Vol. 21, № 37. – P. 1-8. – doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.37.30339.

### References

1. Chebotar IV, Bocharova YuA, Podoprigora IV, Shagin DA. Pochemu Klebsiella pneumoniae stanovitsja liderujushhim opporunisticheskim patogenom [The reasons why Klebsiella pneumoniae becomes a leading opportunistic pathogen]. *Klinicheskaja mikrobiologija, antimikrobnaja himioterapija* [Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy] 2020;22(1):4-19. doi: 10.36488/cmac.2020.1.4-19. (Russian).
2. Sukhorukova MV, Edelstein MV, Ivanchik NV, Skleenova EYu, Shajdullina ER, Azyzov IS, Shek EA, Kuzmenkov AYu, Dekhnich AV, Kozlov RS, Semyonova NV, Slepakova SA, Shepotajlova NV, Strebkova VV, Rybina NA, Yaranceva NZ, Perevalova EYu, Rozanova SM, Nagovicina SG, Moldovanu MG, Nasybullova ZZ, Arkhipenko MV, Shakhmuradyan RM, Nizhegorodceva

- IA, Varibrus EV, et al. Antibiotikorezistentnost nozokomialnyh shtammov Enterobacteriales v stacionarah Rossii: rezultaty mnogocentrovogo jepidemiologicheskogo issledovaniya "MARAFON 2015-2016" [Antimicrobial resistance of nosocomial Enterobacteriales isolates in Russia: results of multicenter epidemiological study "Marathon 2015-2016"]. *Klinicheskaja mikrobiologija, antimikrobnaja himioterapija* [Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy]. 2019;21(2):147-159. doi: 10.36488/cmasc.2019.2.147-159. (Russian).
3. Bozhkova SA, Gordina EM, Schneider OV, Rukina AN, Shabanova VV. Rezistentnost producirujushih karbapenemazy shtammov Klebsiella pneumoniae, vydelennyh ot pacientov s ortopedicheskoj infekciej [Resistance of carbapenemase-producing Klebsiella pneumoniae isolated from patients with orthopedic infection]. *Klinicheskaja mikrobiologija, antimikrobnaja himioterapija* [Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy]. 2020;22(1):47-52. doi: 10.36488/cmasc.2020.1.47-52. (Russian).
  4. Jeannot K, Bolard A, Plésiat P. Resistance to polymyxins in Gram-negative organisms. *International Journal of Antimicrobial Agents*. 2017;49(5):526-535. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2016.11.029.
  5. Rojas LJ, Salim M, Cober E, Richter SS, Perez F, Salata RA, Kalayjian RC, Watkins RR, Marshall S, Rudin SD, Domitrovic TN, Hujer AM, Hujer KM, Doi Y, Kaye KS, Evans S, Fowler VG Jr, Bonomo RA, van Duin D; Antibacterial Resistance Leadership Group. Colistin Resistance in Carbapenem-Resistant Klebsiella pneumoniae: Laboratory Detection and Impact on Mortality. *Clin Infect Dis*. 2017;64(6):711-718. doi: 10.1093/cid/ciw805.
  6. Popov DA. Sravnitel'naja karakteristika sovremennyh metodov opredelenija produkcii karbapenemaz [Comparative review of the modern methods for carbapenemases detection]. *Klinicheskaja mikrobiologija, antimikrobnaja himioterapija* [Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy]. 2019;21(2):125-133. doi:10.36488/cmasc.2019.2.125-133. (Russian).
  7. European Committee on Antimicrobial Susceptibility testing (EUCAST) [Internet]. Available from: <http://www.eucast.org/clinical-breakpoints>
  8. Liu YY, Wang Y, Walsh TR, Yi LX, Zhang R, Spencer J, Doi Y, Tian G, Dong B, Huang X, Yu LF, Gu D, Ren H, Chen X, Lv L, He D, Zhou H, Liang Z, Liu JH, Shen J. Emergence of plasmid-mediated colistin resistance mechanism MCR-1 in animals and human beings in China: a microbiological and molecular biological study. *Lancet Infect Dis*. 2016;16(2):161-8. doi: 10.1016/S1473-3099(15)00424-7.
  9. Jayol A, Poirel L, Dortet L, Nordmann P. National survey of colistin resistance among carbapenemase-producing Enterobacteriaceae and outbreak caused by colistin-resistant OXA-48-producing Klebsiella pneumoniae, France, 2014. *Euro Surveill*. 2016;21(37):30339. doi: 10.2807/1560-7917.ES.2016.21.37.30339.

## ANALYSIS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE OF K. PNEUMONIAE STRAINS ISOLATED IN A MULTIDISCIPLINARY HOSPITAL

*E. G. Antonova, I. V. Zhylytsou*

*Vitebsk State Order of Peoples' Friendship Medical University, Vitebsk, Belarus*

*Background.* The prevalence of infections caused by multiple resistant *K. pneumoniae* strains is an actual problem.

*Purpose.* To investigate antibacterial resistance of hospital strains of *K. pneumoniae* – causative agents of purulent septic infections, to determine the resistance level of carbapenem-resistant strains of *K. pneumoniae* to polymyxins, to analyze their main profiles of antibiotic sensitivity.

*Material and methods.* Antibiotic susceptibility of 146 clinical isolates of *K. pneumoniae* was determined using the disk diffusion method. The method of sequential microdilutions in broth with determination of MIC was used for isolates resistant to carbapenems.

*Results.* For the majority of clinical isolates of *K. pneumoniae* (85.2%), only 3 antibiotics (colistin, tigecycline and amikacin) showed acceptable activity in vitro. For one strain resistance to all tested antimicrobial drugs was revealed.

*Conclusion.* The data on extremely high resistance of *K. pneumoniae* to carbapenems, fluoroquinolones and aminoglycosides were confirmed. A high level of colistin resistance was also identified.

**Keywords:** *K. pneumoniae*, resistance, carbapenems, colistin

**For citation:** Antonova EG, Zhylytsou IV. Analysis of antibiotic resistance of *K. pneumoniae* strains isolated in a multidisciplinary hospital. *Journal of the Grodno State Medical University*. 2021;19(1):31-35. <http://dx.doi.org/10.25298/2221-8785-2021-19-1-31-35>.

**Конфликт интересов.** Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

**Conflict of interest.** The authors declare no conflict of interest.

**Финансирование.** Исследование проведено без спонсорской поддержки.

**Financing.** The study was performed without external funding.

**Соответствие принципам этики.** Исследование одобрено локальным этическим комитетом.

**Conformity with the principles of ethics.** The study was approved by the local ethics committee.

Об авторах / About the authors

\* Антонова Елена Геннадьевна / Antonova Alena, e-mail: [alena.antonova75@yandex.ru](mailto:alena.antonova75@yandex.ru), ORCID: 0000-0002-1293-7023

Жильцов Иван Викторович / Zhylytsou Ivan, e-mail: [zhylytsou@tut.by](mailto:zhylytsou@tut.by), ORCID: 0000-0002-4912-2880

\* – автор, ответственный за переписку / corresponding author

Поступила / Received: 21.10.2021

Принята к публикации / Accepted for publication: 21.01.2021