

УРОПАТОГЕННЫЕ *E. COLI*

Мовкаленко Е. В., Слизень В. В.

Белорусский государственный медицинский университет
Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии

Ключевые слова: уропатогенные *E.coli*, филогенетические группы *E.coli*, инфекции мочевыводящих путей.

Резюме: В статье приведены данные, характеризующие уровни и профиль резистентности к антибиотикам уропатогенных *E.coli* разных филогенетических групп, выделенных от амбулаторных пациентов с инфекциями мочевыводящих путей.

Resume: The data demonstrate profile and levels of AB resistance in UPEC of different phylogroups in outpatient in Minsk, Belarus.

Актуальность. Уропатогенные кишечные палочки (УПКП) – один из основных возбудителей инфекций мочевыводящих путей. Согласно мировым данным в 80-90% случаев УПКП являются этиологическим агентов внебольничных и 26% инфекций, связанных с оказанием медицинской помощи нозокомиальных инфекций. Частота выделения *E.coli* существенно не различается у пациентов с неосложненными (63,5%) и осложненными (62,1%) инфекциями [1,2].

Доля устойчивых к антибиотикам *E.coli*, включая множественно устойчивые, в структуре заболеваемости увеличивается, в том числе в европейских странах, что затрудняет проведение терапии, повышает риск развития тяжелых форм инфекций, а также бактериемии и сепсиса. Распространение резистентных форм *E.coli* – значимая проблема национальных систем здравоохранения во всем мире. Для адекватной эмпирической терапии ИМП необходимо учитывать чувствительность бактерий в конкретном регионе и чувствительность микрофлоры у определенного пациента (для подбора индивидуальных схем лечения) [3, 4].

Данные, полученные в многоцентровом исследовании ARESC, демонстрируют следующую структуру резистентности: устойчивость УПКП к фторхинолонам в России составляет 14,6%, в Германии – 3,7%, Австрии и Франции – 1,6%, Венгрии – 3,8% и Нидерландах 3,4% [5]. Высокая частота устойчивости к фторхинолонам обусловлена распространением генетического клона *E. coli* ST131, характеризующегося присутствием большого набора факторов вирулентности, фимбрий типа 1 аллельного варианта FimH30, продукцией цефотаксимазы CTX-M-15.

Филогенетическое типирование УПКП по генам *ChuA*, *ujaA* и фрагменту *TspE4.C2*. позволяет оценивать сходство штаммов, выделяемых из разных источников, оценивать вирулентность изолятов УПКП.

Цель: определить распространенность резистентности к антибиотикам среди уропатогенных *E.coli* из разных филогенетических групп.

Задачи: 1. Выявить профили антибиотикорезистентности УПКП, выделяемых от амбулаторных пациентов в Минске.

2. Определить групповую структуру в зависимости от характера экспрессии генов *ChuA*, *ujaA* и фрагмента *TspE4.C2*.

3. Изучить корреляцию между типом филогруппы УПКП и профилем антибиотикорезистентности.

Материал и методы. Были исследованы 48 культур уропатогенных *E.coli*, выделенных в Городском центре гигиены, эпидемиологии и общественного здоровья г. Минска от беременных, а также пациентов, находящихся на лечении в поликлиниках и ЛПО.

УПКП культивировали на среде Эндо или Левина при температуре 37 °С в течение 18-24 часов. Определение антибиотикорезистентности УПКП проводили методом разведений в агаре согласно стандарту EUCAST. Оценку резистентности проводили согласно минимальным пороговым концентрациям (МПК) EUCAST, 2018 (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters Version 8.0, valid from 2018-01-01).[6]

Определяли чувствительность к левомицетину (BioChemica, AppliChem, Германия), ампициллину (натриевая соль, BioChemica, AppliChem, Германия), амоксициллину с клавулановой кислотой 5x1 (Duchefa Biochemie, The Netherlands), тигециклину (Chem-impex Intl's Inc., USA), цефотаксиму (натриевая соль, Melford Laboratories Ltd), ципрофлоксацину (Acros Organics), цефтриаксону (динариевая соль полугептагидрат, Melford Laboratories Ltd), цефепиму (гидрохлорид моногидрат, Alfa Aesar GmbH, Германия), тетрациклину (гидрохлорид, BioChemica, AppliChem, Германия), налидиксовой кислоте (BioChemica, AppliChem, Германия), дорипенему (GLentham Life science, EU), цефуроксиму (GLentham Life science, EU), гентамицину (GLentham Life science, EU), levofloxacin (Chem-impex Intl's Inc., USA), азтреонаму (Chem-impex Intl's Inc., USA).

