

© Чуб О. І., Більченко О. В., 2016

УДК: 616.61 – 002.3 – 085.33 + 615.015.8

О. І. ЧУБ, О. В. БІЛЬЧЕНКО

## СТАН ПЛАЗМІД-ІНДУКОВАНОЇ АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ СЕРЕД ЗБУДНИКІВ ХРОНІЧНОГО ПІЄЛОНЕФРИТУ: ПОШИРЕНІСТЬ ГЕНІВ ТА ОСНОВНІ ФАКТОРИ РИЗИКУ

О. CHUB, O. BILCHENKO

### PLASMID-INDUCED ANTIBIOTIC RESISTANCE AMONG PATHOGENS OF CHRONIC PYELONEPHRITIS: PREVALENCE OF GENES AND MAJOR RISK FACTORS

Харківська медична академія післядипломної освіти

Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education

**Ключові слова:** хронічний пієлонефрит, антибактеріальні препарати, резистентність, фактори ризику, плазмиди.

**Keywords:** chronic pyelonephritis, antibiotics, resistance, risk factors, plasmids.

**Резюме.** Цель работы - изучение наличия плазмидных генов устойчивости среди уропатогенных штаммов, определение основных факторов риска выявления генов антибиотикорезистентности у больных хроническим пиелонефритом (ХП).

**Матеріали і методи.** Обследовано 105 пацієнтів ХП. Исследование плазмид-индуцированных генов резистентности проводили методом полимеразной цепной реакции. Определение факторов риска проводили методом анализа отношения шансов.

**Результаты.** Распространенность плазмид-индуцированных механизмов резистентности среди возбудителей ХП составляет 36,7%, преимущественно за счет β-лактамаз расширенного спектра (25%). К основным факторам риска выявления плазмидных генов резистентности у больных ХП относятся: возраст старше 55 лет (OR 3,05), артериальная гипертензия (OR 2,57), ХБП III ст. (OR 2,03), факт стационарного лечения (OR 2,02), длительность ХП больше 10 лет (OR 1,97), прием антибиотиков в текущем году (OR 1,41) и ХБП IV стадии (OR 1,1).

**Заключення.** Изучение и выделение плазмидных генов резистентности среди уропатогенных штаммов является необходимым с целью повышения эффективности эмпирической антибиотико-терапии (АБТ). Определение основных факторов риска выделения плазмидных механизмов резистентности позволит выделить основные категории больных ХП которым целесообразно включать в план обследования экспрессию плазмидных генов устойчивости.

**Summary.** The aim of the study is to determine the prevalence of plasmid-mediated resistance genes among uropathogens from hospitalized patients with chronic pyelonephritis.

**Methods.** A cross-sectional study of 105 patients with chronic pyelonephritis and different stage of chronic kidney disease, was carried. Screening for the presence of plasmid-mediated genes was performed by polymerase chain reaction. Determining the risk factors was performed by analysis of prevalence Odd-ratio.

**Results.** The prevalence of plasmid-mediated resistance mechanisms among uropathogens is 36.7%, mainly due to extended-spectrum β-lactamase (25%). The main factors related with appearance of plasmid-mediated resistance genes were age range above 55 years (OR 3.05), hypertension (OR 2.57), Chronic Kidney Disease stage III (OR 2,03) and IV (OR 1,1), in-patient treatment history (OR 2.02), duration of CP more than 10 years (OR 1,97), history of using antibiotics last year (OR 1,41).

**Conclusion.** Isolation and detection of plasmid-mediated resistance mechanisms among urinary strains are essential for the selection of the most effective antibiotic for the empiric treatment.

**ВСТУП.** Інфекції сечової системи (ІСС), є найбільш поширеною групою інфекційних захворювань, поступаючи лише респіраторним інфекціям [5, 11]. Згідно даних Національного реєстру хворих на хронічну хворобу нирок (ХХН) в Україні,

хронічний пієлонефрит (ХП) посідає перше місце (67,3%) серед причин ХХН за 2013 рік [1]. «Емпірична» антибіотико-терапія (АБТ) продовжує залишатися основою лікування хворих з ІСС, зокрема ХП [3].

