

УДК 616.61-002.3-036.1-085.33+615.015.8

О.І. Чуб

Харківська медична академія післядипломної освіти

ОСНОВНІ ФАКТОРИ, ПОВ'ЯЗАНІ З НАЯВНІСТЮ ПЛАЗМІД-ІНДУКОВАНИХ МЕХАНІЗМІВ РЕЗИСТЕНТНОСТІ ДО АНТИБІОТИКІВ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПІЄЛОНЕФРИТ

Вивчено поширеність плазмід-індукованих механізмів антибіотикорезистентності, пов'язаних з виробленням генів стійкості типів TEM, SHV і CTX-M у хворих на хронічний пієлонефрит. Встановлено взаємозв'язки резистентності *in vitro* до антибіотиків з наявністю опосередкованих плазмідами β-лактамаз розширеного спектра. Визначено основні фактори ризику колонізації сечової системи мультирезистентними бактеріями

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

Хронічний пієлонефрит (ХП) – це інфекційно-індуковане вогнищеве ураження інтерстицію нирок з наступним пошкодженням усіх структур нефрону [1]. В Україні щорічно збільшується поширеність інфекцій сечової системи переважно за рахунок хронічного пієлонефриту, оскільки на його долю в структурі вказаної групи хвороб припадає більше 90 % випадків [2]. Незважаючи на велику кількість сучасних антибактеріальних препаратів, лікування хворих на ХП залишається досить складним завданням. Швидкий розвиток полімікробної резистентності, що пов'язують з безконтрольним, індукованим плазмідами трансфером генів стійкості між бактеріями, зміна спектра мікроорганізмів, що викликають запальний процес у сечовій системі, продукція багатьма з них β-лактамаз створюють труднощі при виборі антибактеріального препарату і роблять терапію малоефективною [3, 4]. Зниження ефективності антибактеріальної терапії може привести до рецидивуючого перебігу захворювання, необхідності застосування все більш нових класів антибіотиків і, зрештою, до розвитку і прогресуванню хронічної ниркової недостатності (ХНН). Тому пошук факторів, що пов'язані з наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на пієлонефрит, є актуальним і перспективним напрямом, що

може підвищити ефективність терапії антибактеріальними препаратами.

Метою дослідження було визначити основні фактори, пов'язані з наявністю індукованих плазмідами механізмів резистентності у хворих на хронічний пієлонефрит.

Матеріал і методи. Було обстежено 53 хворих з пієлонефритом. У 45 хворих (84,9 %) діагностована хронічна хвороба нирок (ХХН), хронічний пієлонефрит: 6 хворих (13,3 %) мали неускладнений перебіг, 39 хворих (86,6 %) – ускладнений, у фазі загострення; у 8 хворих (15 %) діагностовано гострий пієлонефрит (ГП), неускладнений. Серед обстежених було 47 жінок (88,7 %) і 6 чоловіків (11,3 %). Вік обстежених коливався від 18 до 86 років, у середньому складав $(44,13 \pm 19,46)$ року.

В діагностичному процесі використано наступні методи: оцінки стану хворого і верифікації діагнозу, що включають збір анамнезу, загальний огляд, лабораторні (клінічний аналіз крові і сечі, біохімічні маркери – С-реактивний білок, креатинін, сечовина) та інструментальні (УЗД сечової системи, екскреторна урографія). Ефективність антибіотикотерапії оцінювали в динаміці клінічних симптомів і лабораторних показників. Для оцінки резистентності *in vitro* проводився посів сечі на флору і чутливість до антибактеріальних пре-

© О.І. Чуб, 2013

паратів. Гени резистентності TEM, SHV і CTX-M, що кодують продукцію β-лактамаз розширеного спектра (β-ЛРС), вивчали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). ПЛР проводили за стандартною схемою за допомогою програмованого термоциклера «Терцик-2» фірми «ДНК-технология» (Росія).

Результати. Всього було виявлено 13 генів резистентності, що кодують вироблення βЛРС у 11 хворих (20,8 %): 9 генів blaTEM (63,6 %), 2 гена blaSHV (18,1 %), 2 гена blaCTX-M (18,1 %), причому ген blaCTX-M визначився в комбінації з геном blaTEM.

