

На правах рукописи

БАРАНЦЕВИЧ

Наталья Евгеньевна

**ТЯЖЕЛЫЕ КЛЕБСИЕЛЛЕЗНЫЕ ОСЛОЖНЕНИЯ
В КЛИНИКЕ ВНУТРЕННИХ БОЛЕЗНЕЙ:
ЭТИОЛОГИЧЕСКАЯ ДИАГНОСТИКА И ЭТИОТРОПНАЯ ТЕРАПИЯ**

3.1.18. – Внутренние болезни

3.3.8. – клиническая лабораторная диагностика

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени

кандидата медицинских наук

Санкт-Петербург – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Первый Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет им. И.П. Павлова» Министерства Здравоохранения Российской Федерации.

Научные руководители:

Шанорова Наталия Леонидовна – доктор медицинских наук, профессор

Эмануэль Владимир Леонидович – доктор медицинских наук, профессор

Официальные оппоненты:

Демко Ирина Владимировна – доктор медицинских наук, профессор, заведующая кафедрой внутренних болезней и иммунологии с курсом ПО ФГБОУ ВО КрасГМУ им. проф. В. Ф. Войно-Ясенецкого Минздрава России

Попов Дмитрий Александрович – доктор медицинских наук, профессор РАН, заведующий группой клинической микробиологии и антимикробной терапии, профессор кафедры анестезиологии и реаниматологии с курсом клинической лабораторной диагностики ИПКВК И ПО ФГБУ «НМИЦ ССХ им. А. Н. Бакулева» Минздрава России

Ведущая организация: ФГБОУ ВО «Тихоокеанский государственный медицинский университет» Минздрава России

Защита диссертации состоится «__» _____ 2023 года в ____ часов на заседании диссертационного совета Д 21.2.050.01 при ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский государственный медицинский университет имени академика И.П. Павлова» МЗ РФ (197022, Санкт-Петербург, ул. Льва Толстого д.6-8; тел 8 (812)338-71-04, e-mail: usovet@1spb-gmu.ru) в зале Ученого Совета.

С диссертацией можно ознакомиться в научной библиотеке ФГБОУ ВО «Первый Санкт-Петербургский Государственный Медицинский Университет имени академика И.П. Павлова» МЗ РФ и на сайте www.spb-gmu.ru.

Автореферат разослан «__» _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета
доктор медицинских наук, профессор
Заслуженный врач Республики Северная
Осетия – Алания



Марченко Валерий Николаевич

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы исследования

Осложнения основного заболевания микробного генеза наблюдаются в клинике внутренних болезней часто, особенно при применении современных методов терапии – пересадке органов и тканей, применении моноклональных антител, химиотерапии (Куклин Д.Н. и соавт., 2022; Орлова О.А. с соавт, 2022; Mendes E.T. et al., 2012; Battaglia C.C. et al., 2019; Abdo-Cuza A.A et al., 2020; Satheeshkumar P.S., et al. 2022). Эти осложнения являются повсеместно распространенным явлением (Козлов Р.С., Голуб А.В., 2019; Хохлова О.Е. с соавт., 2021; Piyasu G. et al., 2018; Alemu A.Y. et al., 2020). *Klebsiella* spp. вызывают значительную часть тяжелых осложнений – пневмонии, сепсиса, бактериемии – в клиниках внутренних болезней различных регионов мира (Чеботарь И.В. с соавт., 2020; Гординская Н.А. с соавт., 2022; Xu M. et al., 2018; Reid C.B. et al., 2019; Hassan R. et al., 2020; Herridge W.P. et al., 2020). Они сопровождаются высокой летальностью, которая может достигать 79% (Xu M. et al., 2018; Juan C.H. et al., 2019). В течение длительного времени препаратами выбора при развитии тяжелых осложнений, обусловленных Грамотрицательными микроорганизмами, были карбапенемы (Goulenok T.M. et al., 2011; Papp-Wallace K.M. et al., 2011; Sheu C.C. et al., 2019). В последние годы все чаще наблюдают устойчивость клебсиелл к карбапенемам – ее уровень достигает 58% в Греции и 32% в Румынии. (ECDC, 2020) Проблема распространения антимикробной резистентности, которую отмечают преимущественно у стационарных пациентов, признана одной из наиболее актуальных в 21 веке (Попов Д. А., 2019; Даудова А.Д. с соавт., 2023; Edwards-Jones V., 2018; Hoffman P.S., 2020). 30-дневная летальность среди пациентов с сепсисом и бактериемией, обусловленными резистентными к карбапенемам *K. pneumoniae*, может достигать 43-52%, однако мнения о влиянии карбапенем-резистентности возбудителя на этот показатель противоречивы (Liu K.S. et al., 2021; Wu X. et al., 2021; Chen, J et al., 2022). При сепсисе, обусловленном *Klebsiella* spp., возможно развитие септического шока, летальность в этом случае напрямую зависит от времени начала адекватной антимикробной терапии, что свидетельствует о крайней важности ранней диагностики

инфекции (Kumar A. et al., 2006; Durdu B. et al., 2016; Li S. et al., 2021). В мировой практике разработка методов этиологической диагностики тяжелых клебсиеллезных осложнений является одной из приоритетных задач.

Таким образом, изучаемая проблема является актуальной и представляет несомненную значимость как для медицинской науки, так и для практического здравоохранения.

