

- and probiotic supplementation on performance and caecal microbial ecology of broiler chickens. *Brit. Poultry Sci.* 2010, 51 (2): 258-269.
12. Hong H.A., Huang J.M., Khaneja R. et al. The safety of *Bacillus subtilis* and *Bacillus indicus* as food probiotics. *J. Appl. Microbiol.* 2008, 105: 510-520.
  13. Rajput I.R., Hussain A., Zhang X. et al. *Saccharomyces boulardii* and *Bacillus subtilis* B10 modulate TLRs mediated signaling to induce immunity by chicken BMDCg. *J. Cell. Biochem.* 2014, 115 (1): 189-198.
  14. Tarabukina N.P., Neustroev M.P., Fedorova M.P., Parnicova S.I. Broad spectrum probiotic (*Sachabactisubtil*) recovered from Yakutia permatsoz soil. *Veterinary World-Open Access. Per. Rev. J.* 2011, 5: 222-224.
  15. Urdaci M.C., Bressollier P., Pinchuki I. *Bacillus clausii* probiotic strains: antimicrobial and immunomodulatory activities. *J. Clin. Gastroenterol.* 2004, 38: 86-90.

Поступила 15.03.17

Контактная информация: Неустроев Михаил Петрович, д-р вет. наук, 677001, Якутск, ул. Бестужева-Марлинского, 23, кор. 1, р.т. (411)221-00-95

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

Т.Ю.Загоскина<sup>1</sup>, Е.Ю.Марков<sup>1</sup>, Е.А.Чапоргина<sup>1</sup>, Ю.О.Попова<sup>1</sup>,  
Т.М.Долгова<sup>1</sup>, О.В.Гаврилова<sup>1</sup>, Т.С.Тайкова<sup>1</sup>, А.В.Никитина<sup>2</sup>,  
В.Г.Помелова<sup>2</sup>, Н.С.Осин<sup>3</sup>, С.В.Балахонов<sup>1</sup>

## СРАВНИТЕЛЬНЫЙ АНАЛИЗ ЭФФЕКТИВНОСТИ ТВЕРДОФАЗНЫХ МЕТОДОВ ИММУНОДЕТЕКЦИИ БОТУЛИНИЧЕСКОГО ТОКСИНА В СЫВОРОТКЕ КРОВИ БОЛЬНОГО С ДИАГНОЗОМ «БОТУЛИЗМ»

<sup>1</sup>Иркутский научно-исследовательский противочумный институт; <sup>2</sup>ГосНИИ биологического приборостроения; <sup>3</sup>ЗАО «Иммуноскрин», Москва

*Цель.* Сравнение эффективности твердофазных методов иммунодетекции ботулинического токсина в сыворотке крови больного с диагнозом «ботулизм»: дот-иммуноанализа с использованием специфических противоботулинических антител (АТ), меченных наночастицами коллоидного серебра, фосфоресцентного анализа (ФОСФАН) с использованием стрептавидина, меченного платинокопропорфирином (PtКП) и полистирольными наночастицами, содержащими хелатный комплекс ионов европия с нафтоилтрифторацетонатом (НЧ-Еу). *Материалы и методы.* В работе использовали меченные наночастицами серебра IgG, выделенные из коммерческой диагностической поливалентной сыворотки против ботулотоксинов типов А, В, С, Е, F производства НПО «Аллерген» (Ставрополь) активностью 5000 — 10 000 МЕ, и конъюгированные с биотином коммерческие моноклональные антитела к ботулотоксину А, поликлональные моноспецифические АТ к ботулотоксину В и ботулотоксину Е и поливалентный иммуноглобулин к ботулотоксином А, В, С, Е, F. Детекцию ботулотоксина в клиническом материале осуществляли в дот-иммуноанализе на нитроцеллюлозной мембране и методом ФОСФАН в экспериментальной тест-системе с применением двух детекторных систем на основе стрептавидина: PtКП и НЧ-Еу. *Результаты.* В сыворотке крови больного ботулизмом обнаружен ботулотоксин с использованием обоих разработанных методов иммунодетекции. Метод ФОСФАН позволил идентифицировать серотип В ботулотоксина, что совпало с полученным результатом в реакции биологической нейтрализации ботулотоксина. Чувствительность ФОСФАН с системой детекции на основе люминесцентных наночастиц НЧ-Еу была выше, чем с метчиком PtКП. *Заключение.* Разработанные методы (ФОСФАН и дот-иммуноанализ) отличаются высокой специфичностью и чувствительностью и могут быть рекомендованы для экспресс-детекции ботулинического токсина в клиническом материале.

