

Чуб О.І.^{1,2} , Тесленко С.В.³, Чуб О.В.⁴¹Медичний центр «Рішон», м. Харків, Україна²Харківська медична академія післядипломної освіти, м. Харків, Україна³ТОВ «Медлюкс», м. Харків, Україна⁴КНП «Міська клінічна лікарня № 19» ХМР, м. Харків, Україна

Виявлення плазмідних генів антибіотикорезистентності ESBLs та PMQR серед уропатогенів, виділених від пацієнтів з додіалізною ХХН та пієлонефритом

For citation: *Počki. 2022;11(1):10-18. doi: 10.22141/2307-1257.11.1.2022.354*

Резюме. Щорічно у світі реєструється близько 150 мільйонів випадків інфекцій сечової системи (ІСС), на лікування яких витрачається приблизно 6 мільярдів доларів на рік. У США реєструється близько 8 мільйонів амбулаторних візитів з приводу ІСС та понад 100 000 госпіталізацій щорічно, частіше за все з приводу пієлонефриту. Лікування ІСС лімітується формуванням стійкості до антибактеріальних препаратів. Згідно зі звітом CDC (Centers for Disease Control and Prevention), у США реєструється близько 2 млн інфекцій та 25 000 смертельних випадків унаслідок антибіотикорезистентних інфекцій. Згідно з даними рапорту Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 (аналіз даних за 2020 рік), більше ніж 54 % виділених штамів *E.coli* були резистентними принаймні до одного антибактеріального препарату (АБП). У 2020 році найбільший відсоток резистентності встановлено до амінопеніцилінів (54,6 %), фторхінолонів (23,8 %), цефалоспоринов 3-ї генерації (14,9 %) і аміноглікозидів (10,9 %). Резистентність до карбапенемів становила 0,2 %. 87,4 % штамів, резистентних до 3-ї генерації цефалоспоринов, були продуцентами ESBLs. Використання антибактеріальних препаратів широкого спектра дії є основним фактором ризику колонізації і поширення резистентних *Enterobacteriaceae*, включаючи *E.coli*. Значна поширеність ESBLs-продукуючих штамів, підвищення резистентності до основних груп АБП також призводять до збільшення використання карбапенемів, що, у свою чергу, може збільшити селекцію та сприяти поширенню резистентних до карбапенемів *Enterobacteriaceae*. У статті відображені дані щодо антибактеріальної чутливості виділених уропатогенів та їх взаємозв'язок з наявністю/відсутністю плазмідних генів ESBLs та PMQR.

Ключові слова: інфекції сечових шляхів; пієлонефрит; хронічна хвороба нирок; антибіотики; резистентність; плазміни; ESBLs; PMQR

Вступ

Інфекції сечової системи (ІСС) займають провідні позиції в структурі інфекційних захворювань, поступаючи лише респіраторним інфекціям. Щорічно у світі реєструється близько 150 мільйонів випадків ІСС, на лікування яких витрачається приблизно 6 мільярдів доларів на рік [1–4]. В Україні поширеність ІСС становить близько 40 %, серед них домінуючою ІСС є пієлонеф-

рит. У США реєструється близько 8 мільйонів амбулаторних візитів з приводу ІСС та понад 100 000 госпіталізацій щорічно, частіше за все з приводу пієлонефриту. Більше того, близько 15 % усіх амбулаторно призначених антибіотиків у США припадає на ІСС [4, 5].

Лікування ІСС лімітується формуванням стійкості до антибактеріальних препаратів (АБП) [6]. Згідно зі звітом CDC (Centers for Disease Control and

© 2022. The Authors. This is an open access article under the terms of the [Creative Commons Attribution 4.0 International License, CC BY](https://creativecommons.org/licenses/by/4.0/), which allows others to freely distribute the published article, with the obligatory reference to the authors of original works and original publication in this journal.

Для кореспонденції: Чуб Ольга Ігорівна, кандидат медичних наук, нефролог, доцент кафедри кардіології, терапії та нефрології, Харківська медична академія післядипломної освіти, вул. Амосова, 58, м. Харків, 61176, Україна; e-mail: redact@i.ua

For correspondence: Olga Chub, PhD, nephrologist, assistant Professor, Dep. of Cardiology, Therapy and Nephrology, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Amosova st., 58, Kharkiv, 61176, Ukraine; e-mail: redact@i.ua

Full list of authors information is available at the end of the article.

Prevention), у США реєструється близько 2 млн інфекцій та 25 000 смертельних випадків внаслідок антибіотикорезистентних інфекцій [7]. Згідно з даними рапорту Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 (аналіз даних за 2020 рік), більше ніж 54 % виділених штамів *E.coli* були резистентними принаймні до одного АБП. У 2020 році найбільший відсоток резистентності встановлено до амінопеніцилінів (54,6 %), фторхінолонів (23,8 %), 3-ї генерації цефалоспоринів (14,9 %) і аміноглікозидів (10,9 %). Резистентність до карбапенемів становила 0,2 % (рис. 1). 87,4 % штамів, резистентних до цефалоспоринів 3-ї генерації, були продуцентами β-лактамаз розширеного спектра дії (ESBLs) [8].

Резистентність до цефалоспоринів 3-ї генерації і карбапенемів загалом була вищою у *K.pneumoniae*, ніж у *E.coli*. У той час як у більшості країн резистентність до карбапенемів залишалася рідкою для штамів *E.coli*, 30 % країн рапортують про більше ніж 25 % резистентності у *K.pneumoniae*. Резистентність до фторхінолонів у штамів *E.coli* варіювала в діапазоні від 10 до 48,2 % поміж країнами; до цефалоспоринів 3-ї генерації — від 5,8 до 41,4 %; аміноглікозидів — від 5,5 до 34,2 % (рис. 2) [8].

В Україні, згідно з опублікованими даними рапорту Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022, штами *E.coli* мали такі рівні резистентності: до

амінопеніцилінів — 71,4 %, цефалоспоринів 3-ї генерації — 53,3 %, фторхінолонів — 41,9 %, аміноглікозидів — 35,7 %, карбапенемів — 4,4 %. Комбінована резистентність становила 17,5 % (рис. 3) [8].

За підрахунками, до 2050 року антибіотикорезистентність (АБР) щороку спричинить близько 10 мільйонів смертельних випадків, що призведе до зменшення внутрішнього валового продукту на 2–3,5 % у всьому світі, що коштуватиме до \$ 100 трлн [9].