Згідно з даними численних досліджень, основними факторами ризику колонізації βЛРС-продукуючими штамми є чоловіча стать, вік 65 років і вище, тривалість захворювання більше 10 років, випадок недавньої госпіталізації, лікування в попередні 3 місяці β-лактамами антибіотиками, захворювання простати, деменція, діабет [5–7].

Взаємозв'язок статі і віку з наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності показано в табл. 1. β-ЛРС виділено у 1 чоловіка (16,7 %) і 10 жінок (21,2 %). При розподілі хворих на три вікові групи було виявлено, що β-ЛРС частіше зустрічаються в осіб похилого та старечого віку (44,4 %) і тільки 8,3 % – у осіб молодого віку.

Взаємозв'язок стадії ХХН з наявністю плазмід-індукованих механізмів резистент-

ності показаний в табл. 2. При вивченні генів резистентності у хворих з гострим пієлонефритом виявлено, що з 8 осіб у 1 хворого (12,5 %) є ген blaTEM, відповідальний за вироблення β-ЛРС, тоді як при вивченні осіб з ХХН було виявлено тенденцію до збільшення кількості β-ЛРС при прогресуванні ХНН. Так, у хворих ХХН I стадії з помірним зниженням ШКФ було виявлено 4 гени blaTEM (13,8 %), що відповідають за вироблення β-ЛРС. У хворих з ХХН II стадії гени резистентності були виявлені у 4 осіб (30,7 %): ген blaTEM – у 1 особи (7,7 %) і blaSHV – теж у одної, комбінація генів blaCTX-M і blaTEM – у 2 осіб (15,3 %). У трьох хворих з початковою (1 особа) і вираженою (2 особи) нирковою недостатністю (ХХН III і IV стадій) було виявлено 2 гени резистентності: ген blaTEM і ген blaSHV, що становить 66,6 % (табл. 2).

Взаємозв'язок тривалості захворювання з наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності показаний в табл. 3. У 8 хворих з тривалістю захворювання до трьох місяців (гострий процес) ген blaTEM був виявлений у однієї особи (12,5 %). З 26 хворих, що страждають на хронічний пієлонефрит протягом 5 років, гени антибіотикорезистентності виявлені у 3 осіб (11,6 %). Серед хворих, що страждають на хронічний пієлонефрит протягом 10 років (14 осіб), β-ЛРС було виявлено у 3 пацієнтів (21,4 %), серед

Таблиця 1. Наявність генів резистентності в залежності від статі і віку хворих, абс. ч. (%)

Ознака	blaTEM	blaSHV	Комбінація blaCTX-M і blaTEM	Всього
Стать				
чоловіки	0	1 (16,7)	0	1 (16,7)
жінки	7 (21,3)	1 (2,1)	2 (4,3)	10 (27,7)
Вік				
18–35	1 (8,3)	0	0	1 (8,3)
36–65	2 (20,0)	2 (10,0)	2 (1,0)	6 (40,0)
> 65	4 (44,4)	0	0	4 (44,4)

Таблиця 2. Наявність генів резистентності в залежності від стадії хронічної хвороби нирок, абс. ч. (%)

Стадія ХХН	Перебіг	blaTEM	blaSHV	Комбінація blaCTX-M і blaTEM	Всього
0	Неускладнений	1 (12,5)	0	0	1 (12,5)
	Ускладнений	0			
I	Неускладнений	0	0	0	4 (13,8)
	Ускладнений	4 (13,8)			
II		1 (7,7)	1 (7,7)	2 (15,3)	4 (30,7)
III і IV		1 (33,3)	1 (33,3)	0	2 (66,6)

яких ген *bla*TEM виявлений у 2 хворих (14,3 %), ген *bla*SHV – у одного (7,1 %). Хворі, які страждають на хронічний пієлонефрит протягом 20 років (5 осіб), мали чотири гени антибіотикорезистентності (80 %): ген *bla*TEM зустрівся у 2 хворих (40 %), ген *bla*SHV – у 1 хворого (20 %), комбінація генів *bla*CTX-M і *bla*TEM – також у 1 хворого (20 %), табл. 3.