Журн. микробиол., 2017, № 5, С. 64—70

Ключевые слова: ботулинический токсин, мультиплексный фосфоресцентный анализ (ФОСФАН), дот-иммуноанализ, наночастицы серебра, люминесцентные наночастицы, хелат европия (Еу), Pt копропорфирин

T. Yu. Zagoskina<sup>1</sup>, E. Yu. Markov<sup>1</sup>, E. A. Chaporgina<sup>1</sup>, Yu. O. Popova<sup>1</sup>,  
T. M. Dolgova<sup>1</sup>, O. V. Gavrilova<sup>1</sup>, T. S. Taikova<sup>1</sup>, A. V. Nikitina<sup>2</sup>,  
V. G. Pomelova<sup>2</sup>, N. S. Osin<sup>3</sup>, S. V. Balakhonov<sup>1</sup>

## COMPARATIVE ANALYSIS OF EFFECTIVENESS OF SOLID-PHASE METHODS OF IMMUNE DETECTION OF BOTULINIC TOXIN IN BLOOD SERA OF A PATIENT WITH BOTULISM DIAGNOSIS

<sup>1</sup>Irkutsk Research Institute for Plague Control; <sup>2</sup>State Research Institute of Biological Equipment Manufacturing; <sup>3</sup>Immunoscrin, Moscow, Russia

*Aim.* Comparison of effectiveness of solid phase methods of immune detection of botulinic toxin in blood sera of a patient with botulism diagnosis: dot-immune assay using specific anti-botulinic antibodies (AT) labeled with nanoparticles of colloid silver, phosphorescent analysis (PHOSPHAN) using streptavidin label with platinum coproporphyrin (PtCP) and polystyrene nanoparticles, containing chelate complex of europium ions with naphthoyl trifluoroacetone (NA-Eu). *Materials and methods.* Silver nanoparticle labeled IgG isolated from a commercial diagnostic polyvalent sera against type A, B, C, E, F botulotoxins manufactured by SPA Allergen (Stavropol) with 5000 — 10000 IU activity and biotin conjugated commercial monoclonal antibodies against botulotoxin A, polyclonal mono-specific AB against botulotoxin B and E and polyvalent immunoglobulin against botulotoxin A, B, C, E, F. Detection of botulotoxin in clinical material was carried out in dot-immunoassay on nitrocellulose membrane by PHOSPHAN method in an experimental test system using 2 detector systems based on streptavidin: PtCP and NA-Eu. *Results.* Botulotoxin was detected in blood sera of the botulism patient using both of the developed immune detection methods. PHOSPHAN method allowed to identify serotype B botulotoxin, that corresponded with the results obtained in botulotoxin biological neutralization reaction. Sensitivity of PHOSPHAN with NA-Eu luminescent nanoparticle based detection system was higher than with PtCP label. *Conclusion.* The developed methods (PHOSPHAN and dot-immunoassay) differ by high specificity and sensitivity and may be recommended for express detection of botulinic toxin in clinical material.