Причини АБР складні та багатокомпонентні, вони охоплюють питання санітарії та гігієни, практику тваринництва, інформованість громадськості та її діяльність, а також дії системи охорони здоров'я. Однак невідповідне призначення АБП є ключовим фактором для виникнення АБР, що обумовлено попитом пацієнтів, вартістю АБП, відсутністю знань про відповідну тактику антибактеріальної терапії у конкретному випадку та/або затримкою лабораторних результатів. Неналежне використання (зловживання або надмірне використання) знижує ефективність АБП і призводить до селекції та поширення резистентних штамів [9].

Тільки у 2015 році приблизно 269 мільйонів АБП було видано аптеками амбулаторно у США, тобто кожен п'ятий з шести людей щорічно отримує щонайменше один антибіотик. Близько 30 % цих призначень

Table 8 <i>E. coli</i> : total number of invasive isolates tested (N = 98 567)* and AMR percentage (%) per phenotype, EU/EEA, 2020		
AMR pattern ^a	Number of isolates	Percentage of total ^c
Fully susceptible (to included antimicrobial groups)	45 338	46.0
Single resistance (to indicated antimicrobial group)		
Total (all single resistance)	32 535	33.0
Aminopenicillins	29 512	29.9
Fluoroquinolones	2 547	2.6
Other antimicrobial groups	476	0.5
Resistance to two antimicrobial groups		
Total (all two-group combinations)	10 026	10.2
Aminopenicillins + fluoroquinolones	5 660	5.7
Aminopenicillins + third-generation cephalosporins	2 493	2.5
Aminopenicillins + aminoglycosides	1 710	1.7
Other antimicrobial group combinations	163	0.2
Resistance to three antimicrobial groups		
Total (all three-group combinations)	6 742	6.8
Aminopenicillins + third-generation cephalosporins + fluoroquinolones	4 417	4.5
Aminopenicillins + fluoroquinolones + aminoglycosides	1 830	1.9
Other antimicrobial group combinations	495	0.5
Resistance to four antimicrobial groups		
Total (all four-group combinations)	3 902	4.0
Aminopenicillins + third-generation cephalosporins + fluoroquinolones + aminoglycosides	3 873	3.9
Other antimicrobial group combinations	29	< 0.1
Resistance to five antimicrobial groups		
Aminopenicillins + third-generation cephalosporins + fluoroquinolones + aminoglycosides + carbapenems	24	< 0.1

^a Only isolates with complete susceptibility information for aminopenicillins (amoxicillin or ampicillin), third-generation cephalosporins (cefotaxime, ceftriaxone or ceftazidime), carbapenems (imipenem or meropenem), fluoroquinolones (ciprofloxacin, levofloxacin or ofloxacin) and aminoglycosides (gentamicin or tobramycin) were included in the analysis. This represented 71% (98 567/138 793) of all reported *E. coli* isolates.

^b Only AMR combinations > 1% of the total are specified.

^c Not adjusted for population differences in the reporting countries.

Рисунок 1. Рівні чутливості/резистентності штамів *E.coli* до найбільш поширених АБП за 2020 рік

Table 7a Total number of invasive isolates tested (N) and percentage of isolates with AMR phenotype (%) in EU/EEA, by bacterial species and antimicrobial group/agent, population-weighted EU/EEA mean, 2016–2020

Bacterial species	Antimicrobial group/agent	2016 ^a		2017 ^a		2018 ^a		2019 ^a		2020 ^a		2020 EU/EEA country range ^b
		N	%	N	%	N	%	N	%	N	%	
<i>E. coli</i>	Aminopenicillin (amoxicillin/ampicillin) resistance	108 239	59.0	125 866	58.7	133 700	57.5	130 603	57.1	105 827	54.6	34.1–67.5
	Third-generation cephalosporin (cefotaxime/ceftriaxone/cefazidime) resistance	123 944	14.9	140 584	14.9	152 720	15.1	157 918	15.1	137 465	14.9	5.8–41.4
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	122 437	0.1	140 438	0.1	151 457	0.1	156 871	0.3	134 032	0.2	0.0–0.8
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin/ofloxacin) resistance	125 161	25.2	141 562	25.7	154 698	25.3	161 718	23.8	137 785	23.8	10.0–48.2
	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistance ^c	124 480	11.6	141 788	11.4	154 266	11.1	161 432	10.8	134 683	10.9	5.5–34.2
<i>K. pneumoniae</i>	Combined resistance to third-generation cephalosporins, fluoroquinolones and aminoglycosides ^d	121 582	6.4	135 108	6.3	148 206	6.2	154 844	5.9	132 705	5.7	1.6–18.7
	Third-generation cephalosporin (cefotaxime/ceftriaxone/cefazidime) resistance	30 633	31.4	32 969	31.2	38 436	31.7	41 057	31.4	39 579	33.9	0.0–79.1
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	30 309	7.4	32 960	7.1	38 140	7.5	40 714	8.0	39 006	10.0	0.0–66.3
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin/ofloxacin) resistance	30 769	30.3	32 924	31.5	38 770	31.6	41 617	31.3	39 794	33.8	0.0–74.4
	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistance ^e	30 209	24.4	33 136	24.1	38 555	22.7	41 484	22.4	38 733	23.7	0.0–67.0
<i>P. aeruginosa</i>	Combined resistance to fluoroquinolones, third-generation cephalosporins and aminoglycosides ^d	29 589	20.6	31 613	20.5	37 402	19.5	40 270	19.4	38 094	21.0	0.0–58.3
	Piperacillin-tazobactam resistance	15 125	17.5	16 428	16.7	18 607	16.8	19 465	17.0	19 695	18.8	4.4–64.3
	Ceftazidime resistance	15 219	14.4	16 512	14.7	18 960	14.1	19 959	14.3	20 014	15.5	2.9–54.3
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	15 573	18.2	17 109	17.4	19 233	17.2	20 238	16.6	20 414	17.8	3.6–48.9
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin) resistance	15 504	18.8	16 951	20.2	19 211	19.7	20 384	18.9	20 279	19.6	3.2–52.9
<i>Acinetobacter</i> spp.	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistance ^e	15 525	14.0	16 979	13.2	19 186	11.8	20 344	11.5	12 840	9.4	0.0–37.1
	Combined resistance to ≥ 3 antimicrobial groups (among piperacillin-tazobactam, ceftazidime, carbapenems, fluoroquinolones and aminoglycosides) ^f	15 628	13.4	17 129	13.0	19 306	12.6	20 406	12.1	20 421	12.1	0.0–47.1
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	5 590	32.6	6 186	33.1	6 526	31.9	5 958	32.4	7 542	38.0	0.0–96.4
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin) resistance	5 596	37.5	6 098	37.4	6 496	36.2	5 923	36.6	7 392	41.8	0.0–98.2
	Aminoglycoside (gentamicin/netilmicin/tobramycin) resistance ^g	5 562	32.7	6 042	32.2	6 459	31.3	5 915	32.7	7 306	37.1	0.0–96.4
<i>S. aureus</i>	Combined resistance to carbapenems, fluoroquinolones and aminoglycosides ^d	5 418	28.3	5 872	28.2	6 294	28.3	5 682	29.4	7 140	34.1	0.0–95.1
	MRSA ^h	57 730	17.7	66 279	16.8	72 882	16.4	74 718	15.7	72 314	16.7	1.4–49.1
	Penicillin non-wild-type ⁱ	15 666	13.1	17 212	12.9	18 676	12.9	18 235	12.2	8 032	15.6	3.9–56.3
	Macrolide (azithromycin/clarithromycin/erythromycin) resistance	16 027	16.6	17 613	15.7	19 217	15.2	18 940	14.5	8 362	16.9	3.5–43.8
	Combined penicillin non-wild-type and resistance to macrolides ^j	15 182	8.4	16 584	8.2	18 082	7.8	17 529	7.3	7 739	9.0	0.0–37.5
<i>E. faecalis</i>	High-level gentamicin resistance	12 910	31.8	13 930	29.7	15 343	27.1	13 596	26.8	14 279	29.0	4.1–51.6
	Vancomycin resistance	12 511	12.3	14 213	14.9	15 992	17.3	16 549	18.2	18 151	16.8	0.0–56.6

