

## Антибиотикорезистентные уропатогенные *Escherichia coli*, выделенные от детей с врождёнными аномалиями развития мочевыделительной системы

С. СУАДКИА, \*И. В. ПОДОПРИГОРА, Н. В. ЯШИНА, Л. Е. САРУХАНОВА, Э. Г. КРАВЦОВ

Российский университет дружбы народов, Москва

### Antibiotic-Resistant Uropathogenic *Escherichia coli* Isolated from Children with Congenital Abnormalities of the Kidneys and Urinary Tract

S. SUADKIA, \*I. V. PODOPRIGORA, N. V. YASHINA, L. E. SARUKHANOVA, E. G. KRAVTSOV

RUDN University, Moscow

Уропатогенная *Escherichia coli* (UPEC) представляет собой серьёзную проблему для здоровья людей во всем мире. Множественная лекарственная устойчивость UPEC в сочетании с факторами вирулентности является причиной серьёзной тревоги. В детском возрасте инфекции мочевыводящих путей имеют особую важность, так как могут протекать на фоне длительно не распознанных врождённых аномалий почек и мочевых путей. Из 106 клинических изолятов UPEC 63,2% культур было выделено из образцов мочи девочек и 36,8% — из образцов мочи мальчиков, что соответствует соотношению 1,7:1. Проведена оценка антибиотикорезистентности выделенных культур UPEC по отношению к 12 противомикробным препаратам. Среди протестированных культур 49% обладали множественной лекарственной устойчивостью, а 20,75% культур оказались резистентными к имипенему. Фенотипический анализ спектра антибиотикочувствительности уропатогенных *E.coli* ( $n=106$ ) свидетельствует о высоком проценте встречаемости полирезистентных штаммов UPEC (49%) и имипенеморезистентных штаммов UPEC (20,75%) среди детей всех возрастных групп.

**Ключевые слова:** дети, инфекция мочевыводящих путей, *E.coli*, UPEC, множественная лекарственная устойчивость.

Uropathogenic *Escherichia coli* (UPEC) is a serious health problem worldwide. UPEC's multiple drug resistance combined with virulence factors is a cause of serious concern. In childhood, urinary tract infections are of particular importance, since they can occur against the background of long-term unrecognized congenital anomalies of the kidneys and urinary tract. Of the 106 UPEC clinical isolates, 63.2% of cultures were isolated from girls' urine samples and 36.8% from boys' urine samples, which corresponds to a 1.7: 1 ratio. The antibiotic resistance of the isolated UPEC cultures was assessed in relation to 12 antimicrobial drugs. Among the tested cultures, 49% were multidrug-resistant and 20.75% were found to be resistant to imipenem. Phenotypic analysis of antibiotic susceptibility spectrum of uropathogenic *E.coli* ( $n=106$ ) indicates a high percentage of occurrence of multi-resistant UPEC strains (49%) and imipenem-resistant UPEC strains (20.75%) among children of all age groups.

**Keywords:** children, urinary tract infection, *E.coli*, UPEC, multidrug resistance.

### Введение

Ежегодно от инфекций мочевыводящих путей (ИМП) страдает около 150 млн человек во всём мире [1]. При данной патологии могут поражаться различные отделы мочевыделительной системы человека, включая почки, мочеточники, мочевого пузырь и мочеиспускательный канал. Клинически ИМП могут проявляться как в лёгкой, так и в тяжёлой форме. ИМП считается протекающей в лёгкой форме, когда она возникает у людей, в целом здоровых и не имеющих структурных или неврологических нарушений мочевыводящих путей [2, 3]. Осложнённые ИМП связаны с факторами, которые нарушают защиту мочевы-

водящих путей и могут включать: непроходимость мочи; задержку мочи, вызванную неврологическим заболеванием; иммуносупрессию; почечную недостаточность; трансплантацию почек; беременность и присутствие инородных тел, таких как камни, постоянные катетеры или другие дренажные устройства [4, 5].

Известно, что штаммы уропатогенной *Escherichia coli* (UPEC) несут в себе множество генов вирулентности (гены фимбрий (fimH) — 89%, гемолизина (hlyA) — 60%, аэробактина (aer) — 90%) [6], продукты которых участвуют в патогенезе ИМП [7–9]. Многие факторы патогенности позволяют уропатогенной *E.coli* преодолевать механизмы системы иммунной защиты хозяина [10, 11].

Распространение лекарственной устойчивости к антибиотикам широкого спектра действия и появление клональных групп с множественной

© Коллектив авторов, 2020

\*Адрес для корреспонденции: E-mail: podoprigora\_iv@rudn.ru

лекарственной устойчивостью среди штаммов UPEC стало серьёзной проблемой здравоохранения во всем мире [6].

