

DOI: <https://doi.org/10.34921/amj.2025.3.17>**KLEBSIELLA PNEUMONIAE-NIN XARICI KEYFİYYƏT QIYMƏTLƏNDİRİLMƏSİ
PANELİNƏ QARŞI DAVAMLILIĞININ TƏDQIQI****B.S.Seyfullayeva, Q.K.Abduxalilova**¹Özbəkistan Respublikası İxtisaslaşdırılmış Elmi-Praktik Tibbi Epidemiologiya, Mikrobiologiya, İnfeksion və Parazitar Xəstəliklər Mərkəzi, ²Daşkənd Tibb Akademiyası, Daşkənd, Özbəkistan

Məqalədə *K.pneumoniae*-nin xarici keyfiyyət qiymətləndirilməsi panelinə qarşı həssaslığını öyrənmək məqsədilə aparılmış tədqiqat işi haqqında məlumat verilmişdir.

K.Pneumoniae ştamplarının antimikrob preparatlarına qarşı sabitliyinin təyini məqsədilə bu mikroorqanizmin 40 ştammi və *E.coli* (NCTC 12241) ştammi tədqiq edilmişdir. Ştampların həssaslığının sabitliyi BD-Phoenix bakterioloji analizatorunda seriyalar üzrə durulaşdırma metodu ilə öyrənilmişdir. Tədqiqatın gedişində hər bir bakteriya ştammi liofil qurudulmadan əvvəl 5 dəfə (1 ay, 2 ay, 3 ay, 6 ay və 1 illik müddətdə) və liofilizasiyadan 3 və 6 ay sonra araşdırılmışdır.

Mikroorqanizmlərin həssaslıq və sabitliyinin analizi göstərmişdir ki, orta göstəricilər üzrə sabitliyin ən yüksək səviyyəsi ampicillinə (AMP-10), piperasillin-tazobaktam və gentamisinə qarşı olmuşdur. *K.pneumoniae* ştamplarının antimikrob preparatlarına qarşı resistentlyinin analizində isə 8 preparata qarşı yüksək müqavimət müşahidə edilmişdir.

Açar sözlər: mikroorqanizmlərin sabitlik xassəsi, xarici keyfiyyət qiymətləndirilməsi, antimikrob preparatlar

Ключевые слова: стабильность свойств микроорганизмов, внешняя оценка качества, антимикробные препараты

Keywords: microorganism properties, external quality assessment, antimicrobial agents

**ИЗУЧЕНИЕ СТАБИЛЬНОСТИ СВОЙСТВ KLEBSIELLA PNEUMONIA – ДЛЯ
ПАНЕЛИ ВНЕШНЕЙ ОЦЕНКИ КАЧЕСТВА****Б.С.Сейфуллаева¹, Г.К.Абдухалилова^{1,2}**¹Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных заболеваний Узбекистана, Ташкент, Узбекистан²Ташкентская Медицинская Академия, Ташкент, Узбекистан

В статье представлены результаты исследования, проведенного с целью изучить стабильность свойств *K. pneumoniae* – для панели внешней оценки качества.

Для определения стабильности штаммов *K. pneumoniae* к антимикробным препаратам (АМП) было отобрано 40 штамма *K. pneumoniae* и одного контрольного штамма *E.coli* – NCTC 12241. Стабильность чувствительности штаммов изучали с помощью бактериологического анализатора BD Phoenix методом серийных разведений с определением минимальной подавляющей дозы (МПД). В ходе исследования каждый штамм проверялся в пятикратной повторности (через 1 мес., 2 мес., 3 мес., 6 мес. и 1 год) до лиофильного высушивания, а также через месяц, 3 и 6 месяцев после лиофильного высушивания. Анализ данных чувствительности-резистентности показал, что наиболее стабильными по показателям среднего значения минимальной ингибирующей концентрации (МИК) наблюдались у антимикробных препаратов ампициллина (AMP10) — среднее: 15,7%, CV% = 0,0%, пиперациллин-тазобактам (TZP 36) — среднее: 1,15% 0,0%, CV% = 0,0%, амикацина (AK30) и гентамицина (GN) 10 CV% = 1,81% и 1,24% соответственно, а показатели 95% CI 15,48-16,22 и 5,0 соответственно. Анализ показателей резистентности к антимикробным препаратам штаммов *K. pneumoniae* на стабильность свойств за период хранения выявило, что к восьми антимикробным препаратам значение показали высокую стабильность AMP 10.