В останні роки знижується ефективність «емпіричної» АБТ [2], що відбувається внаслідок збільшення поширеності резистентності Грам-негативних уропатогенів в результаті горизонтального переносу генів між бактеріями за допомогою плазмід, відповідальних за одночасну резистентність до великої кількості антибіотиків

Чуб Ольга Ігорівна  
o.chub@mail.ru

[6]. Згідно даних Всесвітньої організації охорони здоров'я (ВООЗ) за 2014 рік, поширеність плазмідних β-лактамаз в деяких країнах досягає 50% [8]. В Європі, товариство з епіднадзора за антимікробною резистентністю EARS-Net за 2013 рік звітує о 85-100% наявності βЛРС серед клінічних штамів *E. coli* та *K.pneumoniae*, резистентних до 3-ї генерації цефалоспоринів [7]. Проте в Україні немає даних щодо наявності плазмідних механізмів резистентності серед уропатогенних штамів. Крім того, невизначені основні фактори ризику виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП, дослідження яких дозволить відокремити основні категорії пацієнтів, яким в план обстеження доцільно включати визначення експресії плазмідних генів резистентності.

**МЕТОЮ** нашого дослідження було вивчення наявності плазмід-індукованих механізмів стійкості серед уропатогенних штамів та визначення основних факторів ризику виявлення генів антибіотикорезистентності у хворих на хронічний пієлонефрит.

**МАТЕРІАЛ ТА МЕТОДИ.** Було обстежено 105 хворих на ХП: 91 (86,7 %) жінка і 14 (13,3 %) чоловіків, середній вік склав 56,9±1,7 років. Верифікація діагнозу ХП проводилася згідно діючих клінічних рекомендацій [3]. Серед обстежених, у 21 (20%) хворих на ХП було діагностовано I стадію ХХН, у 28 (26,7%) – II стадію, III стадію ХХН мали 27 (25,7%) пацієнтів, IV – 29 (27,6%) осіб. Стадію ХХН визначали по рівню швидкості клубочкової фільтра-

ції (ШКФ) за формулою СКД-ЕРІ (KDIGO 2012) [4]. Дослідження плазмід-індукованих механізмів резистентності проводили методом полімеразної ланцюжкової реакції (ПЛР). Вивчали експресію найбільш поширених генів: β-лактамази розширеного спектру дії (βЛРС) типів blaTEM, blaSHV, blaCTX-M; гени резистентності до фторхінолонів – протеїни QnrA, ефлюкс насос QepA та аміноглікозид-ацетилтрансферазу AAC(6')-Ib-cr [12]. Визначення факторів ризику проводили методом аналізу відношення шансів розподілу/виявлення (ОШ).

**РЕЗУЛЬТАТИ ДОСЛІДЖЕННЯ.** Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності серед збудників ХП становило 36,7% (44/120 - зі 120 виділених збудників 44 патогена мають плазмідні гени): 30 (25%) β-лактамаз розширеного спектру та 14 (11,7%) – генів стійкості до фторхінолонів. Серед 30 виявлених βЛРС було 11 (25%) генів blaTEM, 11 (25%) – blaCTX-M та 8 (18,2%) – blaSHV. Серед генів резистентності до фторхінолонів було виявлено 4 (9,1%) протеїна QnrA, 3 (6,8%) – аміноглікозид-ацетилтрансферази AAC(6')-Ib-cr, та 7 (15,9%) генів QepA (рис. 1).

При подальшому аналізі виявлених генів встановлено, що з 105 обстежених хворих, у 31 (29,5%) особи збудником ХП були штами з плазмідними механізмами резистентності: у 20 (19%) пацієнтів за рахунок βЛРС, у 9 (9%) - склали гени стійкості до фторхінолонів та у 2 (2%) пацієнтів виявилася комбінація зазначених генів (рис. 2).