^a Number of EU/EEA countries: 30.
^b Number of EU/EEA countries: 29.
^c Lowest and highest national AMR percentage among reporting EU/EEA countries (n = 29).
^d The aminoglycoside group includes only gentamicin and tobramycin from 2020 onwards.
^e The aminoglycoside group includes only tobramycin from 2020 onwards.
^f MRSA is based on oxacillin or cefoxitin, but AST results reported as cloxacillin, dicloxacillin or methicillin are accepted as a marker for oxacillin resistance if oxacillin is not reported. Data from molecular confirmation tests (detection of *mecA* gene by PCR or a positive PBPA-agglutination test) are given priority over phenotypic AST results.
^g Penicillin results are based on penicillin or, if not available, oxacillin. For *S. pneumoniae*, the term penicillin non-wild-type is used in this report, referring to *S. pneumoniae* isolates reported by local laboratories as susceptible, increased exposure (I) or resistant (R) to penicillin, assuming MIC to benzylpenicillin above those of wild-type isolates (> 0.06 mg/L). The qualitative susceptibility categories (S/I/R) as reported by the laboratory are used, since quantitative susceptibility information is missing for a large part of the data. Laboratories not using EUCAST clinical breakpoints in the period 2016–2018 might have used different interpretive criteria for the susceptibility categories.

Рисунок 2. Рівні резистентності основних бактеріальних штамів до АБП по європейських країнах за 2016–2020 роки

Total number of invasive isolates tested (n) and percentages of isolates with resistance phenotype (%), by bacterial species and antimicrobial group/agent, Ukraine, 2016–2020

Bacterial species	Antimicrobial group/agent	2016			2017			2018			2019			2020		
		n	%	n	n	%	n	%	n	%	n	%	n	%		
<i>E. coli</i>	Aminopenicillin (amoxicillin/ampicillin) resistance	0	ND	11	81.8 ^a	12	58.3 ^a	17	76.5 ^a	21	71.4 ^a					
	Third-generation cephalosporin (cefotaxime/ceftazidime) resistance	0	ND	11	36.4 ^a	18	44.4 ^a	39	41.0	45	53.3					
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	0	ND	11	0.0 ^a	18	0.0 ^a	31	6.5	45	4.4					
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin/ofloxacin) resistance	0	ND	11	45.5 ^a	18	44.4 ^a	37	35.1	43	41.9					
	Aminoglycoside (gentamicin/tobramycin) resistance	0	ND	10	30.0 ^a	18	22.2 ^a	35	20.0	42	35.7					
	Combined resistance to third-generation cephalosporins, fluoroquinolones and aminoglycosides	0	ND	10	30.0 ^a	18	16.7 ^a	34	11.8	40	17.5					
<i>K. pneumoniae</i>	Third-generation cephalosporin (cefotaxime/ceftazidime) resistance	0	ND	30	56.7	37	83.8	72	91.7	95	84.2					
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	0	ND	29	27.6 ^a	37	43.2	67	61.2	99	53.5					
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin/ofloxacin) resistance	0	ND	29	69.0 ^a	38	78.9	71	83.1	95	78.9					
	Aminoglycoside (gentamicin/tobramycin) resistance	0	ND	25	56.0 ^a	35	65.7	69	76.8	82	61.0					
	Combined resistance to third-generation cephalosporins, fluoroquinolones and aminoglycosides	0	ND	25	40.0 ^a	34	58.8	68	70.6	78	57.7					
	Piperacillin-tazobactam resistance	0	ND	7	<10 isolates	9	<10 isolates	12	41.7 ^a	24	54.2 ^a					
<i>P. aeruginosa</i>	Ceftazidime resistance	0	ND	8	<10 isolates	10	70.0 ^a	15	60.0 ^a	27	59.3 ^a					
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	0	ND	9	<10 isolates	10	100.0 ^a	16	56.3 ^a	27	70.4 ^a					
	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin) resistance	0	ND	8	<10 isolates	9	<10 isolates	15	73.3 ^a	26	57.7 ^a					
	Aminoglycoside (gentamicin/tobramycin) resistance ^a	0	ND	7	<10 isolates	9	<10 isolates	15	53.3 ^a	25	56.0 ^a					
	Combined resistance to ≥ 3 antimicrobial groups (among piperacillin-tazobactam, ceftazidime, carbapenems, fluoroquinolones and aminoglycosides) ^a	0	ND	7	<10 isolates	9	<10 isolates	12	41.7 ^a	22	54.5 ^a					
	Carbapenem (imipenem/meropenem) resistance	0	ND	30	40.0	28	75.0 ^a	44	72.7	48	77.1					
<i>Acinetobacter</i> spp.	Fluoroquinolone (ciprofloxacin/levofloxacin) resistance	0	ND	25	80.0 ^a	29	86.2 ^a	41	90.2	47	87.2					
	Aminoglycoside (gentamicin/tobramycin) resistance	0	ND	18	50.0 ^a	27	81.5 ^a	40	85.0	43	76.7					
	Combined resistance to carbapenems, fluoroquinolones and aminoglycosides	0	ND	18	50.0 ^a	26	65.4 ^a	38	76.3	42	64.3					
<i>S. aureus</i>	MRSA ^a	0	ND	19	0.0 ^a	20	0.0 ^a	60	1.7	83	18.1					
<i>S. pneumoniae</i>	Penicillin non-wild-type ^a	0	ND	6	<10 isolates	1	<10 isolates	8	<10 isolates	9	<10 isolates					
	Macrolide (azithromycin/clarithromycin/erythromycin) resistance	0	ND	6	<10 isolates	1	<10 isolates	8	<10 isolates	9	<10 isolates					
	Combined penicillin non-wild-type and resistance to macrolides ^a	0	ND	6	<10 isolates	1	<10 isolates	8	<10 isolates	9	<10 isolates					
	High-level gentamicin resistance	0	ND	18	44.4 ^a	19	63.2 ^a	29	51.7 ^a	36	41.7					
<i>E. faecalis</i>	Vancomycin resistance	0	ND	12	16.7 ^a	8	<10 isolates	1	0.0 ^a	19	0.0 ^a					