Лабораторные исследования на сегодняшний день являются одним из основных источников объективной диагностической информации в медицине [1]. Клинические лаборатории играют важную роль в диагностике и лечении пациентов [2]. Поэтому важно, чтобы лаборатории производили высококачественные результаты испытаний, поскольку они часто являются основой для принятия клинических решений [3]. 70-80% клинических решений принимаются на основе результатов анализа, представленных лабораториями [4]. Некачественные лабораторные исследования могут иметь финансовые, медицинские и социальные последствия для здоровья пациентов [5].

Качество лабораторной диагностики зависит как от преаналитического этапа взятия и доставка патологического материала, так и от аналитического этапа культуральное исследование, проводимое в микробиологических лабораториях [6]. Так же оценку и качество процессов проводимых исследований в лабораториях можно осуществить с внедрением и ежегодным проведением в лабораториях внешней оценки качества (ВОК) [7].

Схема внешней оценки качества (ВОК) оценивает деятельность участвующих лабораторий, оценивая целостность всего испытания, начиная от отбора проб биоматериалов и заканчивая процессами тестирования и публикацией результатов анализов. Это позволяет сравнивать лабораторные испытания с результатами другой лабораторной группы или национальной референтной лаборатории [8]. Последовательное участие лабораторий в циклах ВОК реально способствует улучшению показателей правильности и прецизионности результатов исследований. повышает достоверность лабораторной информации [9] ВОК дает объективные данные о качестве предоставляемых услуг для аккредитующих и регуляторных органов и как было показано, отражает качество тестирования образцов пациентов [2].

В большинстве развитых стран программы ВОК надежно отработаны и в значительной мере способствуют улучшению качества медицинской помощи на всех уровнях системы здравоохранения [6] однако в

нашей стране отсутствует система, которая проводит ВОК для бактериологических лабораторий.

Глобальной проблемой здравоохранения является растущая антибиотикорезистентность *K. pneumoniae* [10]. *K. pneumoniae*, который является один из наиболее распространенных возбудителей инфекций, характеризующийся быстрым формированием антибиотикорезистентности. *K. pneumoniae* может с легкостью распространяться между пациентами и вызывать вспышки инфекций. Уровень носительства *K. pneumoniae* в некоторых странах азиатского региона составляет 75% [11].

В связи с этим нами поставлена цель выявление наиболее стабильных штаммов *K. pneumoniae* для создания панели ВОК.

Цель исследования – изучение стабильности свойств *K. pneumoniae* – для панели внешней оценки качества.

Материалы и методы исследования. Исследования проводились в рамках Кооперационного соглашения между СДС и Республиканским специализированным научно-практическим медицинским центром эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных заболеваний (РСНПМЦЭМИПЗ) по проекту № 5 NU2HGH000089-04-00 «Расширение сети дозорного эпидемиологического надзора по противодействию проблеме устойчивости к антимикробным препаратам в Республике Узбекистан».

Штаммы *K. pneumoniae* идентифицировали и изучали чувствительность к противомикробным препаратам в референс-лаборатории ЦАМР (Центр Антимикробной резистентности) РСНПМЦЭМИПЗ. Идентификацию штаммов проводили с помощью панелей NID (REF)-448007 бактериологического анализатора BD Phoenix (США).

Чувствительность и интерпретация результатов теста чувствительности к антимикробным препаратам (ТЧА) проводилось с помощью панелей NMIC-433 (REF)-449046 бактериологического анализатора BD Phoenix, производство США. Для контроля качества проведенных исследований использовали референтные штаммы *E.coli* NCTC 12241. Полученные результаты чувствительности обрабатывались с использованием программы WHONET и Microsoft Excel.

