

В.Н. Ильина, О.В. Струнин, О.Н. Соловьев, Л.М. Самойлова, Ю.Н. Горбатов

К вопросу резистентности *Klebsiella pneumoniae* у детей раннего возраста с врожденными пороками сердца

ФГБУ «ННИИПК
им. акад. Е.Н. Мешалкина»
Минздравсоцразвития
России, 630055,
Новосибирск,
ул. Речуновская, 15,
crpsc@nncsr.ru

УДК 616.12-007-053.1:615.28
ВАК 14.01.20

Поступила в редакцию
24 февраля 2011 г.

© В.Н. Ильина,
О.В. Струнин,
О.Н. Соловьев,
Л.М. Самойлова,
Ю.Н. Горбатов, 2012

Проведено проспективное исследование по изучению резистентности у *Klebsiella pneumoniae* в отделении интенсивной терапии у детей раннего возраста. Выявлено, что устойчивость к цефалоспорином III–IV поколения, фторхинолонам, аминогликозидам обусловлена продукцией β-лактамаз расширенного спектра (БЛРС), к карбапенемам за счет снижения проницаемости клеточной мембраны в комбинации с продукцией БЛРС. Выявлены особенности пациентов, колонизированных штаммами *K. pneumoniae* со множественной устойчивостью. Ключевые слова: *K. pneumoniae*; устойчивость; антибиотики; β-лактамазы расширенного спектра.

Klebsiella pneumoniae – один из ведущих возбудителей нозокомиальных инфекций (НИ), он вызывает от 2 до 20% всех нозокомиальных инфекций [1, 4]. В России *K. pneumoniae* третий по частоте грамотрицательный возбудитель НИ. В ряде стационаров клебсиелла – превалирующий возбудитель НИ, который составляет от 24,5 до 43,6% [2]. Одним из основных клинически значимых механизмов приобретенной устойчивости к β-лактамам у *K. pneumoniae* является множественная устойчивость, обусловленная продукцией БЛРС [1, 3, 7]. Наибольшая стабильность к действию БЛРС обладают карбапенемы, прежде всего имипенем и меропенем [1–4, 7]. В настоящее время зарегистрированы штаммы *K. pneumoniae*, устойчивые к карбапенемам. К механизмам, обуславливающим устойчивость к карбапенемам, отнесены как продукция β-лактамаз различных молекулярных классов, так и комбинация БЛРС со сниженной проницаемостью клеточной мембраны [10–13]. В 2008 г. нами проведено проспективное исследование по изучению механизмов устойчивости у *K. pneumoniae*, выделенной у детей раннего возраста, нуждающихся в лечении в условиях отделения интенсивной терапии (ОИТ).

МАТЕРИАЛ И МЕТОДЫ

В исследование включены пациенты ОИТ для детей, колонизированные и с инфекциями, обусловленными *K. pneumoniae*. Всего

было изучено 33 штамма, выделенных от 27 пациентов. В анализ включены все последовательно выделенные штаммы *K. pneumoniae* в 2008 г. *K. pneumoniae* с одинаковой устойчивостью (чувствительностью), повторно выделенные у одного пациента, из анализа исключались. Анализу подвергался штамм, выделенный первым. Штаммы с умеренной устойчивостью (чувствительностью) были отнесены к устойчивым. Для определения чувствительности использовали чистые культуры *K. pneumoniae*. Чувствительность исследовали с помощью дисков, пропитанных антибиотиками («БиоРад», США), на агаре Мюллер – Хинтон («БиоМерье», Франция) дискодиффузионным методом в соответствии с рекомендациями Национального комитета по клиническим и лабораторным стандартам США (NCCLS, 2004) и Методическими указаниями по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (МУК 4.21890-04.2004). Определение продукции штаммами *K. pneumoniae* БЛРС методом двойных дисков с применением дисков с амоксициллином/клавуланатом (20/10 мкг), цефотаксимом (30 мкг), цефтазидимом (30 мкг). Устойчивость к карбапенемам изучали с использованием дисков, пропитанных меропенемом (10 мкг) и имипенемом (10 мкг). Для обнаружения металло-β-лактамазы (МБЛ) использовали метод синергизма между имипенемом (10 мкг), меропенемом (10 мкг), цефтазидимом (30 мкг) и этилендиаминтетрауксусной кислотой (ЭДТА).

