

Е. В. Мовкаленко

РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ УСТОЙЧИВОСТИ К АНТИБИОТИКАМ СРЕДИ ИЗОЛЯТОВ УРОПАТОГЕННЫХ *ESCHERICHIA COLI* ИЗ РАЗЛИЧ- НЫХ ФИЛОГЕНЕТИЧЕСКИХ ГРУПП

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. В. В. Слипень

Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии

Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

Резюме. В статье приведены данные, характеризующие удельный вес *E.coli* из различных филогенетических групп в этиологии уроинфекций, регистрируемых у амбулаторных пациентов, а также уровни и профиль их резистентности к антибиотикам.

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

Resume. The article contains data referring to the incidence of *E.coli* belonging to different phylogenetic groups in urinary tract infections aetiology and spread of resistance to antibiotics in *E.coli* from different phylogenetic groups.

Keywords: UPEC, antibiotic resistance, phylogenetic groups, UTI.

Актуальность. Инфекций мочевыводящих путей (ИМП) являются актуальной проблемой практического здравоохранения и медицинской науки, что связано с высокой частотой их встречаемости, угрожающими жизни осложнениями, значительными экономическими потерями, сложностями терапии в связи с распространением резистентных форм возбудителей. Уропатогенные кишечные палочки в 80% случаев являются причиной неосложненных ИМП. В Европе порядка 11,8% из них устойчивы к цефалоспорином 3-го поколения, а 22% - устойчивы хотя бы к одному фторхинолону. Генетический анализ *E.coli* свидетельствует об их неоднородности. В последнее время предложено деление уропатогенных *E.coli* (УПКП) на различные филогенетические группы, которые определяются по трем локусам ДНК: *ChuA*, *ujaA*, *TspE4.C2*.

Продукт транскрипции гена *ChuA* – белок, являющийся геминным рецептором повышающим способность палочек конкурировать за внутриклеточное ионное железо, тем самым, по-видимому, улучшая колонизацию клеток хозяина и агрессию в отношении них.

Функция продукта гена *ujaA*, как полагают, заключается в повышении устойчивости к кислой среде и перекисным соединениям. Белок участвует в формировании биопленок на мочевых катетерах.

Генетический фрагмент *TspE4.C2* входит в состав гена, кодирующего липазу-эстеразу.

Ранее в исследованиях было показано, что разные филогенетические группы *E.coli* занимают разные экологические ниши, а так же отличаются по спектру факторов вирулентности. В настоящее время накоплено мало данных о резистентности кишечной палочки в зависимости от филогенетических групп.

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

Материалы и методы исследования.

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)[1].

Определяли чувствительность к ампициллину (натриевая соль, BioChemica, AppliChem, Германия), амоксициллину с клавулановой кислотой 5x1 (Duchefa Biochemie, The Netherlands), цефотаксиму (натриевая соль, Melford Laboratories Ltd), цефтриаксону (динариевая соль полугептагидрат, Melford Laboratories Ltd), цефепиму (гидрохлорид моногидрат, Alfa Aesar GmbH, Германия), ципрофлоксацину (Acros Organics), тетрациклину (гидрохлорид, BioChemica, AppliChem, Германия), левомицетину (BioChemica, AppliChem, Германия), налидиксовой кислоте (BioChemica, AppliChem, Германия), дорипенему (GLentham Life science, EU), тигециклину (Chem-impex Intl's Inc., USA), 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 электрофоретического исследования. Образцы были разделены на филогенетические группы A0, A1, B1, B2₂, B2₃, D1, D2 на основании встречаемости у них генетических локусов chuA, уjaA и TSPE4.C2: группа **A1** – chuA -, уjaA +, TSPE4.C2 -; **A0** – chuA -, уjaA -, TSPE4.C2 -; **B1** – chuA -, уjaA +, TSPE4.C2 +; **B1** – chuA -, уjaA -, TSPE4.C2 +; **B2₂** – chuA +, уjaA +, TSPE4.C2 -; **B2₃** – chuA +, уjaA +, TSPE4.C2 +; **D1** – chuA +, уjaA -, TSPE4.C2 -; **D2** – chuA +, уjaA -, TSPE4.C2 +.

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.