Степень разработанности темы исследования

Тяжелые клебсиеллезные осложнения находятся в фокусе внимания как отечественных, так и зарубежных исследователей (Егорова С. А. с соавт., 2013; Белова И.В. с соавт., 2019; Чеботарь И.В. с соавт., 2020; Alghoribi M.F. et al., 2020; Maraolo A.E. et al., 2021). Проблемы диагностики и лечения этих инфекций неоднократно поднимались в медицинской литературе (Falagas M.E. et al., 2014; Gomez-Simmonds A. et al., 2016; Doi Y., 2019; Nordmann P., Poirel L., 2019; Hernández-García M. et al., 2022). Известно, что распространение резистентности к антимикробным препаратам, активным против *Klebsiella* spp., различается в разных регионах мира (Егорова С. А. с соавт., 2013; Сухорукова М.В. с соавт., 2019; Albiger V. et al., 2015; Mohd Asri N.A. et al., 2021; Tesfa T. et al., 2022). В отечественной практике нам не удалось обнаружить работ, охватывающих длительный шестилетний период и оценивающих динамику распространения тяжелых клебсиеллезных осложнений в одном стационаре при применении валидных молекулярных методов этиологической диагностики. Недостаточно разработан вопрос оптимизации методов лабораторной диагностики, применение которых целесообразно для уточнения этиологии и определения чувствительности возбудителя к антибиотикам. Нерешенным остается вопрос выбора оптимальной терапии при развитии подобных осложнений. Для лечения пациентов в качестве эмпирической терапии по-прежнему могут применять карбапенемы, которые неэффективны в случае резистентности к ним возбудителя (Morrill H.J. et al., 2015; Sangare S.A. et al., 2017; Palacios-Baena Z.R. et al., 2017; Yoon E.J. et al., 2018). Единый подход к терапии осложнений, обусловленных устойчивыми к карбапенемам *Klebsiella* spp., в настоящий момент не определен: рекомендуются разнообразные схемы лечения на основе различных сочетаний меропенема и/или альтернативных антибиотиков (фторхинолоны, аминогликозиды, тигециклин, полимиксины), а

также новых антимикробных препаратов – ингибитор-защищенных бета-лактамов (цефтазидим-авибактам, азтреонам-авибактам, меропенем-ваборбактам и др.) (Козлов Р.С. с соавт. 2018; Morrill H.J. et al., 2015; Trecarichi E.M., Tumbarello M., 2017; Doi Y., 2019; Spaziante M. et al., 2020; Fang Y. et al., 2023).

Цель исследования

Совершенствование этиологической диагностики и антимикробной терапии тяжелых клебсиеллезных осложнений у госпитализированных пациентов для повышения качества оказания медицинской помощи в стационаре.

Задачи исследования

1. Определить распространенность тяжелых осложнений (пневмония, бактериемия, сепсис), обусловленных *Klebsiella* spp., в клинике внутренних болезней. Выявить виды *Klebsiella* spp. с наибольшей частотой вызывающие тяжелые осложнения у пациентов.

2. Оценить прогноз при развитии у пациентов наиболее тяжелого осложнения – сепсиса, вызванного *K. pneumoniae*.

3. Оценить возможности применения антибиотиков различных классов в терапии тяжелых клебсиеллезных осложнений.

4. Изучить эффективность различных лабораторных тестов в этиологической диагностике тяжелых осложнений, обусловленных *Klebsiella* spp.

5. Предложить эффективную схему антимикробной терапии клебсиеллезного сепсиса.

Научная новизна исследования

Впервые проведен анализ распространения нозокомиальных пневмонии, бактериемии и сепсиса, обусловленных *Klebsiella* spp., в одном стационаре с оценкой всех последовательных случаев и применением валидных методов видовой идентификации микроорганизмов в течение длительного, шестилетнего периода наблюдений. Выявлено достоверное возрастание частоты резистентности *K. pneumoniae*, преобладающего возбудителя клебсиеллезных пневмонии, бактериемии и сепсиса у госпитализированных пациентов, к препаратам выбора – карбапенемам наряду с широким распространением резистентности к альтернативным антибиотикам (аминогликозиды, фторхинолоны, тигециклин и колистин).

Впервые показана недостаточная эффективность классических методов определения чувствительности к некоторым бета-лактамам антибиотикам для выбора эффективной антимикробной терапии при осложнениях, обусловленных *K. pneumoniae*, особенно имеющей множественные гены резистентности к карбапенемам.

Впервые доказано преимущество применения предложенной молекулярно-генетической методики, позволяющей выявлять гены, кодирующие продукцию карбапенемаз, для выбора антимикробной терапии.

Впервые проведен анализ распространения различных карбапенемаз в стационаре на протяжении шестилетнего периода наблюдения и предложена эффективная схема ранней эмпирической антимикробной терапии при подозрении на тяжелую нозокомиальную инфекцию клебсиеллезной этиологии в стационаре.

Теоретическая значимость работы

1. В ходе исследования была показана значительная роль *Klebsiella* spp. с абсолютным преобладанием *K. pneumoniae* как этиологических агентов тяжелых осложнений (пневмония, сепсис и бактериемия) в клинике внутренних болезней.

2. Исследование выявило высокий уровень антимикробной резистентности возбудителя – *K. pneumoniae* – к антибиотикам, включая карбапенемы и альтернативные препараты (фторхинолоны, аминогликозиды, тигециклин и колистин).

3. Проведенное исследование продемонстрировало высокий уровень летальности у пациентов с сепсисом, обусловленным *K. pneumoniae*.

4. Исследование выявило ограничения в выборе эффективной тактики антимикробной терапии при применении классических методов определения чувствительности к некоторым бета-лактамам антибиотикам у клебсиелл в связи с их недостаточной информативностью.

5. В результате исследования показано преимущество выбора этиотропной антимикробной терапии на основе молекулярно-генетического анализа вырабатываемых микроорганизмом карбапенемаз.

6. В исследовании была предложена схема эффективной эмпирической терапии тяжелых клебсиеллезных осложнений (бактериемия, сепсис) у онкогематологических пациентов.

Методология и методы исследования

Диссертационная работа была выполнена согласно принципам доказательной медицины с применением клинических, лабораторных, инструментальных методов исследования,

Объектом исследования были пациенты терапевтического профиля в возрасте не менее 18 лет, у которых в период госпитализации развились тяжелые клебсиеллезные осложнения (пневмония, бактериемия, сепсис).

Предметом исследования были распространение указанных осложнений у стационарных больных, их клинические особенности, методы этиологической диагностики и этиотропной терапии.

Методы исследования включали MALDI-TOF масс-спектрометрию (времяпролетная масс-спектрометрия с лазерной десорбцией – ионизацией с помощью матрикса), ПЦР (полимеразная цепная реакция) с детекцией продуктов амплификации методом электрофореза, секвенирование по Сэнгеру.