Zh. Mikrobiol. (Moscow), 2017, No. 5, P. 64—70

Key words: botulinic toxin, multiplex fluorescent assay (PHOSPHAN), dot immunoassay, silver nanoparticles, luminescent nanoparticles, europium chelate (Eu), Pt coproporphyrin

## ВВЕДЕНИЕ

Ботулизм — тяжелая токсикоинфекция, обусловленная преимущественным поражением ЦНС экзотоксинами спорообразующих анаэробных бактерий *Clostridium botulinum*. Ботулинические нейротоксины подразделяются на серотипы А, В, С, D, Е, F и G. Несмотря на довольно высокое сходство первичной структуры их молекул [12] внутриклеточные белки-мишени разных типов токсинов, характеристики действия и эффективность значительно различаются [5]. Все они чрезвычайно токсичны, ингибируют высвобождение ацетилхолина в нервно-мышечном соединении, что приводит к параличу мышц. Наиболее патогенны для человека токсины серотипов А, В, Е и F [1]. Все типы токсинов *C. botulinum* обуславливают одинаковую картину заболевания, но токсин каждого типа иммунохимически специфичен и нейтрализуется только соответствующим антитоксином.

Ботулотоксины (БТ) — яды биологического происхождения II группы патогенности — с высокой вероятностью также могут быть использованы в качестве поражающих агентов при совершении актов биологического и химического терроризма.

Заражение людей происходит преимущественно в результате употребления в пищу продуктов, содержащих ботулотоксины, и самих возбудителей

*S. botulinum*. Течение и исходы заболевания определяются выраженностью клинических симптомов и своевременностью проведения специфической терапии. При запаздывании лечения ботулизм протекает, как правило, тяжело, летальность варьирует от 20 до 70% [4, 7].

Индикацию БТ в Российской Федерации традиционно проводят согласно единой схеме анализа: постановкой реакций пассивной гемагглютинации (РПГА), чувствительность которой невысока, сертифицированные эритроцитарные диагностикумы в настоящее время пока отсутствуют; биологической нейтрализации токсина (РБНТ) на мышцах с использованием диагностических противоботулинических поли- и моновалентных сывороток серотипов А, В, С, Е, F и биопробы (БП). Ориентировочный ответ в БП и РБНТ выдается лишь на 2 сутки, окончательный — через 4 — 8 сут. К сожалению, не всегда имеется возможность проведения работ с лабораторными животными. При подозрении на ботулизм, когда необходимо немедленное лечение, биоанализ может быть недостаточно оперативным методом диагностики. Успех лечения больных антитоксином сильно зависит от времени его введения: если токсин попал в нервные окончания и исчез из кровотока, то такое лечение будет неэффективным.

Поэтому с целью ускорения процедуры определения и идентификации ботулотоксинов, а также отказа от использования лабораторных животных для рутинного скрининга клинического материала и пищевых продуктов предпринимаются попытки разработки надежных высокочувствительных экспрессных и информативных методов обнаружения ботулотоксинов *in vitro*.

За рубежом «золотым» стандартом детекции БТ в пищевых продуктах и клиническом материале является тест на летальность для мышей — высокочувствительная, но дорогостоящая и требующая большого расхода времени процедура [10].

В последние годы, в том числе и в связи с необходимостью обеспечения импортозамещения, актуальны разработки простых, чувствительных и специфичных тест-систем с использованием отечественных реактивов и оборудования, пригодных для экспресс-детекции патогенов. Технически подобные подходы представлены большим разнообразием иммунохроматографических, иммунофильтрационных и так называемых «дот-блот» методик, в которых в качестве твердой фазы используют соответствующие мембранные подложки, а в качестве маркеров — различные молекулярные метки: флуоресцирующие вещества, ферменты, золи тяжелых металлов (чаще — коллоидное золото) и дисперсные красители. Кроме того, достижение высоких показателей чувствительности и специфичности, а также сокращение времени и стоимости анализа достигается путем использования мультиплексных методов для одновременного обнаружения нескольких патогенов и систем детекции на основе люминесцентных наночастиц [6, 8].

