

# Распространённость БЛРС типов TEM, SHV, CTX-M среди возбудителей хронического пиелонефрита

А. В. БИЛЬЧЕНКО, О. И. ЧУБ

Харьковская медицинская академия последипломного образования, Харьков, Украина

## Prevalence of Types TEM, SHV and CTX-M $\beta$ LES Among Pathogens of Chronic Pyelonephritis

A. V. BILCHENKO, O. I. CHUB

Kharkov Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkov, Ukraine

В последние годы возрастает резистентность к  $\beta$ -лактамам антибиотикам, связанная с выработкой плазмид-индуцированных  $\beta$ -лактамаз, основных возбудителей инфекций мочевой системы. Поэтому целью данного исследования было изучить наличие плазмидных  $\beta$ -лактамаз типов TEM, SHV, и CTX-M среди уропатогенов. Из 115 выделенных штаммов 30 (26,1%) были продуцентами  $\beta$ -лактамаз. Гены *blaTEM* и *blaCTX-M* были самыми распространёнными выделенными генами. Наибольшее количество резистентных штаммов было к ампициллину (73,3%), ципрофлоксацину (46,7%), левофлоксацину (43,3%) и гентамицину (40%). Уровни чувствительности штаммов, продуцирующих бета-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), были следующими: меропенем (96,7%), нитроксалин (83,3%), фосфомоцин (70%), амикацин (70%). Наличие генов устойчивости среди уропатогенов свидетельствует о высокой скорости распространения между ними с помощью плазмид. Поэтому обнаружение и выделение плазмид-индуцированных  $\beta$ -лактамаз важно для оптимального выбора антибиотика для эмпирической терапии.

*Ключевые слова:* инфекции мочевой системы, возбудители, бета-лактамазы расширенного спектра.

There is lately observed an increase in the resistance of the main pathogens of urologic infection to  $\beta$ -lactam antibiotics due to production of plasmid-induced  $\beta$ -lactamases. The aim of the study was to reveal types TEM, SHV and CTX-M plasmid  $\beta$ -lactamases among uropathogens. Out of 115 isolates, 30 (26.1%) strains produced  $\beta$ -lactamases. Genes *blaTEM* and *blaCTX-M* were the most frequent. Most of the isolates were resistant to ampicillin (73.3%), ciprofloxacin (46.7%), levofloxacin (43.3%), gentamicin (40%). The  $\beta$ LES-producing strains were susceptible to meropenem (96.7%), nitroxolin (83.3%), phosphomycin (70%), amikacin (70%). The presence of the resistance genes in the uropathogens was evident of a high rate of their distribution among them by the plasmids. Detection of the plasmid-induced  $\beta$ -lactamases is important for the optimal choice of the antibiotic for empirical therapy.

**Key words:** urologic infection, pathogens,  $\beta$ LES.

## Введение

Инфекции мочевой системы (ИМС) по распространённости занимают 2-е место после инфекций верхних дыхательных путей [1, 2]. По статистическим данным, хронический пиелонефрит (ХП) в структуре причин хронической почечной недостаточности (ХПН) занимает 2-е место [3, 4]. В США на долю ИМС приходится более 100000 госпитализаций ежегодно, чаще всего по поводу пиелонефрита [5].

Препаратами эмпирической терапии ХП являются  $\beta$ -лактамы и фторхинолоны, но увеличивающаяся резистентность к ним уропатогенов приводит к ограничению терапевтического выбора [5, 6]. Увеличение числа резистентных штаммов микроорганизмов в первую очередь обусловлено продук-

цией  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) [7]. Последние закодированы генами, которые переносят большие плазмиды, происходящие из семейств TEM, SHV или CTX-M [6]. Большинство штаммов, продуцирующих эти ферменты, также проявляют ко-резистентность к триметоприму, фторхинолонам и аминогликозидам [8, 9].

Целью нашего исследования было изучить наличие плазмид-индуцированных БЛРС типов TEM, SHV и CTX-M среди уропатогенов, выделенных от госпитализированных больных с ХП.

## Материал и методы

**Бактериальные штаммы.** Из мочи обследованных больных было выделено 115 бактериальных патогенов. Микробиологические исследования проводились согласно действующим нормативным документам классическими бактериологическими методами [10].