Усім хворим проводилося бактеріологічне дослідження сечі з визначенням чутливості до

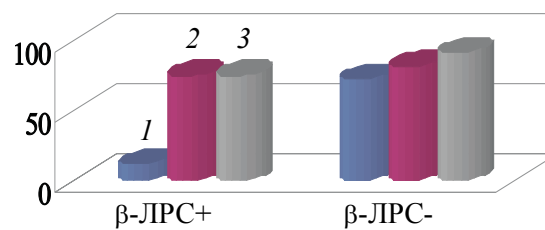


Рис. 1. Чутливість штамів *E. coli* до пеніцилінів (1), цефалоспоринів (2) та фторхінолонів (3)

Таблиця 3. Наявність генів резистентності в залежності від тривалості захворювання

Строк захворювання, років	<i>bla</i> TEM	<i>bla</i> SHV	Комбінація <i>bla</i> CTX-M і <i>bla</i> TEM	Всього
Вперше	1 (12,5)	0	0	1 (12,5)
5	2 (7,7)	0	1 (3,8)	3 (11,6)
10	2 (14,3)	1 (7,1)	0	3 (21,4)
20	2 (40,0)	1 (20,0)	1 (20,0)	4 (80,0)

антибактеріальних препаратів. Сімейство *Enterobacteriaceae* було домінуючим збудником і виявлено у 66 % хворих з пієлонефритом, грампозитивна флора (стафілококи, стрептококи) була виділена у 31,5 % хворих. Плазмід-індуковані гени антибіотикорезистентності виявилися тільки у штамів грамнегативної флори. Із 19 виділених штамів *E. coli* у 8 (42,1 %) були виявлені β-ЛРС. При визначенні чутливості *E. coli* до антибактеріальних препаратів було встановлено, що уропатогени, які містять β-ЛРС, мають знижену чутливість до β-лактамних антибіотиків і фторхінолонів порівняно зі штамми, в яких зазначені гени не визначилися. Так, до амінопеніцилінів були високочутливими тільки 12,5 % штамів, що містять β-ЛРС, порівняно з 72,7 % штамів, які не мають β-ЛРС; до цефалоспоринів мали високу чутливість 75 % штамів, що містять β-ЛРС, порівняно з 81,8 % штамів, які не мають β-ЛРС. Схожі результати були отримані і при визначенні чутливості до фторхінолонів: 75 % штамів уропатогенної *E. coli*, що містять β-ЛРС, були високочутливими до вказаних препаратів порівняно з 90,9 % штамів, які не мають β-ЛРС (рис. 1).

Всього було виділено два штами *P. mirabilis*, і обидва містили β-ЛРС (100 %): один штам мав ген *bla*SHV, другий – комбінацію генів *bla*CTX-M і *bla*TEM. При вивченні чутливості зазначених штамів виявлено, що *P. mirabilis*, який містить ген *bla*SHV, мав слабку чутливість до цефалоспоринів і фторхінолонів, а до пеніцилінів взагалі був нечут-

ливим, тоді як штам *P. mirabilis*, що має комбінацію генів *bla*CTX-M і *bla*TEM, навпаки, був високочутливим до цефалоспоринів і фторхінолонів і мав низьку чутливість до амінопеніцилінів. Таким чином, наявність у штамі двох і більше β-ЛРС призводить до зниження чутливості збудника до ще більшої кількості різних класів антибактеріальних засобів (рис. 2).

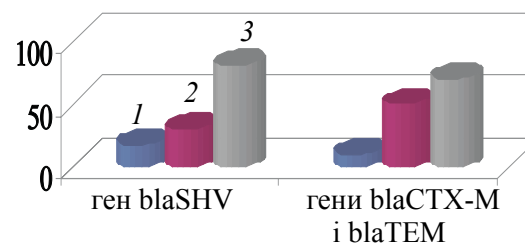


Рис. 2. Чутливість штамів *P. mirabilis* до пеніцилінів (1), цефалоспоринів (2) та фторхінолонів (3)

Ще один представник сімейства *Enterobacteriaceae* – штам *K. pneumoniae* був виділений тільки у одного хворого на хронічний пієлонефрит, однак у цьому штамі був виявлений ген *bla*SHV. Визначено, що *K. pneumoniae* взагалі не інгібується амінопеніцилінами, а до цефалоспоринів і фторхінолонів має низьку чутливість.

Таким чином, до основних факторів, що пов'язані з наявністю плазмід-індукованих β-ЛРС, можна віднести: чоловічу стать, вік старше 65 років, тривалість захворювання більше 10 років, порушення функції нирок,

лікування в попередні три місяці β-лактамами антибіотиками і фторхінолонами.