Для обнаружения карбапенемазы класса А использовали Modified Hodge Test. Контроль определения чувствительности производили с использованием референтных штаммов Американской коллекции типовых культур (ATCC) *E. coli*, не продуцирующей БЛРС ATCC 25922, и *K. pneumoniae*, продуцирующей БЛРС ATCC 700603.

РЕЗУЛЬТАТЫ

Среди изученных *K. pneumoniae* зарегистрировано распространение штаммов, устойчивых к β-лактамам антибиотикам, в пределах от 3 до 87%. Наибольшая частота отмечена к цефалоспорином III–IV поколения (цефотаксим и цефтриаксон – 87%, цефтазидим – 81%, цефепим – 78%), несколько реже к ингибиторзащищенным пенициллинам (амоксциллин/клавуланату – 48%) и цефалоспорином (цефоперазон/сульбактам – 63%). Наименьшая частота устойчивых штаммов *K. pneumoniae* зарегистрирована к карбапенемам. При этом наибольшая активность отмечена у имипенема (резистентность 6%), к нему были нечувствительны два штамма. Устойчивость к меропенему составила 15% (5 штаммов). Все штаммы относились к категории умеренно чувствительных (табл. 1).

Широкое распространение устойчивых штаммов *K. pneumoniae* зарегистрировано и к не β-лактамам антибиотикам: аминогликозидам от 30% (амикацину) до 33% (нетилмицину) и фторхинолонам 57%. Устойчивость *K. pneumoniae* к цефалоспорином III–IV поколения была зарегистрирована у 24 штаммов (72%) и в большинстве случаев (19; 57%) обусловлена продукцией БЛРС, в то время как у пяти (15%) *K. pneumoniae* (БЛРС (-)) механизма устойчивости к цефалоспорином III–IV поколения феноти-

пическими методами выявить не удалось. За время исследования у семи (21%) штаммов *K. pneumoniae* выявлена устойчивость к карбапенемам. Из них 5 (15%) были умеренно устойчивы к меропенему при сохранении чувствительности к имипенему и два (6%) умеренно чувствительны к имипенему и чувствительны к меропенему. Штаммы клебсиелл, продуцирующие БЛРС, в 73,6% были нечувствительны к ципрофлоксацину, штаммы клебсиелл с неустановленным механизмом – в 60%.

В 6% случаев (2 штамма) *K. pneumoniae* сохраняла чувствительность ко всем тестируемым препаратам. К аминогликозидам устойчивость среди *K. pneumoniae* БЛРС (+) составила: к амикацину 26,3%, к нетилмицину 31,6%. Штаммы с неустановленным механизмом устойчивости (БЛРС (-)) были нечувствительны к амикацину и нетилмицину в 80% случаев (табл. 2). Все *K. pneumoniae*, устойчивые к меропенему и чувствительные к имипенему (5 штаммов), были нечувствительны к ципрофлоксацину. К амикацину один штамм был умеренно чувствителен, к нетилмицину – три. Два штамма, умеренно устойчивые к имипенему, но чувствительные к меропенему, были нечувствительны к ципрофлоксацину и нетилмицину, 1 штамм сохранял чувствительность только к амикацину. Таким образом, из аминогликозидов только амикацин обладал наибольшей активностью в отношении карбапенем-устойчивых клебсиелл. К нему были чувствительны 5 из 7 (71,4%) штаммов *K. pneumoniae*.