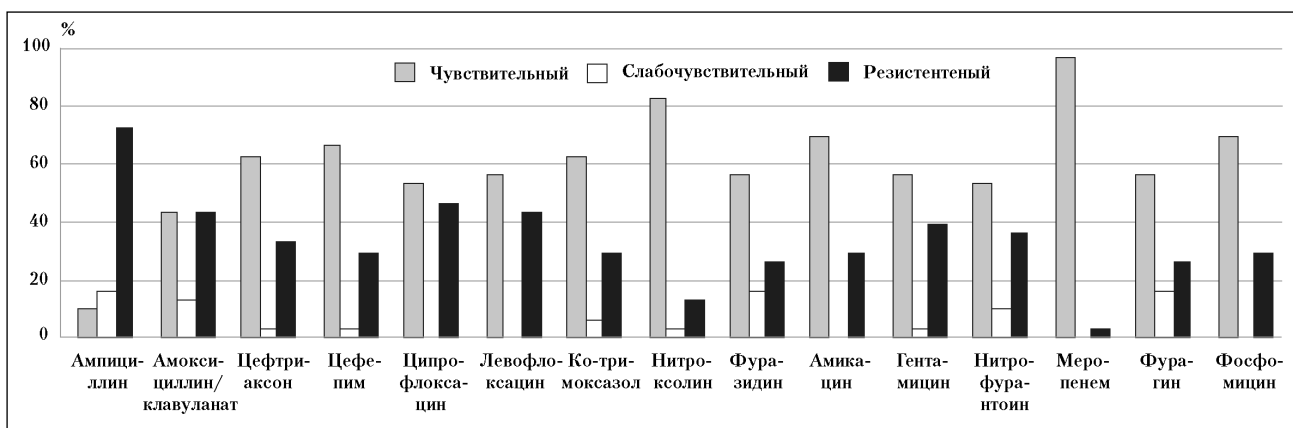
**Определение чувствительности к антибактериальным препаратам.** Определение чувствительности выделенных из мочи культур микроорганизмов к противомикробным препаратам проводили диско-диффузионным методом Bauer-Kirby на сре-

© А. В. Бильченко, О. И. Чуб, 2014

Адрес для корреспонденции: E-mail: o.chub@mail.ru

Таблица 1. Праймеры

Праймер	Последовательность	Размер
<i>blaTEM</i>	5'-ATG AGT ATT CAA CAT TTC CG 5'-CCA ATG CTT AAT CAG TGA GG	858 bp
<i>blaSHV</i>	5'-ATG CGT TAT ATT CGC CTG TG 5'-AGC GTT GCC AGT GCT CGA TC	862 bp
<i>blaCTX-M</i>	5'-SCS ATG TGC AGY ACC AGT AA 5'-ACC AGA AYV AGC GGB GC	585 bp



Распределение БЛРС-продуцирующих штаммов по степени чувствительности к изученным антибиотикам, %.

де Мюллера-Хинтон с использованием коммерческих дисков в соответствии с действующими нормативными документами [11]. Тестируемые антибиотики: ампициллин, амоксициллин/клавуланат, цефтриаксон, цефепим, ципрофлоксацин, левофлоксацин, нитроксилин, фурамаг, амикацин, гентамицин, нитрофурантоин, меропенем (ООО «Аспект», Киев, Украина), ко-тримоксазол, фурагин, фосфомицин (HiMedia Laboratories, Мумбаи, Индия).

**Детекция генов  $\beta$ -лактамаз.** Выделение ДНК для всех образцов проводили методом теплового шока (heat-shock technique) [12]. Генетические маркеры резистентности определяли методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) по стандартной схеме при помощи программируемого термоциклера «Терцик-2» фирмы ДНК-технология [13]. Используемые праймеры представлены в табл. 1.

## Результаты исследований

Было обследовано 105 пациентов, которые находились на лечении в нефрологическом отделении Харьковской городской клинической больницы скорой и неотложной медицинской помощи им. проф. О. И. Мещанинова. Среди них — 14 (13,3%) мужчин и 91 (86,7%) женщина. У 84 (80%) пациентов из мочи выделяли: 81 (70,4%) штамм грамотрицательных бактерий и 34 (29,6%) — грамположи-

тельных микроорганизмов. Большинство штаммов ( $n=73$ ) было выделено от больных в возрастной категории 18—65 лет и только 42 патогена — от больных в возрасте старше 65 лет. *Escherichia coli* являлась самым распространенным выделенным уропатогеном (табл. 2).