ND: no data available.

< 10 isolates: no percentage is displayed if < 10 isolates were available for analysis.

^a A small number of isolates were tested ($n < 30$), and the percentage resistance should be interpreted with caution. See Annex 3 for more information.

2 The aminoglycoside group includes only tobramycin from 2020 onwards.

MRSA is calculated as resistance to ceftiofur or, if not available, oxacillin.

Penicillin results are based on penicillin or, if not available, oxacillin. For *S. pneumoniae*, the term penicillin non-wild-type is used in this report, referring to *S. pneumoniae* isolates reported by the local laboratories as susceptible increased exposure (I) or resistant (R) to penicillin, assuming MIC to benzylpenicillin above those of wild-type isolates (≥ 0.06 mg/L). The qualitative susceptibility categories (S/I/R) as reported by the laboratory are used, since quantitative susceptibility information is resistant for a large part of the data. Laboratories not using EUCAST clinical breakpoints might define the cut-off values for the susceptibility categories differently.

Рисунок 3. Рівні резистентності уропатогенів до АБП в Україні за 2016–2020 роки

були непотрібними. Щорічно амбулаторно та в стаціонарах США виписується 47 мільйонів непотрібних рецептів антибіотиків [9] (рис. 4).

Ще у 2013 році CDC опублікувала ініціативний документ Antibiotic Resistance Threats in the United States, у якому відображено 4 стратегії для боротьби з антибіотикорезистентністю:

1. Запобігання інфекціям запобігає поширенню резистентності.
2. Відстеження АБР.
3. Оптимізація призначень та використання антибіотиків.
4. Розробка нових препаратів та діагностичних процедур.

Мета дослідження: визначити плазмідні гени антибіотикорезистентності ESBLs та PMQR серед уропатогенів, виділених від пацієнтів з додіалізною хронічною хворобою нирок (ХХН) та пієлонефритом.

Матеріали та методи

Дизайн дослідження

У дослідження було включено 105 дорослих хворих з додіалізною ХХН та пієлонефритом, які були госпіталізовані до нефрологічного відділення Харківської міської клінічної лікарні швидкої допомоги, Україна. Діагноз епізоду пієлонефриту встановлювався згідно з критеріями Європейської асоціації урологів [10].

Критерії включення в дослідження: наявність задокументованої ХХН І–ІV стадій за критеріями KDIGO [11]; швидкість клубочкової фільтрації (ШКФ) визначалась за формулою СКД-EPI; підтверджений епізод пієло-

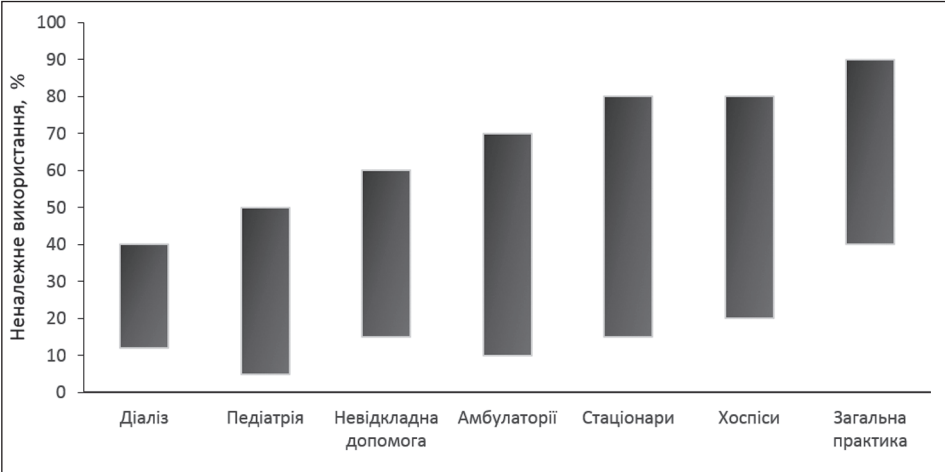


Рисунок 4. Відсоток нецільових призначень антибіотиків залежно від рівня медичної допомоги

нефриту з лихоманкою, больовим синдромом, симптомами інтоксикації, наявністю або відсутністю дизурії.

Критерії виключення: онкологічні захворювання, неконтрольована артеріальна гіпертензія, серцева недостатність III–IV класу за НУНА; прийом більше однієї дози антибіотика упродовж 72 годин перед госпіталізацією; неврологічні захворювання; активні захворювання сполучної тканини та системи крові.

Бактеріальні штами

Для бактеріологічного дослідження відбиралась середня порція сечі у стерильний контейнер, яка оброблялась у відділенні медичної біології Харківської міської клінічної лікарні швидкої медичної допомоги протягом 2 годин після збору. Зразки сечі інокулювали на кров'яний агар або хромогенне середовище ChromID CPS (bioMerieux, Франція), після чого позитивні випадки інкубували при 37 °C протягом 24 годин, а негативні випадки — при 37 °C протягом 48 годин. Зразки вважалися клінічно значущими, якщо кількість колонієутворюючих одиниць (КУО) становила $\geq 10^5$ КУО/мл сечі. У бактерій, які виросли у відповідній кількості, у подальшому оцінювалась морфологія

колоній, забарвлення за Грамом, рухливість та біохімічні реакції.