Проспективно-ретроспективное когортное исследование проведено в соответствии с современными требованиями к научно-исследовательской работе.

Положения, выносимые на защиту

1. Тяжелые клебсиеллезные осложнения в клинике внутренних болезней в подавляющем большинстве случаев вызывает *K. pneumoniae*, для которой характерен высокий уровень резистентности к карбапенемам. В современных условиях получили распространение возбудители, имеющие множественные гены, кодирующие продукцию карбапенемаз.

2. Возможности проведения этиотропной терапии при тяжелых клебсиеллезных осложнениях ограничены в связи с широким распространением устойчивости карбапенем-резистентных *K. pneumoniae* к альтернативным антибиотикам – аминогликозидам, фторхинолонам, колистину и тигециклину. Выбор эффективной этиотропной терапии могут обеспечить молекулярно-генетические методы выявления генов резистентности

к карбапенемам, которые имеют преимущество перед фенотипическими методами определения чувствительности к некоторым бета-лактамам (цефтазидим-авибактам, азтреонам), обеспечивая большие возможности выбора терапевтической тактики.

3. Применение комбинированной антимикробной терапии цефтазидимом-авибактамом и азтреонамом позволяет проводить эффективное раннее эмпирическое лечение тяжелых клебсиеллезных осложнений у онкогематологических пациентов.

Практическая значимость работы

1. Проведенное исследование выявило широкое распространение клебсиеллезных пневмонии, бактериемии и сепсиса в условиях стационара.

2. Исследование показало необходимость проведения мониторинга резистентности к карбапенемам и альтернативным антибиотикам с определением генов, кодирующих продукцию карбапенемаз, у *K. pneumoniae* для адекватного выбора эмпирической антимикробной терапии пациентов.

3. Предложена схема терапии тяжелых осложнений, обусловленных *Klebsiella* spp., на основе анализа генов, кодирующих продукцию карбапенемаз.

Личный вклад автора

По теме научно-исследовательской работы автором самостоятельно проведен анализ отечественной и зарубежной литературы. Автор самостоятельно сформулировала цели, задачи и выводы исследования, самостоятельно проанализировала данные историй болезни и рутинных микробиологических тестов, провела оценку чувствительности штаммов *Klebsiella* spp. к антибиотикам в соответствии с критериями EUCAST (Европейского комитета по тестированию чувствительности к антибиотикам), самостоятельно проводила лабораторные исследования резистентных к карбапенемам штаммов клебсиелл, составила электронную базу данных и провела статистическую обработку, анализ и оформление результатов исследования, сформулировала научные положения, выводы и рекомендации.

Степень достоверности и апробация результатов

Достаточный объем проведенного клинического и лабораторного исследования, применение валидных методов, статистический анализ данных обеспечивают достоверность и обоснованность результатов научной работы.

Автором подготовлены 8 статей и глав в монографии по теме исследования.

Результаты диссертационной работы доложены в 2013 году на XIII Европейской конференции по клинической микробиологии и инфекционным болезням (ЕССМID), Берлин, Германия; в 2015 году на XV Европейской конференции по клинической микробиологии и инфекционным болезням (ЕССМID), Копенгаген, Дания; в 2015 году на юбилейной научной сессии «От трансляционных исследований – к инновациям в медицине», посвященной 35-летию ФГБУ «СЗФМИЦ им. В.А. Алмазова», Санкт-Петербург, Россия; в 2018 году на конференции «Диагностика инфекций: новые цели и вечные ценности», Сочи, Россия; в 2018 году на международной конференции «Петербургский Диалог» Санкт-Петербург, Россия; в 2022 году на конференции «Актуальные вопросы медицинской помощи больным неврологического профиля», Мурманск, Россия; в 2022 году на конференции «Актуальные вопросы медицинской помощи больным неврологического профиля», Петрозаводск, Россия.

Публикации

Материалы исследования опубликованы в 7 статьях и 1 главе монографии, из них 5 в журналах, рекомендованных ВАК Министерства науки и высшего образования Российской Федерации.

Внедрение результатов исследования

Результаты исследования внедрены в лечебную работу Научно-клинического исследовательского центра ПСПбГМУ им. И.П. Павлова, в клинико-диагностическую работу Центральной клинико-диагностической лаборатории ГБУЗ Ленинградская областная клиническая больница. Используются в учебном процессе для преподавания студентам ФГБОУ ВО ПСПбГМУ им. И.П. Павлова на кафедре терапии госпитальной им. М.В. Черноруцкого с клиникой.

Структура и объем диссертации

Диссертация изложена на 183 страницах машинописного текста и состоит из введения, 6 глав, заключения, выводов, практических рекомендаций и списка литературы, в который включено 335 источников, в том числе 61 отечественный и 274 иностранных. Работа иллюстрирована 8 таблицами и 21 рисунком.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Материалы и методы исследования

Провели проспективно – ретроспективное клиническое и лабораторное исследование последовательных случаев тяжелых осложнений (пневмония, бактериемия и сепсис) клебсиеллезной этиологии у больных терапевтического профиля, находившихся на стационарном лечении в крупном медицинском центре, госпитализирующем пациентов из различных регионов Российской Федерации.