Цель исследования — сравнительное изучение эффективности твердофазных методов иммунодетекции ботулинического токсина в сыворотке крови больного: дот-иммуноанализа с наночастицами серебра в качестве маркера специфических антител и фосфоресцентного анализа (ФОСФАН).

## МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

В качестве источника специфических антител для проведения дот-иммуноанализа (ДИА) использовали цельную сыворотку диагностическую противоботулиническую поливалентную против типов А, В, С, Е, F производства НПО «Аллерген» (Ставрополь) активностью 5000 — 10 000 МЕ, из

которой выделяли фракцию IgG комбинированным методом с использованием каприловой кислоты и сульфата аммония [11].

Постановку фосфоресцентного анализа (ФОСФАН) проводили в экспериментальной тест-системе «Ботулотокс-ФОСФАН». В ее составе используются моноклональные антитела (МАТ) к ботулотоксину А (БТА) (ООО «Импакт», Москва), поликлональные моноспецифические АТ к ботулотоксину В (БТВ) и ботулотоксину Е (БТЕ) и поливалентный иммуноглобулин к БТА, В, С, Е, F (НИИЭМ им. Н.Ф. Гамалеи, Москва). Ключевой элемент этой тест-системы — иммуночип (биосенсор), представляющий собой стандартный 96-луночный полистироловый микропланшет, на дне лунок которого напечатаны специфические АТ в виде 16 микрозон диаметром 0,5 мм каждая, по 4 микрозоны на каждый иммуноглобулин. Дизайн иммуночипа обеспечивает возможность группоспецифической индикации пяти БТ (А, В, С, Е, F) и позволяет типировать БТА, БТВ и БТЕ [6]. Иммуноанализ по технологии ФОСФАН выполняли в лунках планшета, в которые вносили конъюгированные с биотином противоботулинические АТ и исследуемый клинический материал. После соответствующей инкубации реагентов и промывки лунок планшета вносили детекторные системы: 1 — на основе стрептавидина, конъюгированного с платинакопропорфирином (PtКП), 2 — полистирольных наночастиц, покрытых стрептавидином и содержащих инкорпорированный внутри частицы хелат европия (НЧ-Eu) [9]. Люминесценцию обоих маркеров возбуждали на длине волны 365 нм и регистрировали на биочип-анализаторе ИФИ-03 «Диагем» (№ ФСР 2012/13913 от 8 августа 2013 г., ЗАО «Иммуноскрин») в режиме временного разрешения на длине волны 653 нм (для PtКП) и 615 нм (для НЧ-Eu). Порог детекции определяли как минимальную концентрацию БТ, при которой интенсивность люминесценции пробы не менее чем в два раза превышала сигнал отрицательного контроля из состава тест-системы.

Для получения наночастиц серебра с диаметром частиц 9 — 12 нм, наиболее подходящих для использования в качестве диагностикума в до-иммуноанализе, смешивали равные объемы водных растворов боргидрида натрия и азотнокислого серебра [3]. С помощью флокуляционного теста определяли количество IgG, способных стабилизировать золь серебра. Рассчитанное количество специфических АТ вносили в золь, перемешивали на магнитной мешалке 20 мин, затем полученный комплекс (диагностикум) стабилизировали добавлением равного объема фосфатного буфера, содержащего бычий сывороточный альбумин (БСА), нормальную кроличью сыворотку (НКС) и водный раствор полиэтиленгликоля-20 000 (ПЭГ). Далее в диагностикум добавляли NaCl и азид натрия и дополнительно перемешивали в течение 10 мин на магнитной мешалке.