В детском возрасте ИМП имеют особую важность, так как могут протекать на фоне длительно не распознанных врождённых аномалий почек и мочевых путей и приводить к сморщиванию почек, хронической почечной недостаточности и гипертензии. Уропатогенная *E.coli* является основным этиологическим агентом, связанным с ИМП, в том числе и у детей [8].

Цель исследования — фенотипирование клинических изолятов UPEC, выделенных от детей с врождёнными аномалиями развития мочевыделительной системы, по чувствительности к антибиотикам.

## Материал и методы

Всего было исследовано 106 клинических изолятов UPEC, выделенных из образцов мочи детей в возрасте от 6 мес. до 18 лет с врождённой патологией развития мочевыделительной системы: врождённый пузырно-мочеточниковый рефлюкс, врождённое расширение мочеточника, экстрофия мочевого пузыря, нейрогенная дисфункция мочевого пузыря, пузырно-мочеточниковый рефлюкс, врождённые аномалии почек и др. Изоляты UPEC хранили в пробирках типа «Криобокс» замороженными при температуре  $-80 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

Критериями включения в выборку были: пациенты обоего пола, возраст от 6 мес. до 18 лет, врождённая патология развития мочевыделительной системы. Критерии исключения не рассматривались.

Для посева использовали стандартные питательные среды: сердечно-мозговой агар/бульон «HiMedia laboratories» (Индия), среда UTI агар «HiMedia laboratories» (Индия), среда Мюллера—Хинтон агар «HiMedia laboratories» (Индия).

Тестирование культур UPEC на антибиотикорезистентность проводили на агаре Мюллера—Хинтон «HiMedia laboratories» (Индия) диско-диффузным методом. Картриджи, содержащие диски с антибиотиками «HiMedia laboratories» (Индия) хранили при температуре от  $4 \pm 0,5^\circ\text{C}$  до  $-20 \pm 0,5^\circ\text{C}$ , перед использованием картриджи предварительно согревали до температуры  $21 \pm 0,5^\circ\text{C}$ .

В работе использовали диски, пропитанные следующими антибиотиками: цефтазидим (CAZ, 30 мкг), триметоприм (TR, 30 мкг), цефтриаксон (CTR, 30 мкг), фосфомицин (FO, 200 мкг), цефазолин (CZ, 30 мкг), амоксилав (AMC, 30 мкг), цефтазидим с клавулановой кислотой (CAC, 30/10 мкг), тетрациклин (TE, 30 мкг), имипенем (IPM, 10 мкг), ципрофлоксацин (CIP, 30 мкг), ампициллин (AMP, 25 мкг) и нитрофурантоин (NIT, 200 мкг).

Чашки с посевами на среде Мюллера—Хинтон инкубировали в течение 24 ч. Зоны ингибирования роста тестируемых культур измеряли через 24 ч. Все работы были выполнены в соответствии с рекомендациями NCCLS документа M2-A11.

## Результаты исследования

Из 106 клинических изолятов UPEC 63,2% культур было выделено из образцов мочи девочек и 36,8% — из образцов мочи мальчиков, что соответствует соотношению 1,7:1.

Согласно полученным данным, 49% протестированных изолятов UPEC обладают множественной резистентностью, т. е. были устойчивы к препаратам, относящимся к трём и более группам антибиотиков. 33% изолятов *E.coli* оказались чувст-