Лиофильное высушивание проводилось на аппарате INFITEK LY060B-1S, который включает несколько этапов. Сублимационная сушка LY060B-1S использует чрезвычайно низкие температуры (-60°C) и вакуум для удале-

ния влаги из микроорганизмов. Лиофильное высушивание проводилось в пенициллиновых флаконах с гладким горлом, в объеме 10 мл. Процесс лиофилизации: на первом этапе проводили замораживание биоматериала до температуры минус 60°C. На втором этапе происходит первичное высушивание, когда вся замороженная свободная влага сублимируется под воздействием вакуума и тепловой энергии. Третий этап – это окончательная сушка продукта когда удаляется оставшаяся влага. Процесс лиофилизация в течение 18-22 часа.

Статистическая обработка полученных результатов проводилась с использованием метода Стьюдента и дисперсионный анализ ANOVA.

Результаты исследования и их обсуждение. Для формирования панели ВОК, были изучены стабильность свойств чувствительности к антимикробным препаратам 40 штамма *K. pneumoniae* и одного контрольного штамма *E.coli* NCTC 12241. Все штаммы были идентифицированы как *K. pneumoniae*.

Для изучения стабильности свойств чувствительности-резистентности штаммов *K. pneumoniae* к антимикробным препаратам

на начальном этапе исследовали штаммы хранящиеся в замороженном виде при температуре минус 80°C. Каждый штамм проверялся в пяти кратной повторности (через 1 мес., 2 мес., 4 мес., 6 мес. и 1 год) до лиофильного высушивания, а также через месяц, 3 и 6 месяцев после лиофильного высушивания. Результаты данных ТЧА анализировались по стабильности свойств чувствительности-резистентности штаммов к антимикробным препаратам.

Первым этапом анализа для сравнения стабильности чувствительности-резистентности результатов штаммов *K. pneumoniae*, был проведен расчет значений средних показателей минимально ингибирующих концентраций (МИК) (таблица 1).

Таким образом, наиболее стабильными показатели значений МИК были у АК 30, АМР 10, CN 10 и TZP 36.

Далее нами проведен анализ показателей резистентности к антимикробным препаратам штаммов *K. pneumoniae* на стабильность свойств за период хранения (Таблица 2).

Таблица 1. Средний показатель минимальной ингибирующей концентрации (МИК) *K. pneumoniae* в mg/L. по отношению к антимикробным препаратам

Сроки выполнения Название АМП	Klebsiella pneumoniae (n=40) (mg/L)				CV%	95% CI
	Через 2 м	Через 4 м	Через 6 м	Через 1 год		
Ampicillin AMP10	15,7±0,3	15,7±0,3	15,7±0,3	15,7±0,3	0,00	-
Amoxicillin clavulanic acid AUG 10- 20	<u>13,0±0,9</u> 2,0±0,0	<u>12,2±0,9</u> 2,2±0,2	<u>12,2±0,9</u> 2,2±0,2	<u>12,8±0,9</u> 2,0±0,0	<u>3,29</u> 5,5	<u>11,89-13,21</u> 1,91-2,28
Ciprofloxacin CIP 5	0,8±0,1	0,7±0,1	0,7±0,1	0,7±0,1	6,9	0,65-0,8
Levofloxacin LEV 5	1,5±0,1	1,5±0,1	1,5±0,1	1,4±0,1	3,39	1,39-1,55
Amikacin AK30	15,4±1,8	16,0±1,8	16,0±1,8	16,0±1,8	1,81	15,48-16,22
Gentamicin CN 10	5,3±0,5	5,2±0,5	5,2±0,5	5,3±0,5	1,24	5,0
Meropenem MRP10	2,1±0,5	2,0±0,5	2,0±0,5	2,7±0,5	13,23	1,83-2,57
Imipenem IMI 10	2,2±0,5	2,0±0,5	2,0±0,5	2,0±0,5	13,21	1,85-2,58
Ceftriaxone CRO 30	3,3±0,2	3,3±0,2	3,3±0,2	3,5±0,2	2,99	3,19-3,51
Ceftazidime CAZ 10	6,1±0,5	5,7±0,5	5,7±0,5	6,3±0,5	4,86	5,58-6,32
Cefepime FEP 30	6,3±0,5	6,2±0,5	6,2±0,5	6,5±0,4	2,74	6,0
Piperacillin-tazobactam TZP 36	<u>11,1±0,9</u> 4,0±0,0	<u>10,9±0,9</u> 4,0±0,0	<u>10,9±0,9</u> 4,0±0,0	<u>11,2±0,9</u> 4,0±0,0	<u>1,15</u> 0,00	<u>10,84-11,22</u> 0