Визначення чутливості до антибіотиків

Антимікробну чутливість ізолятів визначали методом дискової дифузії Кірбі — Бауера на чашках з агаром Мюллера — Хінтона. За розміром зони навколо кожного антимікробного диска ізолят інтерпретували як чутливий, проміжний або резистентний згідно з критеріями CLSI [12]. Визначали чутливість до наступних антибіотиків:

ампіцилін, амоксицилін/клавуланат, цефтріаксон, цефепім, цiproфлоксацин, левофлоксацин, нітроксолін, фурамаг, амікацин, гентаміцин, нітрофурантоїн, меропенем (ТОВ «Аспект»), ко-тримоксазол, фурагін, фосфоміцин (HIMEDIA Laboratories, Pvt. Ltd., Мумбаї, Індія).

Визначення плазмідних генів антибіотикорезистентності

Повну екстракцію ДНК проводили для всіх зразків методом теплового шоку. Скринінг на наявність плазмідних генів резистентності ESBLs та PMQR проводили за допомогою аналізу секвенування полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР). Праймери для визначення генів резистентності подані в табл. 1. Продукти ПЛР аналізували електрофорезом у агарозному гелі та фарбували етидієм броміду. Плазмідна ДНК, використана як маркер молекулярної маси, була гідролізована ферментом *rus19* HpaII [13].

Статистика

Статистичний аналіз проводили з використанням пакета для статистичних досліджень для соціальних

Таблиця 1. Праймери плазмідних генів резистентності ESBLs та PMQR

Resistance genes	Primers	Amplicon size (bp)
blaTEM	5'-ATG AGT ATT CAA CAT TTC CG 5'-CCA ATG CTT AAT CAG TGA GG	858
blaSHV	5'-ATG CGT TAT ATT CGC CTG TG 5'-AGC GTT GCC AGT GCT CGA TC	862
blaCTX-M	5'-SCS ATG TGC AGY ACC AGT AA 5'-ACC AGA AYV AGC GGB GC	585
Qnr A	qnrAF ATT TCT CAC GCC AGG ATT TG qnrAR GAT CGG CAA AGG TTA GGT CA	516
aac(6')-Ib-cr	aacIbF TTG CGA TGC TCT ATG AGT GGC TA aacIbR CTC GAA TGC CTG GCG TGT TT	482
QepA	qepAF AAC TGC TTG AGC CCG TAG AT qepAR GTC TAC GCC ATG GAC CTC AC	596

наук (SPSS), версія 20. Категоріальні дані (стать, стан та чутливість до антибіотиків) були наведені у вигляді кількості та відсотка. Відсотки в різних категоріях порівнювали за допомогою критерію хі-квадрат. Статистичний аналіз проводили з використанням пропорцій чутливих, стійких та проміжних продуктів. Різниця вважалася значущою, якщо ймовірність того, що випадковість пояснює результати, була зменшена до менше ніж 5 % ($p \leq 0,05$). Для кожного потенційного фактора ризику коефіцієнти шансів і 95% довірчі інтервали були розраховані за допомогою багатоваріантного аналізу.

Етика

Кожен пацієнт був поінформований про збір даних, і від кожного учасника було отримано письмову інформовану згоду. Протокол дослідження затверджено етичною комісією Харківської академії післядипломної освіти (протокол № 2 від 22.02.2013). Анонімність гарантована під час і після дослідження. Дослідження неінвазивне і повністю відповідає Гельсінській декларації як заяві про етичні принципи медичних досліджень за участю людей, затверджені Всесвітньою медичною асоціацією.

Результати

Серед 105 обстежених пацієнтів було 14 (13,3 %) чоловіків та 91 (86,7 %) жінка, середній вік $56,9 \pm 1,7$ року з діапазоном від 21 до 86 років. Серед них 21 (20 %), 28 (26,7 %), 27 (25,7 %) та 29 (27,6 %) осіб мали ХХН I, II, III та IV ст. відповідно. Хворих госпіталізували з такими симптомами: лихоманка, нудота, блювання, больовий синдром у реберно-хребтовому куті. Пацієнти були розділені на дві групи лікування: група 1 ($n = 56$) — пацієнти, які отримували цефалоспори (цефтріаксон, цефепім), та група 2 ($n = 49$) — пацієнти, які отримували фторхінолони (ципрофлоксацин, левофлоксацин).

Із 105 пацієнтів 84 (80 %) мали позитивну бактеріологічну культуру. Серед них виділено 115 різних мікро-

організмів, із яких 34 (29,6 %) були грампозитивними та 81 (70,4 %) — грамнегативними бактеріальними штамами. Більшість ізолятів ($n = 73$) були отримані від пацієнтів віком від 18 до 65 років, тоді як 42 ізоляти — від пацієнтів віком понад 65 років. Загалом *Escherichia coli* була найпоширенішим мікроорганізмом (53/115, 46,1 %), тоді як серед грампозитивних бактерій домінуючими збудниками були штами *Enterococcus* spp. та *Staphylococcus* spp. (табл. 2).

Крім цього, серед 81 грамнегативного штаму в 39 (48,1 %) виділені різні типи плазмідних генів резистентності, серед яких 27 (69,2 %) були продуцентами бета-лактамаз розширеного спектра (ESBLs), а 12 (30,8 %) були позитивними на опосередковані плазмідами гени стійкості до фторхінолонів. Більшість генів ідентифіковано у штамів *P.mirabilis*, *E.coli* та *Serratia* spp. із поширеністю 62,5; 52,8 та 50 % відповідно. Крім того, серед 28 (52,8 %) плазмідопозитивних ізолятів *E.coli* 20 (71,4 %) і 8 (28,5 %) мали гени ESBL та детермінанти PMQR відповідно. З п'яти штамів *P.mirabilis* 4 (80 %) та 1 (20 %) були позитивні на ESBL та гени PMQR відповідно. Два з восьми штамів *P.aeruginosa* (25 %) мали гени PMQR. Частота генів ESBL та PMQR в ізолятах *K.pneumoniae* становила 66,7 та 33,3 % відповідно. Найпоширенішими генами серед ESBL була β -лактамаза типу blaTEM, серед PMQR — ефлюкс-насос QerA (табл. 3).