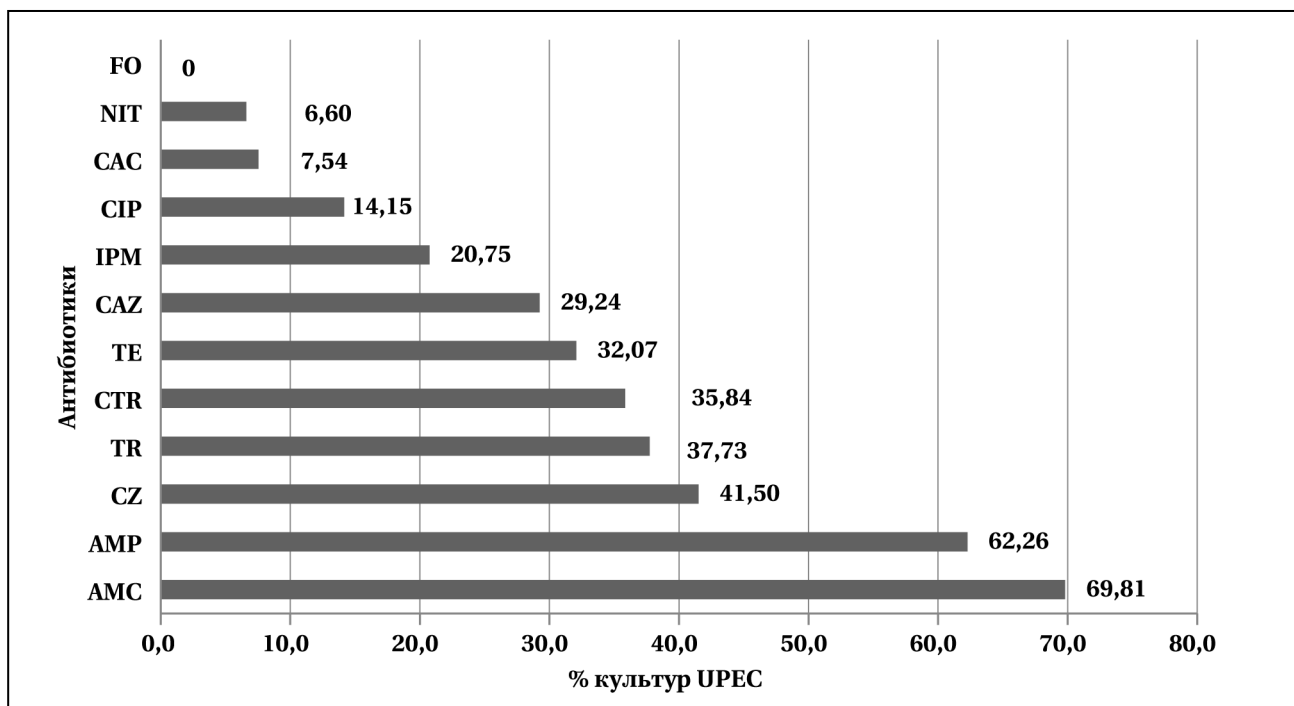


Рис. 1. Процентное соотношение резистентных и чувствительных к антибактериальным препаратам уропатогенных *E.coli* в выборке  $n=106$ .

вительны ко всем протестированным противомикробным препаратам, а 67% были устойчивы, по крайней мере, к одному антибиотику. Из них: 32% культур UPEC были резистентны к антибиотикам более чем из четырёх групп, 17% — из трёх, 10% — из двух и 8% только к антибактериальным препаратам из одной группы (рис. 1).

При оценке устойчивости культур *E.coli* по отношению к антибактериальным препаратам оказалось, что 100% изолятов UPEC чувствительны к фосфомицину (200 мкг). Большинство изолятов продемонстрировали резистентность к амоксилаву (30 мкг) — 69,81% и ампицилину (25 мкг) — 62,26%. Также высокий процент резистентности наблюдался у культур UPEC к цефалоспорином 1-го и 3-го поколения: цефазолин (30 мкг) — 41,5%, цефтиаксон (30 мкг) — 35,84%, цефтазидим (30 мкг) — 29,24%. К комбинированному препарату цефтазидим/клавулановая кислота (30/10 мкг) было резистентно 7,54% культур *E.coli*. Более 30% изолятов оказались резистентны к тетрациклину (30 мкг) и триметаприму (30 мкг) — 32,1% и 37,7%, соответственно.

Особый интерес представляют культуры UPEC, резистентные к имипенему, антибиотику из группы карбапенемов, обладающих широким спектром антибактериального действия. Среди 106 изолятов уропатогенной *E.coli*



**Рис. 2.** Процент изолятов в выборке уропатогенных *E.coli* ( $n=106$ ), резистентных к определённому противомикробному препарату.

**Примечание.** AMC — амоксиклав; AMP — ампициллин; CZ — цефазолин; TR — триметоприм; CTR — цефтриаксон; TE — тетрациклин; CAZ — цефтазидим; IPM — имипенем; CIP — ципрофлоксацин; CAC — цефтазидим с клавулановой кислотой; NIT — нитрофурантоин; FO — фосфомицин.

20,75% оказались резистентными к имипенему. Данные микроорганизмы были выделены от пациентов в возрасте первого года (18%) до двух лет (32%) с диагнозами: врождённый пузырно-мочеточниковый-почечный рефлюкс, врождённая аномалия развития мочевой системы, нейрогенный мочевой пузырь, вторичный пиелонефрит, а также от пациентов 3 лет, 6 лет, 8–10 лет, 14 лет, 16 лет и 18 лет. Имипенеморезистентная группа UPEC ( $n=22$ ) на 50% образована культурами *E.coli*, выделенными от пациентов в возрасте от 1 года до 2 лет, на 45% — культурами, выделенными от пациентов в возрасте от 3 до 18 лет и 5% (1 изолят) от пациента в возрасте 9 мес. (врождённое расширение мочеточников). Несмотря на то что имипенеморезистентные *E.coli* в равной степени выделялись как от пациентов мужского, так и женского пола, в возрастной группе детей двух лет резистентные к имипенему *E.coli* были выделены от мальчиков в 71%, в то время как от девочек в 29% случаев.