Штаммы с множественной устойчивостью *K. pneumoniae* были изолированы у детей, поступивших в тяжелом и крайне тяжелом состоянии, с врожденными сложными пороками сердца (ВПС) в возрасте от 1 дня до

Таблица 1

Устойчивость *K. pneumoniae* к антибиотикам, n = 33

Антибиотики	Чувствительность, %	Умеренная чувствительность, %	Устойчивость, %
Амоксициллин/клавуланат	46	6	48
Цефтриаксон	13	–	87
Цефотаксим	16	–	84
Цефтазидим	16	3	81
Цефоперазон/сульбактам	28	9	63
Цефепим	22	–	78
Имипенем	94	3	3
Меропенем	85	15	15
Ципрофлоксацин	43	–	57
Амикацин	64	6	30
Нетилмицин	61	6	33

Таблица 2

Устойчивость *K. pneumoniae* к не β-лактамам антибиотикам, n = 31

Антибиотики, используемые в клинике	БЛРС (+), n = 19	БЛРС (-), n = 5	MEM-R IPM-S, n = 5	MEM-S IPM-R, n = 2
Ципрофлоксацин, n (%)	14 (73,7)	3 (60)	5 (100)	2 (100)
Амикацин, n (%)	5 (26,3)	4 (80)	1 (20)	1 (50)
Нетилмицин, n (%)	6 (31,6)	4 (80)	3 (25)	2 (100)

1 года 4 мес. Тяжесть состояния обусловлена гемодинамическими нарушениями, связанными со сложными ВПС. Пациенты (22 из 24, 91,6%), у которых была изолирована *K. pneumoniae*, устойчивая к цефалоспорином III и IV поколения, имели предшествующую госпитализацию. При этом количество больных с пребыванием в ОИТ и других отделениях ЛПУ было одинаковым (по 11 пациентов). Средняя длительность госпитализации в ННИИПК до выделения *K. pneumoniae* составила 20,7 дней со средней продолжительностью пребывания в ОИТ 9,1 день. Антимикробная терапия у 14 детей (58,3%) была представлена монотерапией цефоперазоном/сульбактамом, у 7 (29,2%) цефалоспорином в комбинации с фторхинолоном (табл. 3). На фоне пневмонии поступили 4 пациента (16,6%), и один был реконвалесцент пневмонии.

Карбапенем-устойчивые штаммы *K. pneumoniae* были выделены у 6 из 7 (85,7%) пациентов, поступивших в ННИИПК из лечебно-профилактических учреждений, при этом 5 (71,4%) из них из ОИТ. Средняя длительность госпитализации в ННИИПК до выделения карбапенем-устойчивых штаммов *K. pneumoniae* составила 50,7 дней, со средней продолжительностью пребывания в ОИТ 22 дня. Устойчивость *K. pneumoniae* к карбапенемам зарегистрирована на фоне терапии карбапенемами у трех (42,8%) пациентов как в монотерапии (два пациента), так и в комбинации с линезолидом (один пациент), на фоне терапии цефалоспорином у 4 (57,1%) пациентов, в комбинации с фторхинолоном у двоих (28,6%) пациентов и у двоих (28,6%) в комбинации с ванкомицином. С сопутствующей пневмонией поступили три пациента, один пациент реконвалесцент пневмонии и инфекции мочевыводящих путей (ИМП) и один – пневмонии. В анамнезе трех (42,8%) пациентов есть данные о выделении *K. pneumoniae* с БЛРС во время предшествующей госпитализации.

ОБСУЖДЕНИЕ

Результаты нашего исследования подтвердили, что среди *K. pneumoniae* широко распространены штаммы, устойчивые к цефалоспорином III–IV поколения (87; 78%). Исследования в российских центрах показали, что высокая частота устойчивости к цефалоспорином коррелирует с частотой распространенности БЛРС, которая имела вариации от 64,2% до 100% [2]. В нашем исследовании в 60% случаев устойчивости к цефалоспорином III–IV поколения была обусловлена продукцией БЛРС. Штаммы *K. pneumoniae*, продуцирующие БЛРС, нередко бывают устойчивы к препаратам других групп [4, 7]. Так, средний показатель устойчивости к ципрофлоксацину у продуцентов БЛРС в российских центрах составил 43,9%, к амикацину – 38,6% [2].