Исследование проводили в два этапа. На первом этапе изучили распространение тяжелых клебсиеллезных осложнений в клинике внутренних болезней, определили вид *Klebsiella* spp., с наибольшей частотой вызывающий осложнения, эффективность различных лабораторных тестов в этиологической диагностике, оценили возможности проведения эффективной этиотропной терапии и летальность при клебсиеллезном сепсисе (2014-2019 годы). На этом этапе включили в исследование 1 098 больных. Критериями включения на первом этапе исследования было наличие у пациентов заболевания терапевтического профиля и соответствие критериям диагноза клебсиеллезной пневмонии, бактериемии или сепсиса. Критериями диагноза пневмонии, обусловленной *Klebsiella* spp., было наличие клинических признаков пневмонии (слабость, кашель, повышение температуры тела до фебрильных или субфебрильных цифр), рентгенологических признаков пневмонии, выявляемых при рентгенографии грудной клетки и/или компьютерной томографии легких наряду с выделением указанных микроорганизмов из бронхоальвеолярного лаважа в концентрации не менее 10^4 КОЕ/мл или из плеврального экссудата. Подтверждением наличия у больного бактериемии, обусловленной микроорганизмами рода *Klebsiella*, было выделение возбудителя из двух и более проб венозной крови. Диагноз сепсиса – жизнеугрожающей острой органной дисфункции, возникшей в результате нарушения регуляции ответа макроорганизма на инфекцию, устанавливали с применением шкалы SOFA (Sequential Organ Failure Assessment score, динамическая оценка выраженности органной недостаточности). Для подтверждения диагноза сепсиса считали достаточным значение SOFA равным 2 и более баллам согласно консенсусу

SEPSIS-3, 2016, и выделение возбудителя из двух и более образцов венозной крови. Критерием исключения был возраст младше 18 лет. Характеристики пациентов представлены в таблице 1.

Таблица 1 – Характеристика пациентов. Первый этап исследования

Параметр	Количественная характеристика
Пол (чел.):	
Женский	431 (39,3%)
Мужской	667 (60,7%)
Средний возраст (лет)	58,3±0,6
Основной диагноз (чел.):	
Злокачественное новообразование (желудка, почек, легких, головного мозга и т. д.)	44 (4,0%)
Лимфома Ходжкина	16 (1,5%)
Неходжкинская лимфома	42 (3,8%)
Множественная миелома	16 (1,5%)
Острый лимфобластный лейкоз	38 (3,5%)
Злокачественный NK-клеточный лейкоз	6 (0,5%)
Хронический лимфолейкоз	11 (1,0%)
Острый миелобластный лейкоз	35 (3,2%)
Хронический миелолейкоз	75 (6,8%)
Острый промиелоцитарный лейкоз	6 (0,5%)
Анемия железodefицитная или апластическая	13 (1,2%)
Доброкачественное новообразование средостения, головного мозга и других внутренних органов.	47 (4,3%)
Гипертоническая болезнь	14 (1,3%)
Стенокардия	114 (10,4%)
Острый инфаркт миокарда	52 (4,7%)
Порок сердца	67 (6,1%)
Хроническая ишемическая болезнь сердца	29 (2,6%)
Легочная эмболия	5 (0,5%)
Острый или подострый инфекционный эндокардит	6 (0,5%)
Кардиомиопатия	19 (1,7%)
Аритмия	13 (1,2%)
Сердечная недостаточность	81 (7,4%)

Продолжение таблицы 1

Параметр	Количественная характеристика
Инфаркт мозга	97 (8,8%)
Субарахноидальное кровоизлияние	9 (0,8%)
Внутричерепное кровоизлияние и его последствия	57 (5,2%)
Хроническая ишемия мозга	14 (1,3%)
Атеросклероз аорты или других артерий	12 (1,1%)
Аневризма аорты или других артерий	38 (3,5%)
Хроническая обструктивная болезнь легких	5 (0,5%)
Плеврит	5 (0,5%)
Перикардит	4 (0,4%)
Хронический колит	6 (0,5%)
Хронический холецистит	11 (1,0%)
Гранулематоз Вегенера	1 (0,1%)
Хронический панкреатит	6 (0,5%)
Системная красная волчанка и другие коллагенозы	12 (1,1%)
Внутричерепная травма	10 (0,9%)
Аномалия церебральных сосудов	18 (1,6%)
Сахарный диабет 2 типа	4 (0,4%)
Атерома мозговых артерий	10 (0,9%)
Вазомоторный ринит	4 (0,4%)
Медиастинит	6 (0,5%)
Хроническая болезнь почек	9 (0,8%)
Осложнения, связанные с сердечными и сосудистыми протезами, имплантатами и трансплантатами	11 (1,0%)

На втором этапе исследования (2019-2022 год) изучили клинические особенности бактериемии и сепсиса, обусловленных *K. pneumoniae*, у онкогематологических пациентов, оценили влияние на прогноз различных режимов антибактериальной терапии. Всего обследовали 90 больных. На втором этапе исследования критериями включения были наличие у пациента злокачественного новообразования кроветворной системы и бактериемии или сепсиса, обусловленных *K. pneumoniae*. Критерием исключения был возраст младше 18 лет. Сравнили эффективность комбинированной терапии

цефтазидимом-авибактамом и азтреонамом и альтернативных методов антимикробной терапии. Характеристики пациентов представлены в таблице 2.

Таблица 2 – Характеристика пациентов. Второй этап исследования

Параметр	Количественная характеристика
Пол (чел.):	
Женский	45 (50,0%)
Мужской	45 (50,0%)
Средний возраст (лет)	46,4±1,7
Основной диагноз (чел.):	
Острый миелобластный лейкоз	44 (48,9%)
Острый лимфобластный лейкоз	12 (13,3%)
Хронический миелолейкоз	13 (14,4%)
В-клеточная лимфома	12 (13,3%)
Лимфогранулематоз	3 (3,3%)
Острый промиелоцитарный лейкоз	1 (1,1%)
Хронический волосатоклеточный лейкоз	1 (1,1%)
Множественная миелома	4 (4,4%)

Видовую идентификацию возбудителей проводили методом MALDI-TOF масс-спектрометрии, определение чувствительности возбудителя к антибиотикам осуществляли методом серийных разведений. Сравнили эффективность видовой идентификации *Klebsiella* spp. масс-спектрометрическим методом и на основании анализа последовательности первых 500 нуклеотидов гена 16S рРНК. Определили эффективность фенотипических тестов – модифицированного теста Ходжа, тестов с комбинированными дисками (меропенем с ЭДТА или бороновой кислотой), Нордманна-Пуареля в выявлении карбапенем-резистентных штаммов *K. pneumoniae*. Исследовали эффективность предложенной молекулярно-генетической методики, позволяющей определять bla_{NDM} , bla_{OXA-48} подобные, bla_{KPC} , bla_{IMP} , bla_{VIM} с детекцией продуктов амплификации методом электрофореза, с помощью которой провели мониторинг распространения генов резистентности в стационаре. Оценили летальность у пациентов с клебсиеллезным сепсисом и бактериемией. Статистический анализ проводили

с применением t-критерия Стьюдента для переменных и критерия Фишера χ^2 для категориальных переменных. Данные считали достоверными при $p < 0,05$.