Характер резистентности изолятов UPEC к тестируемым антибиотикам показан на рис. 2.

## ЛИТЕРАТУРА

1. Stamm W.E., Norrby S.R. Urinary tract infections: disease panorama and challenges. J Infect Dis 2001; 183 (Suppl 1): 1–4.
2. Hooton T.M. Uncomplicated urinary tract infection. New Engl J. Med 2012; 366: 1028–1037.

## Заключение

Фенотипический анализ спектра антибиотикочувствительности уропатогенных *E.coli* ( $n=106$ ), выделенных от пациентов детского возраста с врождёнными аномалиями развития мочевыводящих путей, свидетельствует о высоком проценте встречаемости полирезистентных штаммов UPEC (49%) и имипенеморезистентных штаммов UPEC (20,75%) среди детей всех возрастных групп. В связи с этим, будущие исследования должны быть направлены на генотипирование резистентных, полирезистентных и имипенеморезистентных штаммов UPEC, что позволит вычленив в популяции уропатогенных *E.coli* клонотипы, обладающие профилями устойчивости к определённым антибактериальным препаратам.

Работа выполнена в рамках инициативной темы № 031620-0-000 «Антибиотикорезистентные клонотипы уропатогенных *Escherichia coli* как мишень для изучения антибактериального действия экстрацеллюлярных продуктов жизнедеятельности бактерий и грибов».

Публикация подготовлена при поддержке Программы РУДН «5-100».

3. Nielubowicz G.R., Mobley H.L. Host-pathogen interactions in urinary tract infection. Nature Rev Urol 2010; 7: 430–441.
4. Levison M.E., Kaye D. Treatment of complicated urinary tract infections with an emphasis on drug-resistant Gram-negative uropathogens Curr Infect Dis Rep 2013; 15: 109–115.

5. *Lichtenberger P., Hooton T.M.* Complicated urinary tract infections. *Curr Infect Dis Rep* 2008; 10: 499–504.
6. *Raeispour M., Ranjbar R.* Antibiotic resistance, virulence factors and genotyping of Uropathogenic *Escherichia coli* strains. *Antimicrob Resist Infect Control* 2018 Oct; 3(7): 118. doi: 10.1186/s13756-018-0411-4.
7. *Spaulding C.N., Kau A.L., Klein R.D., Janetka J.W., Gordon J.I., Hultgren S.J.* Small-molecule inhibitors against type 1 pili selectively target uropathogenic *E.coli* in the gut and bladder. Published Online 1 Apr 2017 Abstract Number: 939.9
8. *Yun K.W., Kim H.Y., Park H.K., Kim W., Lim I.S.* Virulence factors of uropathogenic *Escherichia coli* of urinary tract infections and asymptomatic bacteriuria in children. *Microbiol Immunol Infect* 2014; 47 (6): 455–461.
9. *Tarchouna M., Ferjani A., Ben-Selma W., Boukadida J.* Distribution of uropathogenic virulence genes in *Escherichia coli* isolated from patients with urinary tract infection. *Infect Dis* 2013; 17 (6): 3.
10. *Lee J.H., Subhadra B., Son Y.J., Kim D.H., Park H.S., Kim J.M. et al.* Phylogenetic group distributions, virulence factors and antimicrobial resistance properties of uropathogenic *Escherichia coli* strains isolated from patients with urinary tract infections in South Korea. *Lett Appl Microbiol* 2016; 62 (1): 84–90.
11. *Johnson J.R., Kuskowsky M.A., O'Bryan, Maslow J.N.* Epidemiological correlates of virulence genotype and phylogenetic background among *Escherichia coli* blood isolates from adults with diverse-source bacteremia. *J Infect Dis* 2002; 185: 1439–1447.

#### СВЕДЕНИЯ ОБ АВТОРАХ:

*Суадкиа С.* — ассистент, кафедра микробиологии и вирусологии, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва

*Подопригора И. В.* — к. м. н., зав.кафедрой микробиологии и вирусологии, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва

*Яшина Н. В.* — к. б. н., доцент, кафедра микробиологии и вирусологии, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва

*Саруханова Л. Е.* — к. б. н., доцент, кафедра микробиологии и вирусологии, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва

*Кравцов Э. Г.* — к. б. н., доцент, кафедра микробиологии и вирусологии, Медицинский институт, Российский университет дружбы народов, Москва