Постановку ДИА осуществляли в «сэндвич» варианте [2]. При этом нитроцеллюлозные мембраны с размером пор 0,2 — 0,45 мкм нагружали противоботулиническими поливалентными IgG, выдерживая их в растворе антител в течение 20 мин. Далее подложку высушивали на воздухе, наносили исследуемый материал в объеме 1 мкл и после дополнительного блокирования свободных участков на мембране раствором БСА погружали в приготовленный диагностикум. После часовой экспозиции и последующей промывки мембран физиологическим раствором и дистиллированной водой образовавшийся иммунный комплекс (БТ=IgG) выявляли водным раствором проявителя, состоящего из лимонной кислоты, метола и азотнокислого серебра. Учет результатов — визуальный: места нанесения проб, содержащих ботулотоксин, окрашивались в виде пятен в темно-серый цвет. В отрицательных контролях и

образцах, не содержащих ботулинические токсины, окрашенные пятна не формировались, мембрана оставалась белой.

Исследуемым материалом служила сыворотка крови больного с установленным диагнозом «ботулизм», положительная в биопrobe (БП) и РБНТ (определен ботулотоксин серотипа В), в качестве отрицательного контроля использовали сыворотки крови больного острой кишечной инфекцией (ОКИ) и здорового человека.

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В результате проведенного эксперимента установлено следующее. При исследовании клинических образцов методом иммуноанализа по технологии ФОСФАН с использованием системы детекции на основе полистирольных наночастиц, содержащих инкорпорированный хелат европия, положительный результат получен с сывороткой крови больного ботулизмом, при этом сработали микрозоны с поливалентными противоботулиническими АТ и микрозона с поликлональным моноспецифическим антителом к БТВ. Положительный сигнал в зоне с поливалентным IgG свидетельствовал о возможном наличии в исследуемом образце любого из пяти БТ (А, В, С, Е, F). Определение серотипа БТВ полностью совпало с полученным результатом в РБНТ, в которой также был установлен серотип В. Сравнение величины сигнала от этого образца с калибровочным графиком зависимости интенсивности фосфоресценции от концентрации БТВ [6] позволило количественно оценить содержание БТВ в сыворотке крови больного ботулизмом на уровне примерно 100 пг/мл. Образцы крови больного ОКИ и здорового человека были отрицательными, т. е. фосфоресценция этих проб менее чем в 2 раза превышала сигнал от отрицательного контроля из тест-системы «Ботулотокс-ФОСФАН». Установлено также, что порог детекции ботулотоксинов в системе с использованием фосфоресцентных наночастиц НЧ-Eu был ниже, чем в системе на основе РтКП, в которой исследуемая сыворотка крови больного ботулизмом была отрицательной (сигналы фосфоресценции не превышали значений отрицательного контроля, полученных с сыворотками крови больного ОКИ и здорового человека). Более высокая чувствительность иммуноанализа с использованием НЧ-Eu обусловлена высокой излучательной способностью наночастиц, содержащих до 2000 молекул фосфоресцентной метки, что позволило повысить чувствительность детекции ботулотоксина примерно на порядок по сравнению с использованием фосфоресцентного метчика РтКП [6]. Продолжительность анализа на иммуночипе с использованием фосфоресцентных маркеров составила около 3 ч, хотя имеются данные о возможности сокращения этого времени примерно до 90 мин без потери чувствительности [6].

В ходе постановки дот-иммуноанализа в сыворотке крови больного ботулизмом обнаружен ботулинический токсин, проявляющийся на мембране в месте нанесения пробы в виде темно-серых пятен. Общее время постановки анализа составило около 2 ч, объем исследуемого образца — 1 — 2 мкл. В отрицательном контроле (сыворотка крови больного ОКИ и здорового человека) ботулотоксин не обнаруживался. Результаты, полученные в ДИА, полностью совпадали с результатами биопробы и реакции биологической нейтрализации токсина на мышах, подтверждая высокую чувствительность (на уровне БП и РБНТ, составляющей, судя по данным литературы [1], несколько десятков пикограммов токсина на 1 мл) и специфичность разработанной тест-системы для ДИА.