Результаты исследования

На первом этапе исследования оценили значение *Klebsiella* spp. как возбудителей тяжелых нозокомиальных инфекций в многопрофильном медицинском центре, госпитализирующем пациентов из различных регионов Российской Федерации. *Klebsiella* spp. были этиологическими агентами у 612 (41,5%) из 1473 последовательных больных с нозокомиальными пневмониями различной этиологии в возрасте 18-99 лет (средний возраст $60,0 \pm 0,4$ года). Клебсиеллезные пневмонии наиболее часто были обусловлены видом *K. pneumoniae*: его выделили у 567 (92,6%) пациентов. Второй по частоте была пневмония, вызванная *K. oxytoca*, которую диагностировали у 24 (3,9%) больных. Другие *Klebsiella* spp. (*K. aerogenes* и *K. variicola*) обусловили развитие госпитальных пневмоний у меньшего числа пациентов – 15 (2,4%) и 6 (1,0%) больных соответственно.

Микроорганизмы рода *Klebsiella* были этиологическими агентами у 486 (19,5%) из 2 481 последовательного пациента с бактериемией или сепсисом в возрасте 18-97 лет (средний возраст $53,9 \pm 0,3$ года). Ведущим патогеном, обусловившим подавляющее большинство случаев, был вид *K. pneumoniae*: его выделили из крови 459 (94,4%) пациентов. Вторым по частоте возбудителем, вызывавшим бактериемию и сепсис, являлась *K. oxytoca*, которую диагностировали у 18 (3,7%) больных. Другие виды *Klebsiella* spp. (*K. aerogenes* и *K. variicola*) обусловили развитие бактериемии и сепсиса у меньшего числа пациентов – 5 (1,0%) и 4 (0,8%) больных соответственно. Приведенные факты указывают на значительную роль микроорганизмов рода *Klebsiella* в развитии нозокомиальной пневмонии, бактериемии и сепсиса, с абсолютным преобладанием *K. pneumoniae*, которое сохранялось на протяжении всего периода наблюдений.

При изучении чувствительности ведущего возбудителя тяжелых осложнений *K. pneumoniae* к антибиотикам мы обнаружили крайне высокий уровень его резистентности к двум классам бета-лактамовых антибиотиков –

пенициллинам, включая ингибитор-защищенные пенициллины и 3-4 поколениям цефалоспоринов на протяжении всего периода наблюдения, что делает нецелесообразным применение этих препаратов в терапии обусловленных *K. pneumoniae* тяжелых нозокомиальных инфекций. Резистентность возбудителя у пациентов с нозокомиальными пневмониями к наиболее активным, по нашим наблюдениям, антибиотикам, относящимся к пенициллинам и цефалоспорином – пиперациллину-тазобактаму, цефтазидиму и цефепиму составила 61,7%, 57,4%, 61,7% в 2014 году и 77,1%, 81,3%, 82,3% в 2019 году соответственно ($p > 0,05$). Анализ случаев бактериемии и сепсиса, обусловленных *K. pneumoniae*, показал достоверное возрастание частоты резистентности к карбапенемам с 6,2% в 2014 до 59,8% в 2019 году ($p < 0.00001$). Аналогичную динамику наблюдали при анализе случаев нозокомиальной пневмонии – резистентность к карбапенемам возросла с 19,1% в 2014 до 68,8% в 2019 году ($p < 0.00001$).

Определили возможности применения альтернативных антибиотиков при тяжелых клебсиеллезных осложнениях, обусловленных устойчивыми к карбапенемам микроорганизмами рода *Klebsiella*. Среди 251 пациента с бактериемией и сепсисом, вызванными устойчивой к карбапенемам *K. pneumoniae*, резистентность этиологического агента к азтреонаму наблюдали у 198 (78,9%) больных, к гентамицину у 206 (82,1%), к амикацину у 188 (74,9%), к ципрофлоксацину у 248 (98,8%), к левофлоксацину у 247 (98,4%), к колистину у 35 (13,9%), к тигециклину у 79 (31,5%) пациентов, как показано на рисунке 1.

За время наблюдения госпитальные пневмонии были обусловлены резистентной к карбапенемам *K. pneumoniae* у 327 пациентов. Возбудитель был устойчив к азтреонаму у 229 (70,0%) больных, к гентамицину у 285 (87,2%), к амикацину у 261 (79,8%), к ципрофлоксацину у 327 (100,0%), к левофлоксацину у 320 (97,9%), к колистину у 44 (14,5%) и к тигециклину у 107 (32,7%) пациентов (рисунок 1).

Высокий уровень резистентности к фторхинолонам и аминогликозидам карбапенем-резистентной *K. pneumoniae*, наиболее распространенного возбудителя, не позволяет применять эти препараты для лечения тяжелых клебсиеллезных осложнений. Уровень резистентности к тигециклину

и колистину в 2019 году достиг 35,6%, что делает возможным применение этих препаратов у ограниченного числа пациентов и требует предварительного определения чувствительности к этим лекарственным средствам для проведения терапии.