Изученные нами уропатогенные *E.coli* чаще относились к B2 филогенетической группе – 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 1). [2, 3]

Нами был проведен кластерный анализ, который позволил получить иерархию групп (рисунок 2). Базальной группой штаммов *E.coli* является филогенетическая группа B2. Затем с течением времени и под влиянием эволюционных сил группа D1 появляется в качестве сестринской группы для остальных и, наконец, группы A1 является сестринской для узла B1/A0. [4]

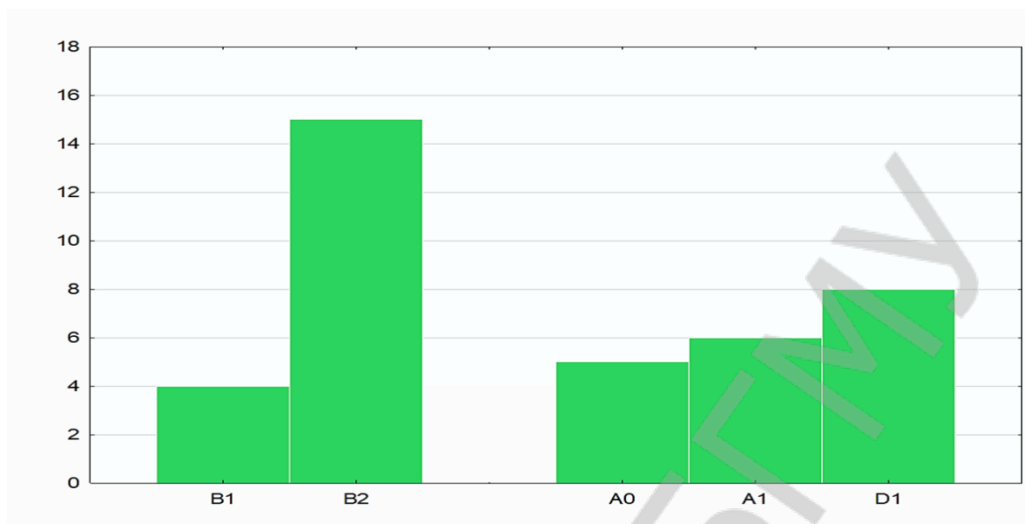


Рисунок 1 – Распределение штаммов E.coli по филогенетическим группам

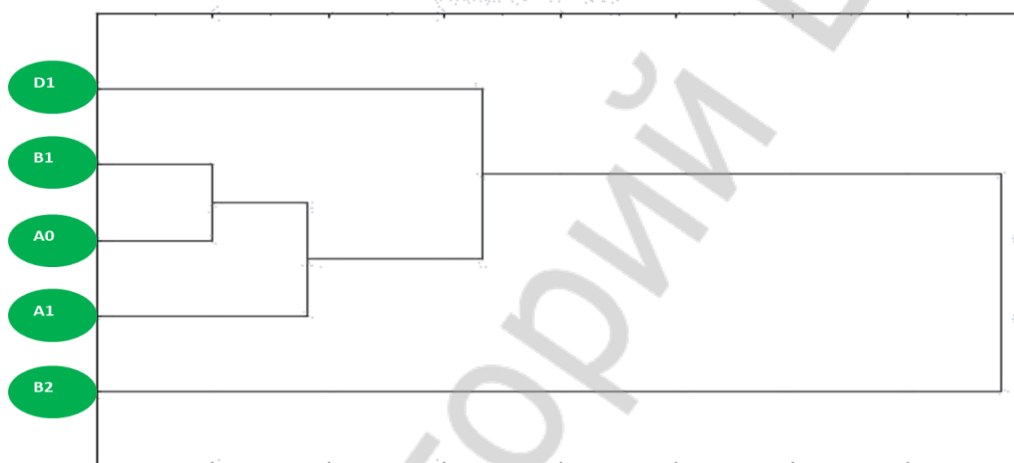


Рисунок 2 – Иерархия филогенетических групп E.coli

В группе B2 УПКП были устойчивы к амоксиклаву, ампициллину, гентамицину, левофлоксацину, нитрофурантоину, тетрациклину, тигециклину, тикарциллину, клавуланату, триметоприму и хлорамфениколу. Штаммы D1 группы резистентны к ампициллину, тетрациклину, тикарциллину, клавуланату, триметоприму и хлорамфениколу. Группа B1 устойчива к фторхинолонам, ампициллину и защищённым пенициллинам, а также к цефуроксиму. A1 группа демонстрирует невосприимчивость к ампициллину и защищённым пенициллинам, тетрациклину, тигециклину, триметоприму, хлорамфениколу, а также к цефуроксиму. Группа A0 имеет сходный с A1 спектр резистентности, однако также устойчива к фторхинолонам и является единственной группой, представители которой могут быть нечувствительны к гентамицину, (рисунок 3).