Таблица 2. Анализ данных теста чувствительности к антимикробным препаратам штаммов *K. pneumoniae* на стабильность свойств используя панель NMIC-433 BD Phoenix.

Сроки выполнения Название АМП	Klebsiella pneumoniae (n=40) (R) (%)				CV%	95%CI
	Через 2 м	Через 4 м	Через 6 м	Через 1 год		
Ampicillin AMP10	97,5±2,5	97,5±2,5	97,5±2,5	97,5±2,5	0,0	0,0
Amoxicillin clavulanic acid AUG 10- 20	<u>75,0±6,8</u> 7,0±6,8	<u>67,5±7,4</u> 67,5±7,4	<u>67,5±7,4</u> 67,5±7,4	<u>70,0±7,2</u> 72,5±7,1	1,83	66,1-70,1
Ciprofloxacin CIP 5	72,5±7,1	65,0±7,5	65,0±7,5	65,0±7,5	5,61	60,9-72,8
Levofloxacin LEV 5	72,5±7,1	70,0±7,2	70,0±7,2	70,0±7,2	1,77	68,6-72,6
Amikacin AK30	35,0±7,5	35,0±7,5	35,0±7,5	35,0±7,5	0,0	0,0
Gentamicin CN 10	52,5±7,9	52,5±7,9	52,5±7,9	52,5±7,9	0,0	0,0
Meropenem MRP10	22,5±6,6	25,0±6,8	25,0±6,8	32,5±7,4	16,5	19,4-33,1
Imipenem IMI 10	20,0±6,3	20,0±6,3	20,0±6,3	20,0±6,3	0,0	0,0
Ceftriaxone CRO 30	70,0±7,2	70,0±7,2	70,0±7,2	70,0±7,2	0,0	0,0
Ceftazidime CAZ 10	62,5±7,7	62,5±7,7	62,5±7,7	62,5±7,7	0,0	0,0
Cefepime FEP 30	70,0±7,2	65,0±7,5	65,0±7,5	67,5±7,4	3,58	63,1-70,7
Piperacillin-tazobactam TZP 36	<u>55,0±7,9</u> 55,0±7,9	<u>52,5±7,9</u> 52,5±7,9	<u>52,5±7,9</u> 52,5±7,9	<u>52,5±7,9</u> 55,0±7,9	2,69	51,5-56,1

Анализируя данные коэффициента вариации (CV%) (таблица 2), т.е. степень изменчивости чувствительности-резистентности бактерий за период хранения показал, что из двенадцати антимикробных препаратов предлагаемые производителем в панели, к восьми антимикробным препаратам значение показали высокую стабильность AMP 10 (CV%<2%), это у (CV%=0,0%), AUG 10-20 (CV%=1,83%), LEV 5 (CV% = 1,77%), AK30 (CV% =0,0%), CN 10 (CV% = 0,0%), IMI 10 (CV% = 0,0%), CRO 30 (CV% = 0,0%), CAZ 10 (CV% = 0,0%). Эти антибиотики демонстрируют минимальные изменения в чувствительности *K. pneumoniae* во времени. Узкий 95% доверительный интервал подтверждает стабильность измерений и *K. pneumoniae* сохраняет чувствительность к этим антибиотикам на одном уровне. Три антимикробных препарата показали умеренную изменчивость (CV%=3-6%), это TZP 36 (CV% = 2,69%). FEP 30 (CV% = 3,58%) и CIP 5

(CV%=5,61%). Только MRP10 имеет высокую изменчивость показателей чувствительности-резистентности, так как 95% доверительный интервал составляет от 19,4 до 33,1 и к данному антимикробному препарату MRP 10 требуется дополнительный мониторинг и проверка условий хранения.