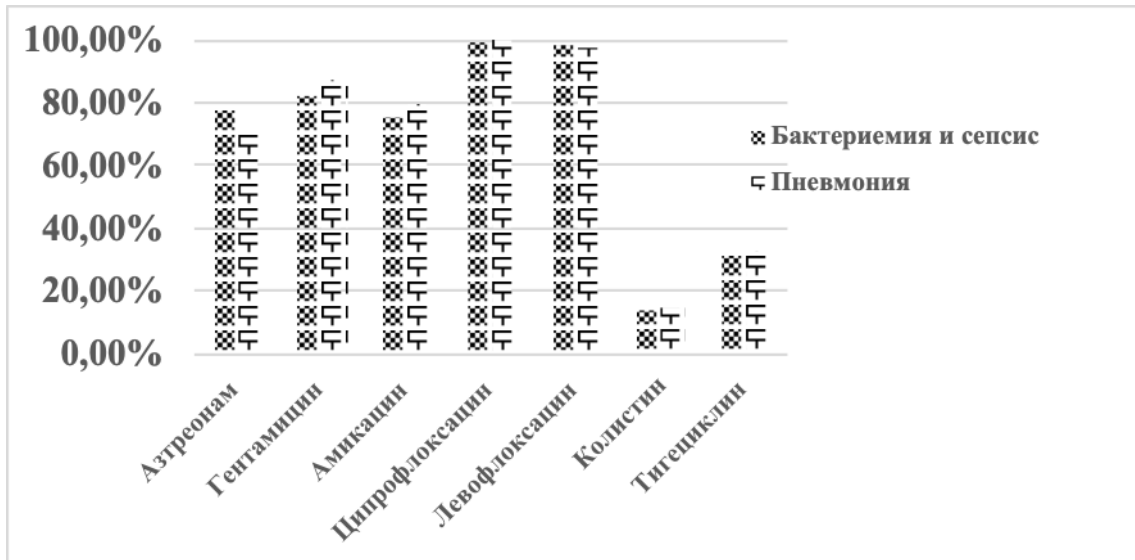


Рисунок 1 – Устойчивость возбудителя тяжелых осложнений карбапенем-резистентной *K. pneumoniae* к альтернативным антибиотикам

Возбудители тяжелых нозокомиальных инфекций видов *K. aerogenes*, *K. oxytoca*, *K. variicola*, которые выявляли у пациентов редко, были в большинстве случаев (93,1%) чувствительны к карбапенемам, что позволяет говорить о возможности их использования в лечении стационарных больных с пневмонией, бактериемией и сепсисом этой этиологии. Резистентность к другим бета-лактамам (пенициллинам, ингибитор-защищенным пенициллинам, цефалоспорином) оставалась высокой на протяжении всего периода наблюдения и превышала 75% в 2019 году, что свидетельствует о нежелательности использования этих препаратов.

Для определения эффективного метода видовой идентификации *Klebsiella* spp. исследовали два молекулярных метода – MALDI-TOF масс-спектрометрию и секвенирование по Сэнгеру первых 500 нуклеотидов гена 16S рРНК. Оба метода показали тождественные результаты определения видовой принадлежности, последний позволял проводить идентификацию до подвида, что может иметь значение при проведении эпидемиологических исследований.

При изучении фенотипических тестов – модифицированного теста Ходжа, тестов с комбинированными дисками (меропенем с ЭДТА или бороновой кислотой) выявили их недостаточную эффективность, составившую 73,0%, 52,3% и 38,8% соответственно. Метод экспресс-диагностики резистентности к карбапенемам Нордманна-Пуареля, несмотря на высокую эффективность, не позволял выявлять присутствующие в микроорганизме карбапенемазы, что ограничивало возможности выбора эффективной этиотропной терапии, особенно в условиях распространения панрезистентных штаммов.

Предложенная тест-система по определению *bla*_{NDM}, *bla*_{OXA-48}-подобных, *bla*_{KPC}, *bla*_{IMP}, *bla*_{VIM} методом полимеразной цепной реакции с возможностью последующего типирования генов резистентности к карбапенемам секвенированием по Сэнгеру показала высокую эффективность в выявлении карбапенемаз возбудителя (100,0%) и позволила провести мониторинг их распространения в клинике, как показано в таблице 3.

Таблица 3 – Гены, кодирующие продукцию карбапенемаз, у карбапенем-резистентных возбудителей тяжелых нозокомиальных инфекций вида *K. pneumoniae*

Виды карбапенемаз	2014 г.	2015 г.	2016 г.	2017 г.	2018 г.	2019 г.
<i>bla</i> _{NDM-1}	4 (36,7%)	11 (34, 4%)	8 (25,0%)	9 (28,1%)	12 (37,7%)	8 (25,0%)
<i>bla</i> _{OXA-48}	7 (63,3%)	21 (65,6%)	17 (53,1%)	14 (43,8%)	10 (31,2%)	8 (25,0%)
<i>bla</i> _{NDM-1} + <i>bla</i> _{OXA-48}	–	–	7 (21,9%)	9 (28,1%)	10 (31,2%)	9 (28,1%)
<i>bla</i> _{KPC-2}	–	–	–	–	–	7 (21,9%)

При изучении распространенности генов резистентности к карбапенемам у возбудителей тяжелых осложнений вида *K. pneumoniae* обнаружили возрастание разнообразия паттернов резистентности: появление в 2016 году штаммов, имеющих одновременно 2 гена, кодирующих выработку карбапенемаз (*bla*_{NDM-1}, *bla*_{OXA-48}), что может быть обусловлено горизонтальным переносом генов при их циркуляции в стационаре, и появление новой карбапенемазы – KPC-2 в 2019 году. Обнаружили схожесть набора бета-

лактамаз у изолятов с КРС-2 (КРС-2+TEM+SHV), что более характерно для успешной интродукции одного штамма в стационар из других регионов или лечебных учреждений.

Среди 398 пациентов с клебсиеллезным сепсисом 30-дневная летальность, оцененная по результатам 6-летнего наблюдения, составила 50,5%. Резистентной к карбапенемам *K. pneumoniae* были обусловлены 224 (56,3%) эпизода сепсиса, летальность составила 58,5%. Среди 174 пациентов, возбудитель сепсиса *K. pneumoniae* у которых не имел устойчивости к карбапенемам, 30-дневная летальность составила 40,2%, ($p=0,0003$).

При проведении второго этапа исследования оценили клинические проявления последовательных случаев бактериемии и сепсиса, обусловленных *K. pneumoniae*, у онкогематологических пациентов, находившихся на стационарном лечении в 2019-2022 годах. Диагноз сепсиса был установлен в 71 случае, у 34 мужчин и 37 женщин, средний возраст которых составил $46,6 \pm 1,9$ лет. Бактериемию диагностировали у 19 больных, 11 мужчин и 8 женщин, средний возраст $45,9 \pm 3,5$ лет.