В нашем исследовании в 73,7% случаев продуценты были нечувствительны к ципрофлоксацину, в 26,3% к амикацину и в 31,6% к нетилмицину. Все клебсиеллы, устойчивые к цефалоспорином III–IV поколения, были чувствительны к имипенему и меропенему – препаратам выбора для эмпирической терапии тяжелых и жизнеугрожающих инфекций [1, 2, 4, 9]. В настоящее время карбапенем-устойчивые *K. pneumoniae* зарегистрированы в Северной Америке, Греции, Турции, Израиле, Индии [10–13].

В нашем исследовании у 7 (21%) штаммов *K. pneumoniae* выявлена устойчивость к одному из карбапенемов, которая обусловлена снижением проницаемости наружной клеточной мембраны бактерий в комбинации с продукцией БЛРС. Практическое значение данного механизма устойчивости заключается в возможности проведения терапии карбапенемом (имипенемом или меропенемом), активность которого получена *in vitro*. В настоящее время эпидемиология штаммов – продуцентов БЛРС хорошо

Таблица 3

Характеристика пациентов, у которых были выделены *K. pneumoniae* с БЛРС и устойчивостью к карбапенемам
* БЛРС (+) – штаммы, продуцирующие БЛРС, БЛРС (-) – штаммы, не продуцирующие БЛРС и чувствительные к меропенему и имипенему,
** IPM-R – штаммы, устойчивые к имипенему, MEM-R – штаммы, устойчивые к меропенему

Показатели	БЛРС (+) и БЛРС (-)*, n = 24	MEM-R или IPM-R**, n = 7
Сопутствующие инфекционные заболевания, n		
пневмония	4	3
реконвалесцент пневмонии	1	2
мочевыводящих путей	–	1
Предшествующая госпитализация, n (%)		
ОИТ	11 (45,8)	5 (71,4)
не ОИТ	11 (45,8)	1
Пребывание в ННИИПК до выделения, дней	20,7 (7–36)	50,7 (13–150)
Пребывание в ОИТ, дней	9,1 (2–30)	22,0 (1–75)
АБТ, на фоне которой выделена <i>K. pneumoniae</i> , n (%)		
цефалоспорины + фторхинолоны	7 (29,2)	2 (28,6)
ингибиторзащищенные цефалоспорины	14 (58,3)	–
карбапенемы	1	2 (28,6)
карбапенемы + линезолид	–	1
цефалоспорины + ванкомицин	–	2 (28,6)

изучена. К основным факторам риска относятся тяжесть основного заболевания, предшествующая госпитализация и назначение антибиотиков широкого спектра [3, 5]. Эпидемиология распространенности карбапенем-устойчивых штаммов клебсиелл является предметом пристального внимания исследователей во всем мире. Описан случай приобретения устойчивости к карбапенемам *K. pneumoniae* у пациента с предшествующим выделением штамма *K. pneumoniae* с продукцией БЛРС и на фоне длительной антимикробной терапии, включая карбапенемы [6]. Проведенный многовариантный анализ в двух госпиталях Греции показал, что независимым фактором появления карбапенем-устойчивых клебсиелл явилось назначение фторхинолонов и антисинегнойных пенициллинов [8]. Карбапенем-устойчивые клебсиеллы в нашем исследовании были выделены у пациентов, нуждающихся в длительном лечении в условиях ОИТ (средняя длительность 22 дня), на фоне терапии карбапенемами (42,8%) и цефалоспоридами (57,1%). В анамнезе троих (42,8%) пациентов до поступления в ННИИПК есть данные о выделении клебсиеллы, продуцирующей БЛРС, у 5 (71,4%) – использовании антибиотиков различных классов (аминогликозидов, гликопептидов, цефалоспоринов и карбапенемов).