После проведения анализа стабильности чувствительности – резистентности штаммов *K. pneumoniae* отобрано 17 штаммов *K. pneumoniae* для лиофильного высушивания и дальнейшего изучения их стабильности.

Анализируя полученные данные для создания панели ВОК, нами отобрано десять штамма, которые за весь период исследования не изменяли свои свойства.

Таким образом, исследования на стабильность штамма *K. pneumoniae* показало, что не все штаммы сохраняют свои свойства при хранении, только 25,0% штаммов *K. pneumoniae* сохранили свои свойства и были отобраны для создания панели.

Дополнительная информация

Финансирование. Исследование имело спонсорскую поддержку: исследования проводились в рамках Кооперационного соглашения между СДС и Республиканским специализированным научно-практическим медицинским центром эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитар-

ных заболеваний (РСНПМЦЭМИПЗ) по проекту № 5 NU2HGH000089-04-00 «Расширение сети дозорного эпидемиологического надзора по противодействию проблеме устойчивости к антимикробным препаратам в Республике Узбекистан».

Конфликт интересов. Все авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

Вклад авторов. Сейфуллаева Б.С., Абдухалилова Г.К. – концепция и дизайн исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мурзина Н.П., Резниченко М.Ф. Что нам следует ожидать от совершенствования процедур внутрилабораторного контроля качества? Клиническая лабораторная диагностика. № 9. 2014. [Murzina N.P., Reznichenko M.F. Chto nam sleduet ozhdat' ot sovershenstvovaniya procedur vnutrilaboratornogo kontrolja kachestva? Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. № 9. 2014.]
2. Sciacovelli L., Secchiero S., Zardo L., Plebani M. The role of the External Quality Assessment. *Biochimica Medica*. 2010;20(2):160-4.
3. Lippi G., Plebani M., Graber ML. Building a bridge to safe diagnosis in health care. The role of the clinical laboratory. *Clin Chem Lab Med*. 2016;54:1-3.
4. Николаев Н.С., Назарова В.В., Добровольская Н.Ю., Орлова А.В., Пчелова Н.Н. Управление качеством в клинко-диагностической лаборатории в условиях фгбу "федеральный центр травматологии. ортопедии и эндопротезирования" минздрава россии (г. Чебоксары) клиническая лабораторная диагностика. № 10. 2014. стр. 59-64 [Nikolaev N.S., Nazarova V.V., Dobrovol'skaja N.Ju., Orlova A.V., Pchelova N.N. Upravlenie kachestvom v kliniko-diagnosticheskoj laboratorii v uslovijah fgbu "federal'nyj centr travmatologii. ortopedii i jendoprotezirovanija" minzdrava rossii (g. Cheboksary) klinicheskaja laboratornaja diagnostika. № 10. 2014. str. 59-64]
5. James D., Ames D., Lopez B., Still R., Simpson W., Twomey P. External quality assessment: best practice. *J Clin Pathol*. 2014;67(8):651-5
6. Борисова О.Ю., Гадуа Н.Т., Пименова А.С., Шепелин А.П., Домотенко Л.В., Миронов А.Ю., Афанасьев С.С., Афанасьев М.С., Алёшкин В.А. Внешний контроль качества проведения бактериологического исследования при выделении *Corynebacterium diphtheriae* // Клиническая лабораторная диагностика. 2021; 66(8) [Borisova O.Ju., Gadua N.T., Pimenova A.S., Shepelin A.P., Domotenko L.V., Mironov A.Ju., Afanas'ev S.S., Afanas'ev M.S., Aljoshkin V.A. Vneshnij kontrol' kachestva provedenija bakteriologicheskogo issledovanija pri vydelenii Sorynebacterium diphtheriae // Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. 2021; 66(8)]
7. Bhat V., Chavan P., Naresh C., Poladia P. The External Quality Assessment Scheme (EQAS): Experiences of a medium sized accredited laboratory. *Clin Chim Acta*. 2015; 446:61-3
8. Kristensen G.B., Meijer P. Interpretation of EQA results and EQA-based trouble shooting. *Biochem Med (Zagreb)* 2017;27:49-62
9. Меньшиков В.В. Внешняя оценка качества исследований: роль в обеспечении достоверности лабораторной информации // Клиническая лабораторная диагностика. № 8. 2013. стр. 59-63 [Men'shikov V.V. Vneshnjaja ocenka kachestva issledovanij: rol' v obespechenii dostovernosti laboratornoj informacii // Klinicheskaja laboratornaja diagnostika. № 8. 2013. str. 59-63]
10. Новикова И.Е., Садеева З.З., Алябьева Н.М., Самойлова Е.А., Карасева О.В., Янюшкина О.Г., Лазарева А.В. Антибиотикорезистентность и вирулентность карбапенемустойчивых штаммов *Klebsiella pneumoniae*. выделенных у детей в реанимационных и хирургических отделениях. журнал микробиологии. эпидемиологии и иммунобиологии. 2023; стр321-332 [Novikova I.E., Sadeeva Z.Z., Aljab'eva N.M., Samojlova E.A., Karaseva O.V., Janjushkina O.G., Lazareva A.V. Antibiotikorezistentnost' i virulentnost' karbapenemustojchivyh shtammov Klebsiella pneumoniae. vydelennyh u detej v reanimacionnyh i hirurgicheskikh otdelenijah. zhurnal mikrobiologii. jepidemiologii i immunobiologii. 2023; str321-332]
11. Эпиднадзор за устойчивостью к протимикробным препаратам в Центральной Азии и Восточной Европе. CAESAR Практ.пособие.-Версия2.-Копенгаген:Европейское бюро ВОЗ, 2015 [Jepidnadzor za ustojchivost'ju k protimikrobnym preparatam v Central'noj Azii i Vostochnoj Evrope. CAESAR Prakt.posobie.-Versija2.-Kopengagen:Evropejskoe bjuro VOZ, 2015]