Для клебсиеллезного сепсиса были характерны высокие показатели по шкале SOFA, по которой оценивали тяжесть состояния пациентов, в среднем составившие $6,7 \pm 0,4$ баллов, а также высокий уровень прокальцитонина (средний уровень $14,6 \pm 3,2$ нг/мл) и С-реактивного белка (средний уровень $227,0 \pm 16,8$ мг/л) в сыворотке крови. Для выявления неблагоприятных прогностических признаков при развитии у пациентов клебсиеллезного сепсиса оценили различия объективных данных (баллов по шкале SOFA, уровней креатинина, лактата, прокальцитонина, С-реактивного белка и ряда других показателей) в группах пациентов, у которых летальный исход наступил в течение 30 дней от начала клебсиеллезного сепсиса, и у выздоровевших пациентов. Единственным показателем, который достоверно различался в группах пациентов с благоприятным и неблагоприятным прогнозами заболевания был высокий уровень баллов по шкале SOFA, который был достоверно выше у больных с летальным исходом, наступившим в течение 30 дней от начала инфекции по сравнению с выжившими пациентами, $7,9 \pm 0,6$

и $5,7 \pm 0,4$ балла соответственно ($p=0,04903$). Оба показателя, тем не менее, были выше 5 баллов, что обычно связывают с неблагоприятным прогнозом.

Резистентность возбудителя к бета-лактамам на втором этапе исследования была также высокой (таблица 4).

Таблица 4 – Резистентность к антибиотикам *K. pneumoniae* – возбудителя бактериемии и сепсиса у онкогематологических пациентов

Антибиотики	<i>K. pneumoniae</i> – возбудители бактериемии и сепсиса	Чувствительные к карбапенемам <i>K. pneumoniae</i>	Резистентные к карбапенемам <i>K. pneumoniae</i>
Ампициллин	96,7%	91,2%	100%
Пиперациллин	94,4%	85,3%	100%
Амоксиклав	87,8%	67,6%	100%
Тикарциллин-клавуланат	80,0%	47,1	100%
Пиперациллин-тазобактам	75,6%	38,2%	98,2%
Цефтазидим	81,1%	52,9%	98,2%
Цефепим	83,3%	64,7%	98,2%
Имипенем	62,2%	0%	100%
Меропенем	62,2%	0%	100%
Азтреонам	75,6%	55,9%	87,5%
Гентамицин	63,3%	29,4%	83,9%
Амикацин	58,9%	11,8%	87,5%
Ципрофлоксацин	78,9%	44,1%	100%
Левифлоксацин	77,8%	41,2%	98,2%
Колистин	22,2%	0%	35,7%
Тигециклин	42,2%	14,7%	58,9%

Устойчивы к карбапенемам были 56 (62,2%) возбудителей бактериемии и сепсиса. Возможности применения альтернативных препаратов были ограничены в связи с высоким уровнем устойчивости к ним возбудителей (таблица 4). Панрезистентны были возбудители бактериемии или сепсиса у 15 (16,7%) пациентов.

Лечение бактериемии проводили комбинированной терапией цефтазидимом-авибактамом (6000 мг цефтазидима и 1500 мг авибактама

в сутки) и азтреонамом в суточной дозе 8,0 г в сутки 8 (42,1%) больным, альтернативными антибиотиками – 11 (57,9%) пациентам. В ответ на введение цефтазидима-авибактама и азтреонама у 1 пациента развился инфекционно-токсический шок, который был успешно купирован проведением стандартных реанимационных мероприятий. Проводимая терапия и сроки ее назначения не оказывали влияния на прогноз заболевания: 30-дневная летальность при бактериемии составила 0%.

В группе пациентов с сепсисом, обусловленным чувствительными к карбапенемам *K. pneumoniae*, 30-дневная летальность составила 36,6%, в группе больных с резистентным к карбапенемам возбудителем – 52,2% ($p=0,2184$). Септический шок развился у 7 (26,9%) больных в первой группе и 16 (34,8%) пациентов во второй группе, $p=0,6022$.

Сравнили результаты лечения клебсиеллезного сепсиса у больных, получавших комбинированную терапию цефтазидимом-авибактамом (6 000 мг цефтазидима и 1 500 мг авибактама в сутки) и азтреонамом в суточной дозе 8,0 г в сутки (первая группа пациентов) и у больных, не получавших эту комбинацию препаратов (вторая группа пациентов).

Рассчитали раннюю летальность, непосредственно связанную с инфекционным процессом, у пациентов первой группы, получавших терапию цефтазидимом-авибактамом и азтреонамом и у пациентов второй группы, получавших терапию альтернативными антибиотиками. Среди больных первой группы 7-дневная летальность составила 8,1%, среди пациентов второй группы – 41,2% ($p=0,0023$). 10-дневная летальность среди больных сепсисом, обусловленным карбапенем-резистентным возбудителем, получавших терапию цефтазидимом-авибактамом и азтреонамом была 13,8%, у пациентов, не получивших эту схему – 58,8%, $p=0,0024$. 30-дневная летальность среди пациентов, получивших исследуемую схему лечения в качестве ранней эмпирической терапии (в первые 2 суток от начала сепсиса) составила 11,1%, среди пациентов, которым эта терапия была назначена поздно, через 5 и более суток от начала заболевания – 70,6% ($p=0,0112$). 10-дневная летальность среди пациентов, получивших раннюю эмпирическую терапию цефтазидимом-авибактамом и азтреонамом составила 0%. Среди пациентов, находившихся

на альтернативной антибактериальной терапии 10-дневная летальность была 41,2%, $p=0,0204$. Таким образом, проведение ранней эмпирической терапии цефтазидимом-авибактамом и азтреонамом позволило достоверно улучшить прогноз у онкогематологических пациентов с клебсиеллезным сепсисом.