Преимуществом иммуноанализа по технологии ФОСФАН с использованием детекторной системы на основе полистирольных наночастиц, содержащих инкорпорированный внутри частицы хелат европия, является возможность группоспецифического обнаружения пяти серотипов ботулинического токсина с одновременной типоспецифической идентификацией трех токсинов. Другое важное преимущество состоит в высокой производительности иммуноанализа, которая обеспечивается микропланшетным форматом иммуночипа, а также возможности визуального контроля чувствительности и специфичности иммунореакции при анализе цветного изображения на экране компьютера [8]. Оборудование и реагенты (тест-системы) на основе технологии ФОСФАН рекомендуются для оснащения стационарных диагностических центров, оперирующих большим числом проб биологического материала.

Преимуществом тест-системы для дот-иммуноанализа на основе коммерческих поливалентных противоботулинических антител, меченных наночастицами серебра, являются простота в приготовлении, независимость от дорогостоящего приборного обеспечения, демонстративность результатов (визуальная оценка), высокие чувствительность, специфичность, экспрессность, экономичность и доступность применения в слабо оснащенных лабораториях, а также в условиях работы специализированных противоэпидемических бригад в режиме ЧС.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Аббасова С.Г., Руденко Н.В., Гороховатский А.Ю., Капралова М.В., Виноградова И.Д., Вертиев Ю.В., Несмеянов В.А., Гришин Е.В. Моноклональные антитела к ботулиническому нейротоксинам типов А, В, Е и F. *Биоорг. химия*. 2011, 37 (3): 344-353.
2. Загоскина Т.Ю., Балахонов С.В., Марков Е.Ю., Николаев В.Б., Субычева Е.Н., Чапоргина Е.А., Михайлов Е.П., Бодрых О.Б., Попова Ю.О. Апробация диагностических тест-систем с использованием наночастиц серебра в качестве маркеров специфических антител для скрининга исследуемого материала на наличие антигенов возбудителей чумы, бруцеллеза, туляремии и ботулотоксина в дот-иммуноанализе. *Эпидемиология и вакцинопрофилактика*. 2014, 4: 61-64.
3. Загоскина Т.Ю., Субычева Е.Н., Носырева Л.И., Бодрых О.Б., Марков Е.Ю., Вейде А.А., Долгова Т.М., Тайкова Т.С., Балахонов С.В. Конструирование тест-системы для скрининга пищевых продуктов и клинического материала на ботулотоксин в дот-иммуноанализе. *Журн. инф. патол.* 2009, 16 (3): 20-23.
4. Зубик Т.М. Ботулизм. В: *Инфекционные болезни*. Ю.В.Лобзин (ред.). СПб, Спецлит, 2001, с. 147-156.
5. Куренков А.Л., Артеменко А.Р., Никитин С.С., Орлова О.Р. Современные представления о механизмах действия ботулинического токсина типа А. *Врач*. 2009, 7: 8-12.
6. Никитина А.В., Помелова В.Г., Быченкова Т.А., Парамонов Д.В., Кострюкова Т.С., Осин Н.С. Иммуночипы для одновременного обнаружения пяти ботулотоксинов методом фосфоресцентного анализа (ФОСФАН). *Пробл. особо опасных инф.* 2016, 4: 64-68. doi: 10.21055/0370-1069-2016-4-64-68.
7. Никифоров В.Н., Никифоров В.В. Ботулизм. Л., Медицина, 1985.
8. Осин Н.С., Помелова В.Г., Соколов А.С., Быченкова Т.А., Бекман Н.И., Шарафудинова Т.Ю., Аслиян С.К., Ивановская Н.П., Ларичева С.Ю., Канаева Т.А. Фосфоресцентный микроанализ как новая технологическая платформа для молекулярной диагностики. *Вестник РАМН*. 2007, 12: 3-10.
9. Парамонов Д.В., Кострюкова Т.С., Быченкова Т.А., Помелова В.Г., Осин Н.С. Биоспецифичные наночастицы для мультиплексного фосфоресцентного анализа (ФОСФАН). *Биоорг. химия*. 2016, 42 (6): 722-731. doi: 10.7868/S0132342316060099.
10. Lindström M., Korkeala H. Laboratory diagnostics of botulism. *Clin. Microbiol. Rev.* 2006, 19 (2): 298-314.