STUDY OF THE STABILITY OF *KLEBSIELLA PNEUMONIAE* PROPERTIES - FOR THE EXTERNAL QUALITY ASSESSMENT PANEL

B.S.Seyfullayeva¹, G.K.Abdukhalilova^{1,2}

¹Republican Specialized Scientific and Practical Medical Center for Epidemiology Microbiology of Infections and Parasitic Diseases;

²Tashkent Medical Academy, Tashkent, Uzbekistan

Summary. The article presents a study aimed at evaluating the susceptibility of *Klebsiella pneumoniae* to the external quality assessment (EQA) panel and determining the stability of antimicrobial agents against *K. pneumoniae*

strains. A total of 40 *K. pneumoniae* strains and one *Escherichia coli* strain (NCTC 12241) were analyzed for their stability to antimicrobial agents. The susceptibility and stability of the strains were assessed using the dilution method in series with the BD-Phoenix bacteriological analyzer. Each bacterial strain was analyzed before lyophilization and at 1 month, 2 months, 3 months, 6 months, and 1 year after storage, as well as 3 and 6 months post-lyophilization. The analysis of microorganism susceptibility and stability showed that the highest stability was observed against ampicillin (AMP-10), piperacillin-tazobactam, and gentamicin. However, resistance analysis of *K. pneumoniae* strains revealed high resistance to 8 antimicrobial agents. of the study is to study the stability of the properties of *K. pneumoniae* - for the external quality assessment panel.

Müəlliflə əlaqə üçün:

Багдагюль Сейфуллаева, Республиканский специализированный научно-практический медицинский центр эпидемиологии, микробиологии, инфекционных и паразитарных заболеваний Узбекистана, Ташкент, Узбекистан

E-mail: bagda-seyfullayeva1991@gmail.com

Тəqdim edilmişdir: 18.12.2024

Qəbul edilmişdir: 06.08.2025