ВЫВОДЫ

1. Тяжелые клебсиеллезные осложнения (пневмония, бактериемия, сепсис) выявляли в клинике внутренних болезней часто: на протяжении шестилетнего периода наблюдения *Klebsiella* spp. обусловили развитие 41,5% последовательных случаев пневмонии и 19,5% последовательных случаев бактериемии и сепсиса у госпитализированных пациентов. *Klebsiella pneumoniae* являлась этиологическим агентом 92,6% клебсиеллезных пневмоний и 94,4% бактериемии и сепсиса.

2. Сепсис, обусловленный *K. pneumoniae*, сопровождался высоким уровнем 30-дневной летальности (50,5%), которая составила 58,5% среди пациентов с резистентным к карбапенемам возбудителем; 30-дневная летальность среди больных с чувствительным к карбапенемам возбудителем была ниже – 40,2% ($p=0,0003$).

3. Возможности выбора эффективной антимикробной терапии ограничивал высокий уровень приобретенной резистентности *K. pneumoniae* – возбудителя пневмонии и бактериемии или сепсиса к карбапенемам – 58,0% и 54,7% соответственно. Для устойчивых к карбапенемам возбудителей была характерна резистентность к альтернативным антибиотикам: ципрофлоксацину 100,0% и 98,8%, амикацину 79,8% и 74,9%, азтреонаму 70,0% и 78,9%, колистин 14,5% и 13,9%, тигециклину 32,7% и 31,5% соответственно.

4. Метод MALDI-TOF масс-спектрометрии и секвенирование первых 500 нуклеотидов гена 16S рРНК по Сэнгеру показали тождественные результаты при видовой идентификации *Klebsiella* spp., последний позволял проводить идентификацию до подвида. Молекулярно-генетическая методика определения генов, кодирующих продукцию карбапенемаз, имела преимущество по сравнению с традиционными фенотипическими методами определения чувствительности карбапенем-резистентных возбудителей

к некоторым бета-лактамам (цефтазидим-авибактам, азтреонам) для выбора терапевтической тактики.

5. Применение ранней эмпирической терапии цефтазидимом-авибактамом и азтреонамом позволило улучшить прогноз при клебсиеллезном сепсисе у онкогематологических пациентов: 30-дневная летальность (11,1%) была достоверно ниже по сравнению с поздним назначением препаратов (70,6%), $p=0,0112$, у пациентов полностью отсутствовала 10-дневная летальность. Применение альтернативных препаратов сопровождалось высоким уровнем 10-дневной летальности (41,2%), $p=0,0204$.

ПРАКТИЧЕСКИЕ РЕКОМЕНДАЦИИ

1. В клинике внутренних болезней необходимо проводить регулярный мониторинг резистентности возбудителей тяжелых клебсиеллезных осложнений к антимикробным препаратам.

2. При обследовании госпитализированных пациентов с клебсиеллезными осложнениями рекомендуется применение предложенной тест-системы для выявления генов, кодирующих продукцию карбапенемаз – *bla*_{IMP}, *bla*_{KPC}, *bla*_{OXA-48} подобные, *bla*_{NDM}, *bla*_{VIM}, которые позволяют детектировать продукты амплификации методом электрофореза.

3. В онкогематологических отделениях с высокой частотой тяжелых осложнений, обусловленных *K. pneumoniae*, в качестве ранней эмпирической терапии целесообразно применение комбинированной терапии цефтазидимом-авибактамом и азтреонамом.

СПИСОК РАБОТ, ОПУБЛИКОВАННЫХ ПО ТЕМЕ ДИССЕРТАЦИИ

1. Баранцевич, Н.Е. Применение MALDI-TOF масс-спектрометрии в клинической микробиологии. / Е.П. Баранцевич, Н.Е. Баранцевич // **Трансляционная медицина**. – 2014. – № 3. – С. 23-28.

2. Баранцевич, Н.Е. Продукция карбапенемаз нозокомиальными штаммами *K. pneumoniae* в Санкт-Петербурге. / Е.П. Баранцевич,

Н.Е. Баранцевич, Е.В. Шляхто // **Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.** – 2016. – Т. 18, № 3. – С. 196-199.

3. Баранцевич, Н.Е. Чувствительность к антимикробным препаратам энтеробактерий различного происхождения в многопрофильном стационаре. / Н.С. Козлова, Н.Е. Баранцевич, В.Г. Гоик [и др.] // Проблемы медицинской микологии. – 2016. – Т. 18, № 3. – С. 30-35.

4. Баранцевич, Н.Е. Антибиотикорезистентность возбудителей гнойно-септических инфекций в многопрофильном стационаре / Н.С. Козлова, Н.Е. Баранцевич, Е.П. Баранцевич // Проблемы медицинской микологии. – 2018. – Т. 20, № 1. – С. 40-48.

5. Баранцевич, Н.Е. Чувствительность к антибиотикам штаммов *Klebsiella pneumoniae*, выделенных в многопрофильном стационаре / Н.С. Козлова, Н.Е. Баранцевич, Е.П. Баранцевич // **Инфекция и иммунитет.** – 2018. – Т. 8, № 1. – С. 79-84.

6. Баранцевич, Н.Е. Применение секвенирования в клинической микробиологии / Н.Е. Баранцевич, А.Б. Карасева, Е.П. Баранцевич // Трансляционная медицина : коллективная монография (к 40-летию Центра Алмазова).– Санкт-Петербург, 2020. – С. 151-160.

7. Баранцевич, Н.Е. Терапия сепсиса, обусловленного резистентной к карбапенемам *Klebsiella pneumoniae* у онкогематологических пациентов в современных условиях / Н.Е. Баранцевич, Е.П. Баранцевич // **Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия.** – 2022. – Т. 24, № 4. – С. 383-387.

8. Barantsevich, N.E. Emergence of *Klebsiella pneumoniae* producing NDM-1 carbapenemase in Saint Petersburg, Russia / E.P. Barantsevich, I.V. Churkina, N.E. Barantsevich [et al.] // **Journal of Antimicrobial Chemotherapy.** – 2013. – Vol. 68, № 5. – P. 1204-1206.