11. McKinney M.M., Parkinson A. A simple, non-chromatographic procedure to purify immunoglobulins from serum and ascites fluid. *J. Immunol. Meth.* 1987, 96 (2): 271-278.
12. Montal M. Botulinum neurotoxin: a marvel of protein design. *Annu. Rev. Biochem.* 2010; 79: 591-617.

Поступила 10.04.17

Контактная информация: Загоскина Татьяна Юрьевна, д.м.н.,  
664047, Иркутск, ул. Трилиссера, 78, р.т. (3952)22-01-39

## ОБЗОРЫ

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2017

*Е.В.Анганова<sup>1,2</sup>, А.В.Ветохина<sup>1,3</sup>, Л.А.Распопина<sup>1,4</sup>, Е.Л.Кичигина<sup>1</sup>, Е.Д.Савилов<sup>1,2</sup>*

### СОСТОЯНИЕ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

<sup>1</sup>Иркутская государственная медицинская академия последипломного образования — филиал Российской медицинской академии непрерывного профессионального образования; <sup>2</sup>Научный центр проблем здоровья семьи и репродукции человека, Иркутск; <sup>3</sup>Иркутская областная клиническая больница; <sup>4</sup>Иркутская областная инфекционная больница

Микроорганизмы *Klebsiella pneumoniae* входят в группу наиболее распространенных клинически значимых патогенов с высоким уровнем антибактериальной устойчивости (ESKAPE). Скорость формирования антибиотикорезистентности штаммами *K. pneumoniae* резко увеличилась и достигла пандемического масштаба. Одним из основных клинически значимых механизмов их антимикробной резистентности является продукция  $\beta$ -лактамаз, группы которых различны в зависимости от региона, страны и стационара. В настоящее время значительная часть нозокомиальных *K. pneumoniae* устойчива к защищенным пенициллинам, цефалоспорином III — IV поколений. Серьезной угрозой системе здравоохранения является рост устойчивости клебсиелл к карбапенемам. В первую очередь, это KPC-, OXA-, NDM-, VIM-, IMP-продуцирующие *K. pneumoniae*. Быстрое распространение в мире карбапенемрезистентных клебсиелл свидетельствует о необходимости международного сотрудничества в рамках контроля за антибиотикорезистентностью. Отмечается увеличение частоты приобретенной резистентности *K. pneumoniae* к не- $\beta$ -лактамным антибиотикам (фторхинолонам, аминогликозидам). Регистрируются изоляты *K. pneumoniae*, устойчивые к тигециклину, колистину. В целом, проблема антибиотикоустойчивости возбудителей инфекционных заболеваний человека, в т. ч. *K. pneumoniae*, продолжает обостряться. Это серьезнейшая угроза для мирового общественного здравоохранения, которая требует действий во всех государственных секторах.

Журн. микробиол., 2017, № 5, С. 70—77

Ключевые слова: *Klebsiella pneumoniae*, антибиотикорезистентность,  $\beta$ -лактамазы расширенного спектра, группы антимикробных препаратов

*Е.В.Анганова<sup>1,2</sup>, А.В.Ветохина<sup>1,3</sup>, Л.А.Распопина<sup>1,4</sup>, Е.Л.Кичигина<sup>1</sup>, Е.Д.Савилов<sup>1,2</sup>*

### STATE OF ANTIBIOTICS RESISTANCE OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE*

<sup>1</sup>Irkutsk State Medical Academy of Post-Graduate Education — Branch of Russian Medical Academy of Continuous Professional Education; <sup>2</sup>Scientific Centre of Problems of Family Health and Human Reproduction, Irkutsk; <sup>3</sup>Irkutsk Regional Clinical Hospital; <sup>4</sup>Irkutsk Regional Infectious Hospital, Russia