Среди 115 выделенных штаммов 30 (26,1%) продуцировали БЛРС. Максимум генов  $\beta$ -лактамаз было выделено у *P.mirabilis* — 4 (50%), тогда как выявляемость БЛРС в штаммах *E.coli* составила 37,7%. Среди грамположительной флоры гены антибиотикорезистентности обнаружены у 11,8% выделенных бактерий. Самыми распространенными БЛРС были гены *blaTEM* и *blaCTX-M* с выявляемостью в 36,7% для каждого (табл. 3).

Проанализирована чувствительность выделенных возбудителей к 15 антибактериальным препаратам (рисунок). Наибольшую активность против БЛРС-продуцирующих микроорганизмов проявили: меропенем (96,7%), нитроксилин (83,3%) и фосфомицин (70%). К остальным антибиотикам уровни резистентности были следующими: к

Таблица 2. Распространённость выделенных уропатогенов в зависимости от пола и возраста

Уропатогены	Всего ( $n=115$ )	Мужчины ( $n=6$ )	Женщины ( $n=78$ )	$\leq 65$ лет ( $n=73$ )	$> 65$ лет ( $n=42$ )
<i>Escherichia coli</i>	53 (46,1%)	1 (1,2%)	52 (98,1%)	31 (60,4%)	22 (41,5%)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	9 (7,8%)	3 (33,3%)	6 (66,7%)	6 (66,7%)	3 (33,3%)
<i>Proteus mirabilis</i>	8 (6,9%)	0 (0,0)	8 (100%)	4 (50%)	4 (50%)
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	8 (6,9%)	2 (25%)	6 (75%)	8 (100%)	0 (0,0)
<i>Enterobacter cloacae</i>	1 (0,9%)	0 (0,0)	1 (100%)	0 (0,0)	1 (100%)
<i>Serratia</i> spp.	2 (1,7%)	1 (50%)	1 (50%)	0 (0,0)	2 (100%)
<i>Enterococcus</i> spp.	17 (14,8%)	2 (11,8%)	15 (88,2%)	12 (70,6%)	5 (29,4%)
<i>Staphylococcus</i> spp.	12 (10,4%)	0 (0,0)	12 (100%)	11 (91,7%)	1 (8,3%)
<i>Corynebacterium</i> sp.	4 (3,5%)	0 (0,0)	4 (100%)	0 (0,0)	4 (100%)
<i>Streptococcus</i> spp.	1 (0,9%)	0 (0,0)	1 (100%)	1 (100%)	0 (0,0)

**Таблица 3. Выявляемость генов БЛРС среди уропатогенов**

Уропатогены	Всего <i>n</i> (%)	БЛРС гены <i>n</i> (%)		
		<i>blaCTX-M</i>	<i>blaTEM</i>	<i>blaSHV</i>
<i>E.coli</i>	20 (37,7)	6 (30)	10 (50)	4 (20)
<i>K.pneumoniae</i>	2 (22,2)	2 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>P.mirabilis</i>	4 (50)	1 (25)	1 (25)	2 (50)
<i>Enterococcus</i> spp.	2 (11,8)	1 (50)	0 (0,0)	1 (50)
<i>Staphylococcus</i> spp.	1 (8,3)	1 (100)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Corynebacterium</i>	1 (25)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (100)

ампициллину — 73,3%, к ципрофлоксацину — 46,7%), к левофлоксацину — 43,3%, к гентамицину — 40% штаммов. 33,3% БЛРС-продуцирующих штаммов были резистентны к III генерации цефалоспоринов. Все БЛРС-позитивные уропатогены выделены от госпитализированных больных, приём  $\beta$ -лактамов в предшествующий год и случай недавней госпитализации отмечались у 17 (42,5%) пациентов в обоих случаях. Примечательно, что 12 (30%) БЛРС-продуцентов были выделены на 5-й день после начала антибиотикотерапии.