Висновки

Виявлено зниження чутливості найбільш поширених збудників хронічного пієлонефриту (*E. coli*, *K. pneumoniae* та ін.) до фторхінолонів і β-лактамних антибіотиків, котрі є засобами вибору емпіричної антибіотикотерапії. Зниження чутливості взаємопов'язане з наявністю індукованих плазмідями βЛРС типів TEM, SHV і CTX-M, виявлення яких в нашому дослідженні складає 21 %. Визначені основні фактори ризику колонізації сечової

системи β-ЛРС-продукуючими мікроорганізмами. При наявності у хворого з резистентністю до емпіричної антибактеріальної терапії факторів ризику колонізації мультирезистентними штамми переведення на інший антибактеріальний препарат слід проводити з урахуванням наявності опосередкованих плазмідями β-ЛРС. У такому разі препаратами вибору можуть стати β-лактамі антибіотики в комбінації з інгібіторами β-лактамаз (клавуланова кислота, сульбактам, тазобактам) або препарати, що впливають на інші структурні елементи бактерій (фторхінолони, аміноглікозиди та ін.).

Список літератури

1. Руководство по нефрологии / под ред. А.И. Дядька, Е.А. Дядык. – К.: Четверта хвиля, 2011. – 600 с.
2. Адаптована клінічна настанова з кращої практики діагностики, лікування та профілактики інфекцій сечової системи у жінок / М.О. Колесник, Н.М. Степанова, Л.О. Лебідь [та ін.] // Укр. журн. нефрології та діалізу. – 2012. – № 2 (34). – С. 53–77.
3. Колесник М.О. Етіологічний спектр інфекцій сечової системи / М.О. Колесник, Н.М. Степанова // Укр. журн. нефрології та діалізу. – 2007. – № 3 (15). – С. 16–29.
4. Колесник М.О. Спектр бактеріальної флори урогенітального тракту у хворих на хронічний пієлонефрит та її чутливість до антибіотиків / М.О. Колесник, А.В. Руденко // Укр. журн. нефрології та діалізу. – 2010. – № 4 (28). – С. 5–10.
5. 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.
6. Rawat D. Extended-spectrum β-lactamases in gram negative bacteria / D. Rawat, D. Nair // J. Glob. Infect. Dis. – 2010. – № 2 (3). – P. 263–274.
7. Risk factors for extended-spectrum β-lactamase positivity in uropathogenic *Escherichia coli* isolated from community-acquired urinary tract infections / O.K. Azap, H. Arslan, K. Serefhanoglu [et al.] // Clinical Microbiology and Infection. – 2010. – № 16 (2). – P. 147–151.

О.И. Чуб

ОСНОВНЫЕ ФАКТОРЫ, СВЯЗАННЫЕ С НАЛИЧИЕМ ПЛАЗМИД-ИНДУЦИРОВАННЫХ МЕХАНИЗМОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К АНТИБИОТИКАМ У БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ

Изучена распространённость плазмид-индуцированных механизмов антибиотикорезистентности, связанных с выработкой генов устойчивости типов TEM, SHV и CTX-M у больных хроническим пиелонефритом. Установлены взаимосвязи резистентности *in vitro* к антибиотикам с наличием опосредованных плазмидями β-лактамаз расширенного спектра. Определены основные факторы риска колонизации мочевой системы мультирезистентными бактериями.

Ключевые слова: хронический пиелонефрит, факторы риска, резистентность, антибактериальные препараты, плазмиды.

О.І. Чуб

MAIN FACTORS ASSOCIATED WITH THE PRESENCE OF PLASMID-MEDIATED RESISTANCE MECHANISMS IN PATIENTS WITH CHRONIC PYELONEPHRITIS

Data demonstrated the prevalence of plasmid-mediated resistance mechanisms associated with development of resistance genes types TEM, SHV and CTX-M in patients with chronic pyelonephritis. Were studied the relationship between plasmid-mediated extended spectrum β-lactamases and resistance *in vitro* to antibiotics. Were identified the main risk factors for colonization of the urinary system multidrug resistance bacteria.

Key words: chronic pyelonephritis, risk factors, resistance, antibiotics, plasmids.

Поступила 28.08.13