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Проведенное проспективное исследование позволило нам выявить карбапенем-устойчивые *K. pneumoniae* у детей раннего возраста со сложными ВПС, нуждающихся в длительном лечении в условиях ОИТ после кардиохирургической операции. В 71,4% случаев (5 пациентов) пациенты имели предшествующую госпитализацию в ОИТ и проведение антимикробной терапии широкого спектра. В анамнезе троих (42,8%) пациентов есть данные о выделении клебсиеллы, продуцирующей БЛРС, во время предшествующей госпитализации. Этот факт позволяет предположить, что дети раннего возраста со сложными ВПС, нуждающиеся в длительной терапии в условиях ОИТ после кардиохирургической операции и имеющие в анамнезе предшествующую госпитализацию, относятся к группе повышенного риска по выделению карбапенем-устойчивых штаммов *K. pneumoniae*. В настоящее время отсутствуют эффективные антимикробные препараты в отношении карбапенем-устойчивых штаммов, и в лечебном учреждении такие штаммы в силу устойчивости к большинству антибиотиков, относящихся к различным классам, наиболее широко распространены. Необходимы дальнейшее исследование распространенности карбапенем-устойчивых штаммов, изучение механизмов устойчивости к карбапенемам и разработка мероприятий на основании полученных данных по снижению распространения таких штаммов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Галкин Д.В. // Клинический микробиологический журнал. 2007. Т. 9, № 2. С. 133–152.
2. Рябкова Е.Л. Оптимизация антибиотикотерапии нозокомиальных инфекций, вызванных *Klebsiella pneumoniae*, в стационарах России: автореф. дис. . . . канд. мед. наук. Смоленск, 2006.
3. Страчунский Л.С. // Клинический микробиологический журнал. 2005. Т. 7, № 1. С. 92–96.
4. Эйдельштейн М.В. // Клинический микробиологический журнал. 2001. Т. 3, № 3. С. 15–29.
5. Centers for Disease Control and Prevention // Am. J. Infect. Control. 2003. V. 31. P. 481–498.
6. Fortineau N., Poirel, Nordman P. // J. Antimicrob. Chem. 2001. V. 47. P. 207–210.
7. Livermore D.M. // Clin. Microb. Reviews. 1995. V. 8. P. 557–584.
8. Matthew E. et al. // J. Antimicrob. Chem. 2007. V. 60. P. 1124–1130.
9. Montgomery J., Nakos J., Gurtler V. // Programms Poster 18 th. Eur. Congress Clinical Microbiol. Infectious Diseases. 2008. P. 883.
10. National committee for Clinical Laboratory Standards. 2004.
11. Tascini C., Mugnaioli C., Santi S. et al. // Programms Poster 18 th. Eur. Congress Clinical Microbiol. Infectious Diseases. 2008. P. 2430.
12. Queenan A.M., Bush K. // Clin. Micr. Rev. 2007. V. 20. P. 440–458.
13. Yilmaz M., Aybar Bilir Y., Midili K. et al. // Programms Poster 18 th. Eur. Congress Clinical Microbiol. Infectious Diseases. 2008. P. 1517.

Ильина Вера Николаевна – кандидат медицинских наук, врач бактериологической лаборатории ФГБУ «ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздравсоцразвития России (Новосибирск).

Струнин Олег Всеволодович – доктор медицинских наук, старший научный сотрудник ФГБУ «ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздравсоцразвития России (Новосибирск).

Соловьев Олег Николаевич – кандидат медицинских наук, клинический фармаколог ФГБУ «ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздравсоцразвития России (Новосибирск).

Самойлова Лариса Михайловна – научный сотрудник ФГБУ «ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздравсоцразвития России (Новосибирск).

Горбатов Юрий Николаевич – доктор медицинских наук, профессор, руководитель центра детской кардиохирургии и хирургии новорожденных детей ФГБУ «ННИИПК им. акад. Е.Н. Мешалкина» Минздравсоцразвития России (Новосибирск).