Принадлежность к филогенетическим группам осуществляли с помощью ПЦР. Экстракцию ДНК проводили температурно-седиментационным методом с использованием 5% раствора Chelex-100. Для определения генетических групп *E.coli* были использованы арбитражные праймеры chuA, уjaA и TSPE4.C2. Наличие продуктов амплификации выявляли методом электрофореза в агарозном геле. На основании встречаемости генетических локусов chuA, уjaA и TSPE4.C2, изоляты УПКП разделяли на филогенетические группы A0, A1, B1, B2, B2₃, D1, D2.

Полученные данные подвергали статистической обработке с использованием компьютерной программы Microsoft Office Excel 2010 и «Статистика 10», методами непараметрической статистики и кластеризации. Статистически достоверными считали результаты для которых рассчитанный уровень значимости был менее 0,05.

Результаты и их обсуждения. Выраженную активность в отношении *E.coli* демонстрировали цефалоспорины третьего и четвертого поколений, фторхинолоны. Частота устойчивых форм к ампициллину и тикарциллину/клавуланату была достаточно высокой - 85±5% и 38±7% соответственно, что не позволяет рассматривать эти препараты как препараты стартовой терапии.

В абсолютном числе случаев выделенные УПКП демонстрировали чувствительность к дорипенему при МИК 0,03 мкг/мл. Культуры *E.coli* проявляли высокую восприимчивость к следующим ингибиторам синтеза клеточной стенки: азтреонаму - 94±3%, цефепиму - 94±3% и цефотаксиму - 92±4%. МИК *E.coli* для азтреонама – 0,125 мкг/мл у 42±7% изолятов и 0,06 мкг/мл - 35±7%, цефепима

составила 0,06 мкг/мл у 38±7% и 0,03 мкг/мл у 21±6% штаммов, для цефотаксима 0,064 мкг/мл - 40±7%, 0,125 мкг/мл - 25±6%, 0,25 мкг/мл - 13±5% штаммов. УПКП проявили умеренную устойчивость к цефуроксиму - 66±7% изолятов. Выраженную активность в отношении УПКП проявил нитрофурантоин - 92±4%.

На рисунке 1 приведена частота встречаемости устойчивых, чувствительных и умеренно устойчивых УПКП.

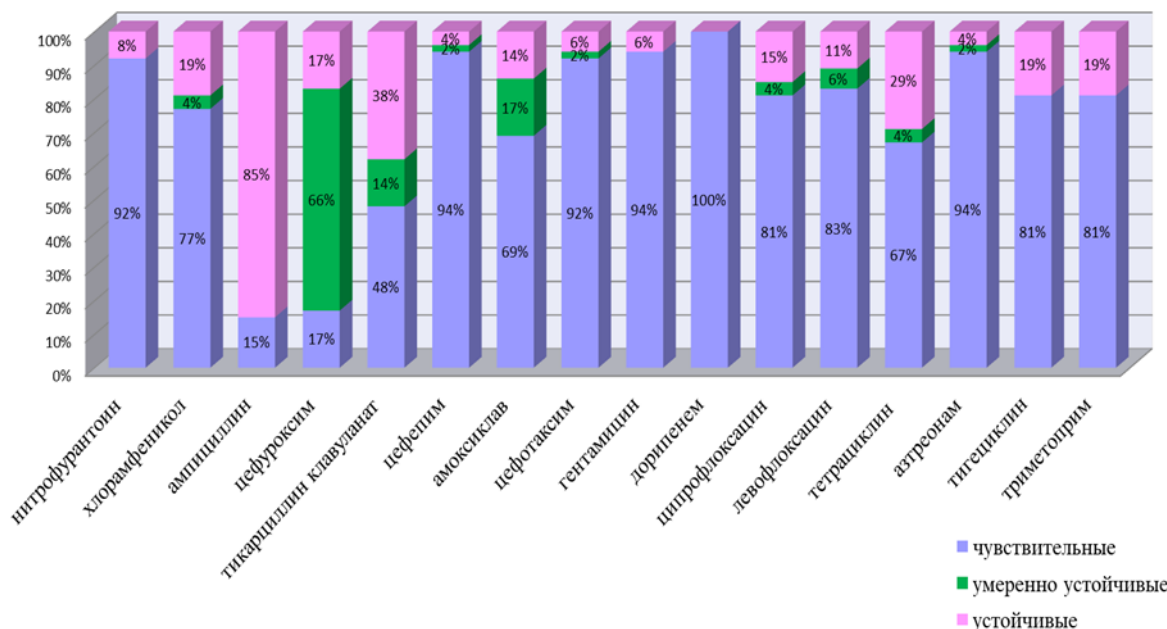


Рис. 1 – Распределение УПКП по степени устойчивости к противомикробным препаратам