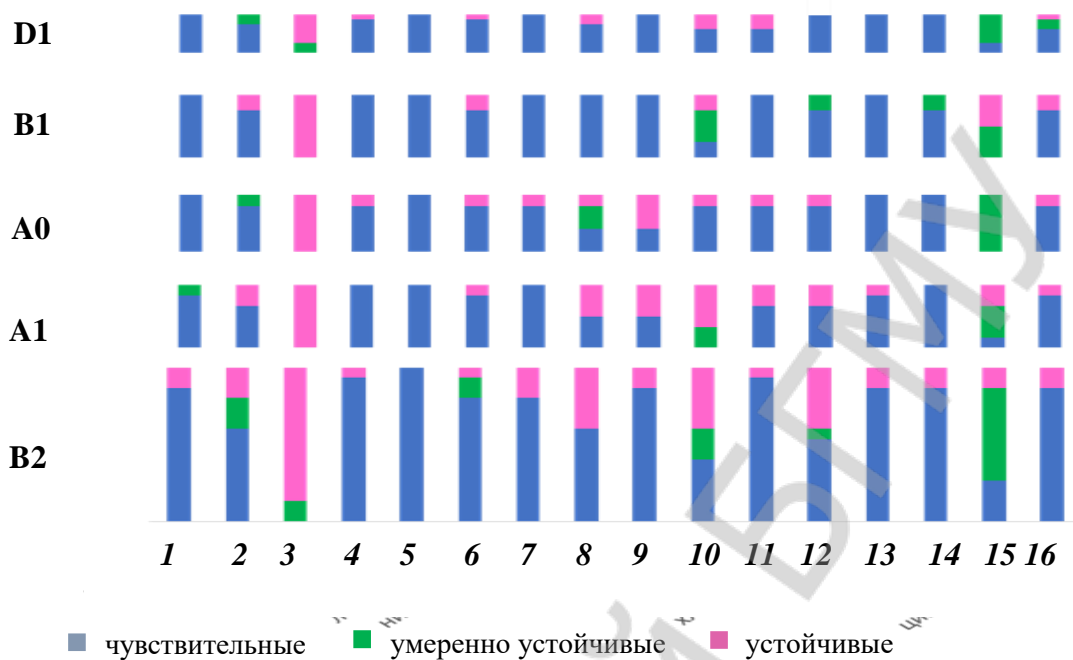


Рисунок 3 – Частота встречаемости резистентных форм среди УПКП из различных филогенетических групп.

Примечание:(1)азтреонам, (2) амоксилав, (3) ампициллин, (4) гентамицин, (5) дорипенем, (6) левофлоксацин, (7) нитрофурантоин, (8) тетрациклин, (9) тигециклин, (10) тикарциллин клавуланат, (11) приметоприм, (12) хлорамфеникол, (13) цефепим, (14) цефотаксим, (15) цефуроксим, (16) ципрофлоксацин

Достоверно чаще штаммы D1 и B1 групп были чаще чувствительными к тигециклину, чем представители групп A0 и A1. Сравнение групп A1 и A0 по чувствительности к тигециклину свидетельствует о том, что представители A1 группы более резистентны к нему. В то же время группа A0 оказалась достоверно более устойчивой к тигециклину по сравнению с B2 группой (рисунок 3). В группе A1 чувствительность к защищенному тикарциллину достоверно ниже чем у УПКП A0.

Выводы. Выраженную активность в отношении УПКП проявляли: нитрофурантоин, цефотаксим и цефепим, гентамицин, дорипенем, ципро-и левофлоксацин, а также азтреонам и тигециклин. УПКП проявляли высокие уровни устойчивости к ампициллину, тикарциллину-клавуланату и тетрациклину. Наиболее древняя в филогенетическом плане группа оказалась и наиболее распатроненной. Полученные нами данные отражают общемировую структуру. Штаммы из группы A1 достоверно чаще были резистентны к тигециклину и тикарциллину-клавуланату по сравнению с представителями A0-группы. Штаммы A1 является сравнительно молодой группой, при этом они демонстрируют большую резистентность к некоторым антибиотикам по сравнению с представителями других филогенетических групп, в том числе и наиболее вирулентной группой B2. Группа D1 представлена штаммами чувствительными к тигециклину, хлорамфениколу, азтреонаму, дорипенему, нитрофурантоину, цефепиму, цефотаксиму.

E. V. Movkalenko
**PREVALENCE OF ANTIBIOTICS RESISTANCE AT UPEC PHYLOGENIC
GROUPS**

Tutor: associate professor, Ph.D., V. V. Slizen
Department of medical microbiology, virology and immunology
Belarusian state medical University, Minsk

Літэратура

1. M100-S25 Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Fifth Informational Supplement. – 2018, Vol. 35 No. 3 M100-S25 1.
2. Escherichia coli phylogenetic group determination and its application in the identification of the major animal source of fecal contamination/ Camila Carlos, Mathias M Pires, Nancy C Stoppe et al. // BMC Microbiology. – 2010. – P. 67.
3. 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.
4. Escherichia coli molecular phylogeny using the incongruence length difference test / Molecular Biology and Evolution.