Результати бактеріологічних досліджень

Найвища стійкість серед ESBL-продукуючих штамів спостерігалася до ампіциліну (92,6 %), амоксициліну/клавуланату (66,7 %), цефотаксиму (59,3 %), фторхінолонів (51,9 %) та гентаміцину (40,8 %). Крім того, лише меропенем (96,3% чутливість), фосфоміцин (92,6%) і нітроксолін (85,2%) проявили високу інгібуючу активність проти ESBL-продукуючих бактерій. Рівні резистентності серед PMQR-позитивних штамів були такими: ампіцилін — 100 %, амоксицилін/клавула-

Таблиця 2. Виділені уропатогени у пацієнтів з додіалізною ХХН та пієлонефритом, n (%)

Організм	Загалом ($n = 115$)	Чоловіки ($n = 6$)	Жінки ($n = 78$)	≤ 65 р. ($n = 54$)	≥ 65 р. ($n = 30$)
<i>E.coli</i>	53 (46,1)	1 (16,7)	52 (66,7)	31 (57,4)	22 (73,3)
<i>K.pneumoniae</i>	9 (7,8)	3 (50)	6 (7,7)	6 (11,1)	3 (10)
<i>P.mirabilis</i>	8 (6,9)	0 (0,0)	8 (10,3)	4 (7,4)	4 (13,3)
<i>P.aeruginosa</i>	8 (6,9)	2 (33,3)	6 (7,7)	8 (14,8)	0 (0,0)
<i>E.cloacae</i>	1 (0,9)	0 (0,0)	1 (1,3)	0 (0,0)	1 (3,3)
<i>Serratia</i> spp.	2 (1,7)	1 (16,7)	1 (1,3)	0 (0,0)	2 (6,7)
<i>Enterococcus</i> spp.	17 (14,8)	2 (33,3)	15 (19,2)	12 (22,2)	5 (16,7)
<i>Staphylococcus</i> spp.	12 (10,4)	0 (0,0)	12 (15,4)	11 (20,4)	1 (3,3)
<i>Corynebacterium</i>	4 (3,5)	0 (0,0)	4 (5,1)	0 (0,0)	4 (13,3)
<i>Streptococcus</i> spp.	1 (0,9)	0 (0,0)	1 (1,3)	1 (1,9)	0 (0,0)

нат — 66,7 %, ципрофлоксацин — 66,7 %, левофлоксацин — 58,3 %, аміноглікозиди — 50 %. Найактивнішим протимікробним засобом проти PMQR-продуцентів був меропенем (100% чутливість). Показники чутливості до АБП *in vitro* PMRG-негативних штамів бактерій були вірогідно вищими. Рівні чутливості ізольованих уропатогенів залежно від експресії різних типів PMRG наведені на рис. 5.

Бактеріологічна ефективність лікування у пацієнтів, інфікованих бактеріями з плазмідними генами резистентності, була нижчою, ніж у пацієнтів з PMRG-негативними штамми, на контрольному візиті (тест ефективності лікування), бактеріологічна ефективність АБТ в PMRG-негативній групі становила 94,6 % (70/74), тоді як в PMRG-позитивній групі — 64,5 % (20/31) (рис. 6).

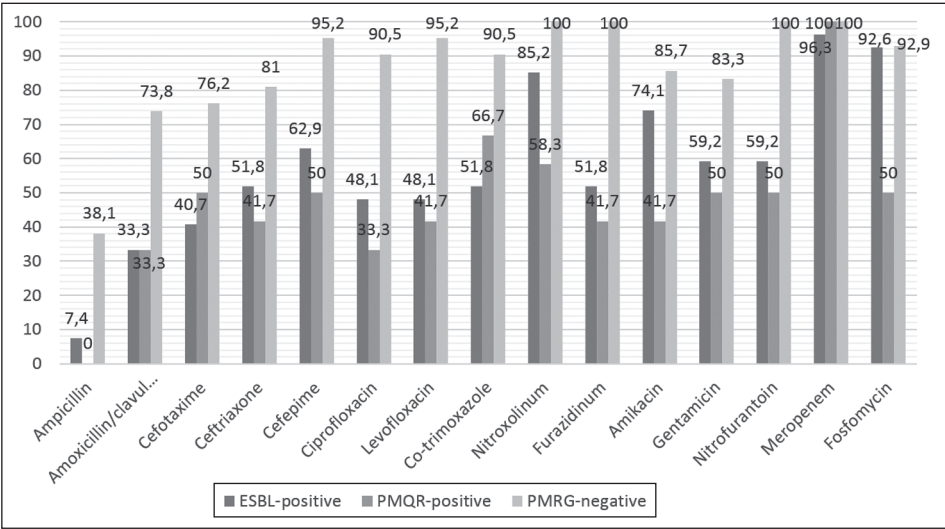


Рисунок 5. Рівні чутливості АБП (%) залежно від експресії плазмідних генів резистентності ESBLs та PMQR

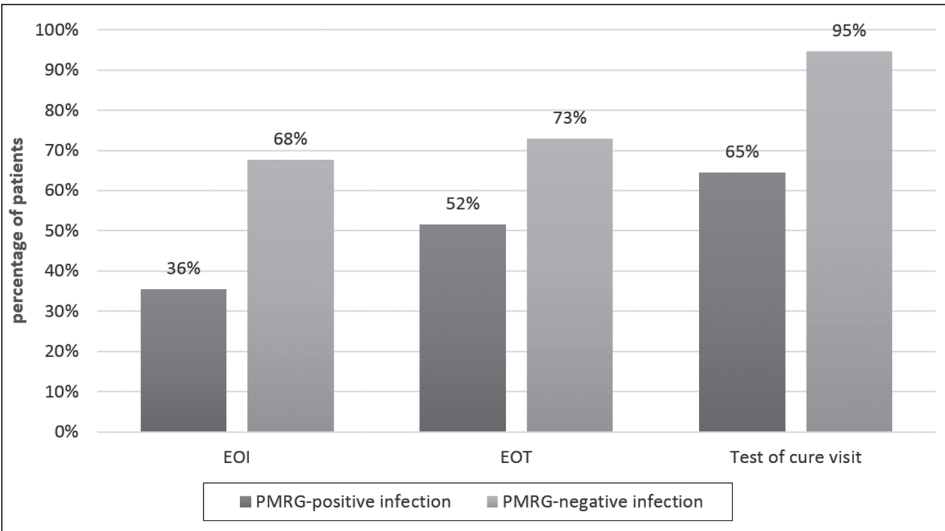


Рисунок 6. Бактеріологічна ефективність терапії залежно від експресії PMRG (відсоток пацієнтів з підтвердженою бактеріологічною ерадикацією)

Обговорення та висновки

Хронічна хвороба нирок, безперечно, залишається серйозною проблемою суспільства. Близько 850 млн людей страждають від різних варіантів захворювань нирок. Один з 10 дорослих має ХХН. Прогнозується, що до 2040 року ХХН буде четвертою причиною смерті у світі. Вартість діалізу та трансплантації у високорозвинених країнах становить 2–3 % річного бюджету [14].