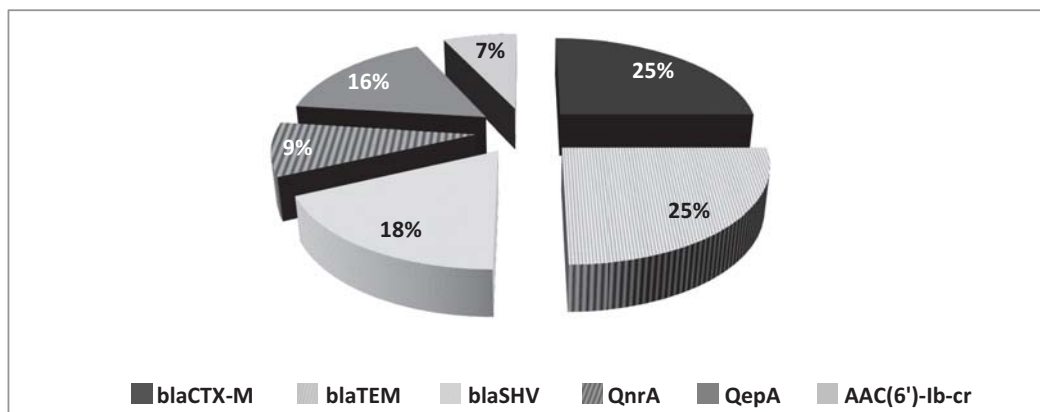


Рис. 1. Типи виявлених плазмідних генів резистентності серед збудників ХП.

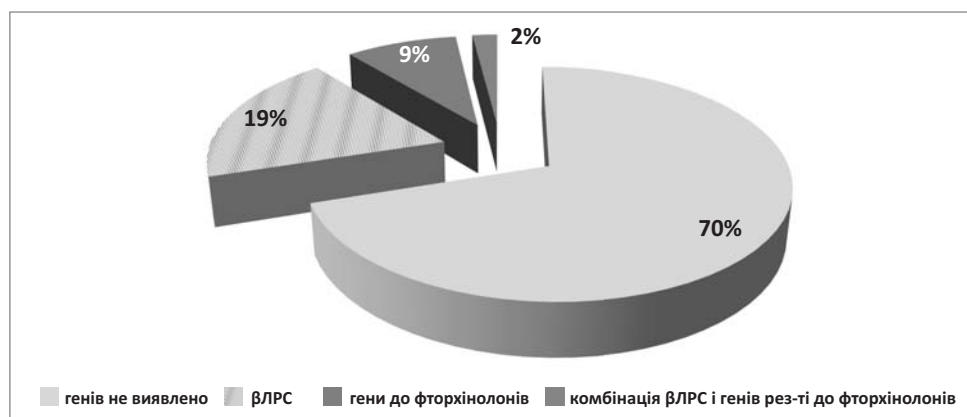


Рис. 2. Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП.

Отже, виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності серед збудників ХП становить 36,7%. Найбільш поширеними генами визначені βЛРС (25%), розповсюдження генів резистентності до фторхінолонів складає 11,7%. Домінуючими генами серед βЛРС визначені типи blaTEM і blaCTX-M; серед генів резистентності до фторхінолонів – еффлюкс насос (efflux pump) QepA. Серед обстежених хворих, у 31 (29,5%) особи збудником ХП були штами з плазмідними механізмами резистентності.

Визначені основні фактори, що пов'язані з наявністю плазмід-індукованих механізмів антибіотикорезистентності у хворих на ХП, з метою відокремлення основних категорій хворих, яким доцільно в план обстеження включати дослідження експресії плазмід-індукованих механізмів резистентності. Встановлено, що у пацієнтів, які страждають ХП на тлі ХХН III та IV стадій; або із супутніми: артеріальною гіпертензією; наявністю епізодів перенесеного простатиту або циститу, можливість колонізації сечової системи бактері-

ями з плазмідними генами резистентності достовірно вище. Крім того, визначені фактори ризику, що достовірно пов'язані з виявленням плазмід-індукованих механізмів стійкості: вік 55 років і вище (53%,  $p \leq 0,05$ ), факт стаціонарного лікування упродовж останнього року (70,8%,  $p \leq 0,05$ ), прийом β-лактамів та фторхінолонів з різних причин у поточному році (44,7%,  $p \leq 0,05$ ). Враховуючи все вищезазначене, з метою визначення ступеня впливу факторів на виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП проведений аналіз відношення шансів (prevalence odd-ratio). Встановлені наступні фактори: вік старше 55 років (OR 3,05), артеріальна гіпертензія (OR 2,57), ХХН III ст. (OR 2,03), факт стаціонарного лікування у поточному році (OR 2,02), тривалість хронічного пієлонефриту більше 10 років (OR 1,97), прийом антибіотиків упродовж останнього року з різних причин (OR 1,41) та ХХН IV стадії (OR 1,1). Усі вищеперераховані фактори були достовірно значимі з коефіцієнтом достовірності  $p < 0,05$ , таблиця 1.