В структуре подвергнутых генотипированию уропатогенных *E.coli* чаще встречались штаммы древней филогруппы B2 – 39%, на втором месте по частоте была D2 группа, к которой относилось 21% исследованных изолятов, к A1 группе относилось 16% культур, к A0 – 14%, к B1 – 10% (рисунок 2). [7,8]

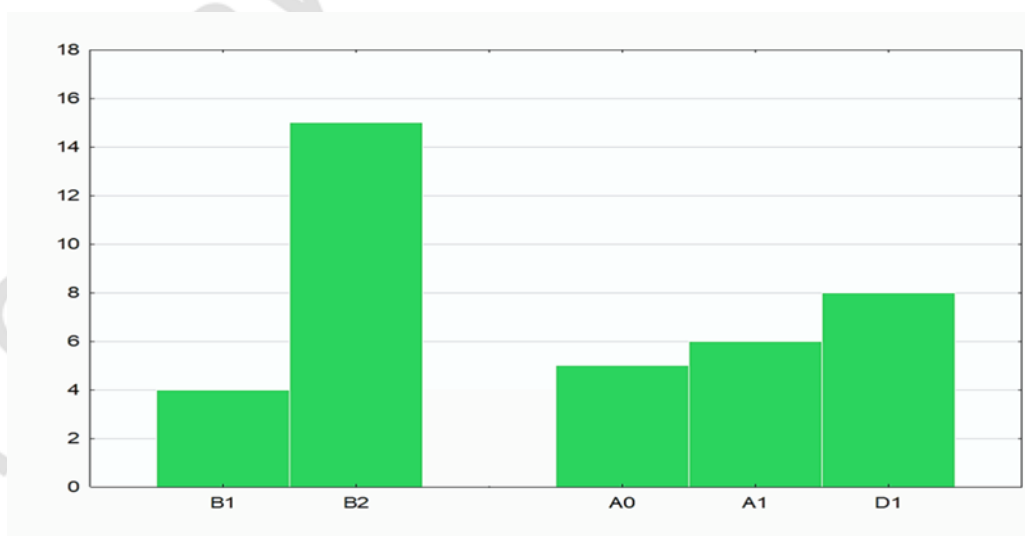


Рис. 2. – Структура филогенотипирования УПКП в г.Минске

Статистически значимо чаще штаммы D1 и B1 групп были чувствительны к тигециклину, чем представители групп A0 и A1. Представители A1 группы более резистентны к тигециклину по сравнению с A0-изолятами, аналогичная закономерность прослеживается и в отношении ингибитор-защищенного тикарциллина. В то же время группа A0 оказалась достоверно более устойчивой к тигециклину по сравнению с B2 группой.

Выводы:

1. Исходя из характера восприимчивости штаммов УПКП амбулаторных пациентов в городе Минске пациентов все еще возможно использование фторхинолонов, как препаратов первого выбора при осложненном течении, несмотря на растущую к ним резистентность в других странах. Терапия при неосложненных заболеваниях может быть инициирована амоксициллином/клавуланатом.

2. Большинство изолятов УПКП относилось к филогенетической группе B2, являющейся наиболее древней в филогенезе *E. coli*.

3. Малочисленные филогруппы демонстрируют более агрессивные паттерны антибактериальной устойчивости.

Литература

1. Лопаткин Н.А. / Антимикробная терапия и профилактика инфекций почек, мочевыводящих путей и мужских половых органов. Российские национальные рекомендации.// Н.А. Лопаткин.

- М. 2012. -64 с.

2. Выбор антимикробных препаратов при инфекции мочевыводящих путей./ Перепанова Т.С., Козлов Р.С., Дехнич А.В. и др. // Урология. 2012. - №2. С. 4–8.

3. Кульчавеня Е.В. / Лечение больных рефрактерными урогенитальными инфекциями // Е.В. Кульчавеня, А.А. Бреусов. - Урология 2011. - №1. С. 17–21.

4. Современное состояние антибиотикорезистентности основных возбудителей пиелонефрита/ Яровой С.К., Максимов В.А., Шимановский Н.Л. и др. // Урология. 2010. - №2. С. 21–27.

5. Gyssens I.C. All EU hard to the EU pumps: the Science Academies of Europe (EASAC) recommend strong support of research to tackle antibacterial resistance. // Clin. Microbiol. Infect. 2008. №14.P. 889–891.

6. M100-S25 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. – 2018, Vol. 35 No. 3 M100-S25 1.

7. Phenotypic Identification and Phylogenetic Characterization of Uropathogenic Escherichia coli in Symptomatic Pregnant Women With Urinary Tract Infections in South-Western Nigeria/ Aregbesola Oladipupo Abiodun et al. // International Journal of Biology , Volume 6; – 2014. – P.145

8. Escherichia coli molecular phylogeny using the incongruence length difference test / Molecular Biology and Evolution.