ХХН асоціюється зі значними серйозними інфекційними ускладненнями, що зустрічаються в 3–4 рази частіше, ніж у загальній популяції. Інфекції є важливою причиною захворюваності та смертності серед пацієнтів із нирковою недостатністю і другою провідною причиною смерті після серцево-судинних подій. Зростаюча резистентність до антибактеріальних препаратів істотно погіршує і так жакливі прогнози.

Згідно з даними рапорту Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 [8], більше ніж 54 % виділених штамів *E.coli* були резистентними принаймні до одного АБП. У 2020 році

Таблиця 3. Плазмідні гени резистентності ESBL та PMQR серед виділених уропатогенів, n (%)

Уропатогени	Разом	ESBLs-продуценти			PMQR-продуценти		
		bla (TEM)	bla (SHV)	bla (CTXM)	QnrA	AAC(6')Ibcr	QepA
<i>E.coli</i>	28/53 (52,8)	10 (18,9)	4 (7,5)	6 (11,3)	2 (3,8)	2 (3,8)	4 (7,5)
<i>K.pneumoniae</i>	3/9 (33,3)	–	–	2 (22)	0 (0,0)	0 (0,0)	1 (11,1)
<i>P.mirabilis</i>	5/8 (62,5)	1 (12,5)	1 (12,5)	2 (25)	0 (0,0)	1 (12,5)	0 (0,0)
<i>P.aeruginosa</i>	2/8 (25)	–	–	–	2 (25)	0 (0,0)	0 (0,0)
<i>Serratia spp.</i>	1/2 (50)	1	–	–	–	–	–

найбільший відсоток резистентності встановлено до амінопеніцилінів (54,6 %), фторхінолонів (23,8 %), цефалоспоринів 3-ї генерації (14,9 %) і аміноглікозидів (10,9 %). Резистентність до карбапенемів становила 0,2 %. 87,4 % штамів, резистентних до цефалоспоринів 3-ї генерації, були продуцентами β -лактамаз розширеного спектра дії. У нашому дослідженні рівень резистентності штамів був вищим, і ми отримали такі дані щодо антибактеріальної чутливості: до ампіциліну — 23,5 %, цефалоспоринів 3-ї генерації — 71,6 %, ципрофлоксацину — 70,4 %, левофлоксацину — 76,5 %, гентаміцину — 70,4 %, меропенему — 100 %. Виявлення плазмідних генів резистентності становило 48,1 %. Отримані дані підтверджують, що лікування інфекцій у пацієнтів з ХХН лімітовано та ускладнюється формуванням стійкості до антибактеріальних препаратів.

Використання антибактеріальних препаратів широкого спектра дії є основним фактором ризику колонізації і поширення резистентних *Enterobacteriaceae*, включаючи *E.coli*. Значна поширеність ESBLs-продукуючих штамів, підвищення резистентності до основних груп АБП також призводять до збільшення використання карбапенемів, що, у свою чергу, може збільшити селекцію та сприяти поширенню резистентних до карбапенемів *Enterobacteriaceae*. Згідно з європейським рапортом, рівень резистентності до карбапенемів залишається невисоким (0,0–0,8 %) [8]. У нашому дослідженні рівень чутливості до карбапенемів був високим (100 %), лише для штамів з генами ESBL — 96,3 %.

Нераціональне використання АБП є ключовим фактором для виникнення АБР, що обумовлено попитом пацієнтів, вартістю АБП, відсутністю знань про відповідну тактику антибактеріальної терапії у конкретному випадку та/або затримкою лабораторних результатів. Неналежне використання (зловживання або надмірне використання) знижує ефективність АБП і призводить до селекції та поширення резистентних штамів [9].

Як ми зазначали вище, тільки у 2015 році приблизно 269 мільйонів АБП було видано аптеками амбулаторно у США, тобто кожен п'ятий з шести людей щорічно отримує щонайменше один антибіотик. Близько 30 % цих призначень були непотрібними. Щорічно амбулаторно та в стаціонарах США виписується 47 мільйонів непотрібних рецептів антибіотиків [9]. Якщо в європейських та американських медичних центрах відсоток непотрібних призначень антибіотиків сягає 50 % і навіть більше, то нескладно припустити, який відсоток нецільової АБТ можна очікувати в нашій країні, де в будь-якій аптеці можна купити будь-який антибіотик. У нашому дослідженні було підтверджено вірогідний вплив попереднього використання АБП (упродовж 1 року) з колонізацією штамів з плазмідними генами антибіотикорезистентності (OR 1,41; 95% CI: 0,60–3,33).

Також було підтверджено зниження бактеріологічної ефективності терапії у пацієнтів з PMRG-позитивними патогенами (94,6 % vs. 64,5 %), що є передумовою для подовження лікування, рецидивуючого перебігу захворювання, необхідності повторного ви-

користання антибіотиків, призначення більш сильних препаратів та АБП резерву, що, у свою чергу, призведе до погіршення функції нирок та прогресування ХХН.

Беручи до уваги все вищесказане, ми можемо припустити, що виділення та виявлення ESBL- та PMQR-продукуючих уропатогенів є важливим для вибору найефективнішого антибіотика для емпіричного лікування. Оскільки більшість генів ESBL і PMQR переносяться плазмиди, ці гени можуть легко передаватися серед госпіталізованих пацієнтів. Це основний фактор збільшення поширеності штамів як з ESBL-, так і з PMQR-генами. Крім того, терапевтичні альтернативи для лікування пацієнтів із ІСШ з резистентними уропатогенами та/або тяжкохворих пацієнтів із численними супутніми захворюваннями, особливо пацієнтів, які перебувають у стаціонарі, обмежені. Існує серйозна нестача науково обґрунтованих досліджень, які б керували вибором емпіричної антибіотикотерапії для багатьох пацієнтів у цих умовах. Необхідні подальші клінічні дослідження для створення рекомендацій щодо ведення пацієнтів з плазмідопосередкованою резистентністю та розширення кількості доступних варіантів емпіричної терапії цих мультирезистентних інфекцій.