Таблиця 1

Фактори пов'язані з наявністю генів резистентності у хворих на ХП

Фактори	Відношення шансів (prevalence odd-ratio)	Довірчий інтервал
Вік старше 55 років	3,05	(1.12, 8.32)
АГ	2,57	(0.94, 7.04)
ХХН III ст.	2,03	(0.80, 5.10)
Факт стац. лікування	2,02	(0.40, 2.60)
Тривалість ХП більше 10 років	1,97	(0.78, 5.23)
ХХН IV ст.	1,1	(0.80, 4.83)
Прийом АБП упродовж останнього року	1,41	(0.60, 3.33)

**ОБГОВОРЕННЯ.** В нашому дослідженні визначено поширеність плазмід-індукованих генів резистентності серед збудників ХП, що становить 36,7%: 25% складають βЛРС, 11,7% – гени стійкості до фторхінолонів. Серед обстежених пацієнтів, у 29,5% осіб збудником ХП були штами з плазмідними механізмами резистентності: у 19% пацієнтів за рахунок βЛРС, 9% - склали гени стійкості до фторхінолонів та у 2% пацієнтів виявилася комбінація зазначених генів. Таким чином, β-лактамази розширеного спектру визначені домінуючими генами антибіотикорезистентності. Згідно опублікованих міжнародних звітів по вивченню та контролю за антибіотикорезистентністю, поширеність останньої щорічно зростає переважно за рахунок плазмідних генів. Так, Європейська організація EARS-Net звітує о 85-100% наявності плазмідних βЛРС серед клінічних штамів *E. coli* та *K.pneumoniae*, резистентних до 3-ї генерації цефалоспоринов [7]. Згідно даних ВООЗ, поширеність плазмідних βЛРС в деяких країнах досягла 50% станом на 2014 рік [8]. Таким чином, відсоток резистентних уропатогенних

штамів у світі дуже високий, що підтверджує необхідність ретельного дослідження та пильної уваги за антибіотикорезистентністю у зв'язку зі швидким поширенням генів стійкості за допомогою плазмід.

Основні фактори, що були достовірно пов'язані з виявленням плазмід-індукованих механізмів резистентності серед збудників ХП: вік старше 55 років (OR 3,05), АГ (OR 2,57), ХХН III (OR 2,03) та IV стадій (OR 1,1); факт стаціонарного лікування упродовж останнього року (OR 2,02), тривалість ХП більше 10 років (OR 1,97), прийом β-лактамів та фторхінолонів з різних причин у поточному році (OR 1,41). Тому, в план обстеження пацієнтів із наявністю факторів ризику доцільно включати дослідження плазмід-індукованих механізмів резистентності для вибору тактики емпіричної АБТ.

Отримані нами результати узгоджуються з даними Lee CH. et al., які теж виявили достовірний вплив випадку не давньої госпіталізації (95%,  $p \leq 0,001$ ), лікування в попередні 3 місяці цефалоспоринами, пеніцилінами або фторхінолонами та

тривалості ХП більш 10 років, на колонізацію сечової системи бактеріями з плазмідними генами стійкості [9, 10].

Щодо вікових відмінностей, в нашому дослідженні виявлено віковий діапазон старше 55 років, коли колонізація сечової системи резистентними бактеріями достовірно вище, однак Valenza G. et al. та Kang C.I. et al. демонструють вік 65 років і вище [9, 13]. Крім того, ми встановили достовірний вплив артеріальної гіпертензії на виявлення плазмідних генів резистентності серед пацієнтів із ХП. Тоді як опублікованих даних щодо цього факту в світовій літературі нема.