### Обсуждение результатов

Резистентность к  $\beta$ -лактамам, обусловленная плазмид-индуцированными БЛРС, возрастает, особенно в течение последних 20 лет. Согласно данным годового отчета Европейского общества по эпиднадзору за антимикробной резистентностью (EARS-Net) за 2013 год, распространённость БЛРС среди клинических штаммов *E.coli* и *K.pneumoniae*, резистентных к III генерации цефалоспоринов, варьирует от 85 до 100% [6]. В нашем исследовании выявляемость плазмид-индуцированных БЛРС составила 26,1%.

Мультирезистентность (MDR) является частой характеристикой БЛРС-продуцирующих микроорганизмов, так как, помимо устойчивости к  $\beta$ -лактам,

они проявляют ко-резистентность к триметоприму/сульфаметоксазолу, фторхинолонам и аминогликозидам [7, 14–16]. Согласно полученным нами данным, уровни ко-резистентности БЛРС-продуцирующих уропатогенов составили: к ципрофлоксацину — для 46,7% штаммов, к левофлоксацину — для 43,3%, к гентамицину — для 40%, к триметоприму/сульфаметоксазолу — для 30% штаммов.

Обнаружение и выделение плазмид-индуцированных  $\beta$ -лактамаз важно знать для выбора наиболее эффективного антибиотика для лечения. Меропенем, нитроксилин и фосфомицин проявили наибольшую ингибирующую активность в отношении 96,7, 83,3 и 70% штаммов соответственно.

$\beta$ -Лактамазы типов TEM и CTX-M — самые распространённые механизмы антибиотикорезистентности, в нашем исследовании они выявлялись с одинаковой частотой — в 36,7% случаев.

Поэтому строгое соблюдение рекомендаций по назначению и дозированию антибактериальных препаратов, идентификация БЛРС-продуцирующих бактерий необходимы для эпидемиологического изучения и инфекционного контроля в больницах, а также с целью предотвращения распространения мультирезистентности с помощью плазмид.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Твердой В.Е. Сравнительная эффективность антибактериальных препаратов фторхинолонового и  $\beta$ -лактаминового рядов в комплексной терапии больных хроническим пиелонефритом. Урология 2012; 4: 8–12.
2. Колесник М.О. Адаптированное клиническое руководство по лучшей диагностике, лечению и профилактике инфекций мочевой системы у женщин. Укр журн нефрол диализ 2012; 2: 34: 53–77.
3. Лопаткин Н.А. Урология: национальное руководство. 2009; 434–451.
4. Колесник Н.А. Национальный реестр больных хронической болезнью почек 2010. Киев: 2011; 10–22.
5. Grabe M. Guidelines on Urological Infections. European Association of Urology 2013.
6. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2013.
7. Gibold L. Four-year epidemiological study of extended-spectrum  $\beta$ -lactamase-producing Enterobacteriaceae in a French teaching hospital. Clin Microbiol Infect 2014 Jan; 20: 1: 20–26.
8. Rawat D. Extended-spectrum  $\beta$ -lactamases in gram negative bacteria. J Glob Infect Dis 2010 Sep; 2: 3: 263–274.
9. Dalhoff A. Global fluoroquinolone resistance epidemiology and implications for clinical use. Interdisciplinary Perspect Infect Dis 2012; ID 976273: 1–37.
10. Приказ № 535 «Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» МЗ СССР от 22.04.1985; 123.
11. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам: Приказ. [Введения 2007-04-05]. К.: Минздрав Украины, 2007; 78. (Нормативный документ Минздрава Украины. Указания, Приказ).
12. Sambrook J. Molecular cloning: a laboratory manual, Second Edition, Cold Spring Harbor Laboratory Press, Cold Spring Harbor, 1989.
13. Sundsfjord A. Genetic methods for detection of antimicrobial resistance. DAHL APMIS 2004; 112: 815–837.
14. Morrissey I. A Review of ten years of the study for monitoring antimicrobial resistance trends (SMART) from 2002 to 2011. Pharmaceuticals 2013; 6: 1335–1346.
15. Balode A. Results from the tigeicycline evaluation and surveillance trial (T.E.S.T.) 2004–2010. Int J Antimicrob Agents. 2013 Jun; 41: 6: 527–535.
16. Huh K. Continuous increase of the antimicrobial resistance among gram-negative pathogens causing bacteremia: a nationwide surveillance study by the Korean Network for Study on Infectious Diseases (KONSID). Diagn Microbiol Infect Dis 2013; 76: 4: 477–482.