Конфлікт інтересів. Автори заявляють про відсутність конфлікту інтересів та власної фінансової зацікавленості при підготовці даної статті.

References

1. Kolman KB. Cystitis and Pyelonephritis: Diagnosis, Treatment, and Prevention. *Prim Care*. 2019 Jun;46(2):191–202. doi: 10.1016/j.pop.2019.01.001.
2. Pietrucha-Dilanchian P, Hooton TM. Diagnosis, Treatment, and Prevention of Urinary Tract Infection. *Microbiol Spectr*. 2016 Dec;4(6). doi: 10.1128/microbiolspec.UTI-0021-2015.
3. Foxman B. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden. *Infect Dis Clin North Am*. 2014 Mar;28(1):1–13. doi: 10.1016/j.idc.2013.09.003.
4. American Urology Association. Medical Student Curriculum: Adult UTI. 2019. Available from: <https://www.auanet.org/education/adult-uti.cfm>
5. Waller TA, Pantin SAL, Yenior AL, Pujalte GGA. Urinary Tract Infection Antibiotic Resistance in the United States. *Prim Care*. 2018 Sep;45(3):455–466. doi: 10.1016/j.pop.2018.05.005.
6. Bader MS, Loeb M, Brooks AA. An update on the management of urinary tract infections in the era of antimicrobial resistance. *Postgrad Med*. 2017 Mar;129(2):242–258. doi: 10.1080/00325481.2017.1246055.
7. Centres for Disease Control and Prevention. 2019 Antibiotic Resistance Threats Report. Available from: <https://www.cdc.gov/drugresistance/resources/publications.html>.
8. WHO Regional Office for Europe/European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022 – 2020 data. Copenhagen: WHO Regional Office for Europe; 2022.
9. Ribero Pombo MH, Gandra S, Thompson D, Lamkang A, Pulcini C, Laxminarayan R. Global Core Standards for Hospital Antimicrobial Stewardship Programs: International Perspectives

and Future Directions. Doha, Qatar: World Innovation Summit for Health; 2018. 52 p.

10. Bonkat G, Bartoletti R, Bruyère F, et al. EAU Guidelines on Urological Infections. European Association of Urology; 2022. 78 p.

11. KDIGO. Clinical practice guideline for evaluation and management of CKD. KDIGO Public Review Draft: 2012; 150 p.

12. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing; Twenty-Third Informational Supplement: CLSI document M100-S23. USA Pennsylvania: Clinical and Laboratory Standards Institute; 2013.

13. Sundsfjord A, Simonsen GS, Haldorsen BC, et al. Genetic methods for detection of antimicrobial resistance. *APMIS*. 2004 Nov-Dec;112(11-12):815-37. doi: 10.1111/j.1600-0463.2004.apm11211-1208.x.

14. Li PK, Garcia-Garcia G, Lui SF, et al; World Kidney Day Steering Committee. Kidney Health for Everyone, Everywhere-from prevention to detection and equitable access to care. *Nephrol Dial Transplant*. 2020 Mar 1;35(3):367-374. doi: 10.1093/ndt/gfz283.

Отримано/Received 08.02.2022

Рецензовано/Revised 15.02.2022

Прийнято до друку/Accepted 20.02.2022 ■

Information about authors

Olga Chub, PhD, nephrologist, Assistant at the Department of Cardiology, Therapy and Nephrology, Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine; <https://orcid.org/0000-0002-7279-1935>

S.V. Teslenko, MD, dermatologist, bacteriologist, head of Limited Liability Company "Medlux", Kharkiv, Ukraine

O.V. Chub, MD, PhD, Municipal Non-Profit Enterprise "City Clinical Hospital № 19" of Kharkiv City Council, Kharkiv, Ukraine

Conflicts of interests. Authors declare the absence of any conflicts of interests and their own financial interest that might be construed to influence the results or interpretation of their manuscript.

O.I. Chub^{1,2}, S.V. Teslenko³, O.V. Chub⁴

¹Medical Center "Rishon", Kharkiv, Ukraine

²Kharkiv Medical Academy of Postgraduate Education, Kharkiv, Ukraine

³Limited Liability Company "Medlux", Kharkiv, Ukraine

⁴Municipal Non-Profit Enterprise "City Clinical Hospital № 19" of Kharkiv City Council, Kharkiv, Ukraine

Expression of plasmid-mediated resistance genes ESBLs and PMQR among uropathogens, isolated from non-dialysis CKD patients with pyelonephritis

Abstract. Urinary tract infections (UTIs) are thought to be the most common group of bacterial infections, worldwide. It is estimated that the proportion of UTIs remains at a high level reaching 150 million episodes per year worldwide and accounting for \$6 billion in health care expenditures. In USA more than 100,000 hospital admissions per year are the UTIs patients, among them the patients with pyelonephritis are the most frequent. For the US outpatients, approximately 15 % of antibiotics used are prescribed for UTIs. However, recent studies in Europe and the United States have demonstrated a steady increase in the rate of uropathogen resistance to commonly prescribed antibiotics, and this obviously will lead to a reduction in therapeutic possibilities of UTI. CDC has estimated that more than 2 million infections and 23,000 deaths are due to antibiotic resistance each year. By 2050, it is estimated, that antibiotic resistance will cause 10 million deaths every year. Infection is an important cause of morbidity and mortality among patients with kidney failure and is the second leading cause of death following CVD. At the EU/EEA level, more than half

(54 %) of the *E.coli* isolates reported to EARS-Net for 2020 were resistant to at least one of the antimicrobial groups under regular surveillance, i.e. aminopenicillins, fluoroquinolones, third-generation cephalosporins, aminoglycosides and carbapenems. A majority (87.4 %) of the third-generation cephalosporin-resistant *E.coli* isolates from 2020 were extended-spectrum beta-lactamase (ESBL) positive. Use of broad-spectrum antimicrobials is a known risk factor for colonization and spread of resistant *Enterobacteriaceae*, including *E.coli*. The high levels of ESBLs and increasing resistance to key antimicrobial groups might also lead to an increased consumption of carbapenems, which in turn can increase the selection pressure and facilitated the spread of carbapenem-resistant *Enterobacteriaceae*. The article presents data on the antibacterial susceptibility of isolated uropathogens, and their association with the presence or absence of plasmid-mediated resistance genes ESBLs and PMQR.

Keywords: urinary tract infections; pyelonephritis; chronic kidney disease; antibiotics; resistance; plasmids; ESBLs; PMQR