Таким чином, в нашому дослідженні було уточнено віковий діапазон (старше 55 років), підтверджені дані щодо впливу факту стаціонарного лікування та прийому АБП у поточному році, та вперше встановлений вплив АГ та різних стадій ХХН на виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності серед збудників ХП.

#### ВИСНОВКИ:

1. Поширеність плазмід-індукованих механізмів резистентності серед збудників ХП становить 36,7%, переважно за рахунок ЛРС (25%).
2. У 29,5% хворих збудником ХП визначені штами з плазмідними механізмами резистентності, серед яких у 2% осіб – в штаммах виявлена комбінація βЛРС та генів стійкості до фторхінолонів.
3. Факторами ризику визначення плазмідних генів стійкості у хворих на ХП є: вік старше 55 років, наявність АГ, ХХН III та IV стадій, факт стаціонарного лікування та прийому АБП у поточному році, тривалість ХП більше 10 років.

#### ЛІТЕРАТУРА:

1. Козлюк Н. І. Національний реєстр хворих на хронічну хворобу нирок: 2013 рік / Н. І. Козлюк [та ін.]; Академія медичних наук України, Міністерство охорони здоров'я України, Державна установа «Інститут нефрології АМН України»; гол. ред. М. О. Колесник. – К., 2015. – 202 с.
2. Колесник М.О. Етіологічний спектр та десятирічний патерн антибактеріальної резистентності збудників інфекції сечової системи / М.О. Колесник, Н.М. Степанова, В.Т. Кругліков // Український журнал нефрології та діалізу. – 2016. - №1(49). – С. 32-41.
3. Колесник М.О. Адаптована клінічна настанова з кращої практики діагностики, лікування та профілактики інфекцій сечової системи / М.О. Колесник, Н.М. Степанова, Л.О. Лебідь та ін. // Український журнал нефрології та діалізу. – 2012. – №2(34). – С.53-77.

4. Adeera Levin, Paul E Stevens, Garabed Eknayan, Norbert Lameire, Bertram L Kasiske [et al.] / KDIGO clinical practice guideline for evaluation and management of CKD // KDIGO Public Review Draft 2012.
5. Ana L. Flores-Mireles. Urinary tract infections: epidemiology, mechanisms of infection and treatment options / Ana L. Flores-Mireles, Jennifer N. Walker, Michael Caparon, Scott J. Hultgren // Nature Reviews Microbiology – 2015. – V. – 13. – P. 269-284.
6. Calhau V. Interplay between pathogenicity island carriage, resistance profile and plasmid acquisition in uropathogenic Escherichia coli / V. Calhau, S. Domingues, G. Ribeiro [et al.] // J Med Microbiol. – 2015. - №64(8). – P. 828-35.
7. 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.
8. Hellen Gelband. The state of the world's antibiotics 2015 / H. Gelband, M. Miller-Petrie, S. Pant [et al.] // Annual Report of World Health Organization. – 2015. – p. 79.
9. Kang C.I. Epidemiology and Risk Factors of Community Onset Infections Caused by Extended-Spectrum β-Lactamase Producing Escherichia coli Strains / C.I. Kang, Y.M. Wi, M.Y. Lee, [et al.] // J Clin Microbiol.- 2012.- №50(2).- P. 312-317.
10. Lee CH. Risk factors of community-onset urinary tract infections caused by plasmid-mediated AmpC β-lactamase-producing Enterobacteriaceae / Lee CH., Lee YT, Kung CH [et al.] // J Microbiol Immunol Infect. 2015. - №48(3):269-75.
11. M. Grabe. Guidelines on Urological Infections // M. Grabe (Chairman), M. C. Bishop, T. E. Bjerklund-Johansen [et al.] // European Association of Urology. – 2015.
12. Sundsfjord A. Genetic methods for detection of antimicrobial resistance / A. Sundsfjord // DAHLAPMIS. – 2005. - №12. – P. 815–837.
13. Valenza G. Extended-spectrum-β-lactamase-producing Escherichia coli as intestinal colonizers in the German community / Valenza G, Nickel S, Pfeifer Y [et al.] // Antimicrob Agents Chemother. – 2014. - №58(2). – P. 1228-30.

Надійшла до редакції 26.05.2016

Прийнята до друку 03.06.2016