

NEWS

OF THE NATIONAL ACADEMY OF SCIENCES OF THE REPUBLIC OF KAZAKHSTAN

SERIES OF BIOLOGICAL AND MEDICAL

ISSN 2224-5308

Volume 1, Number 319 (2017), 71 – 80

A. L. Bisekenova¹, B. U. Shalekenov², B. A. Ramazanova¹,
V. N. Lokshin³, T. M. Dzhusubalieva⁴, S. B. Shalekenov², A. A. Musayev¹

¹S. D. Asfendiyarov Kazakh National Medical University, Almaty, Kazakhstan,

²Kazakh Medical University of Continuous Education, Almaty, Kazakhstan,

³International Centre of Clinical Reproduction «Persona»,

⁴Institute of Reproductive Medicine, Almaty, Kazakhstan

ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY AND MOLECULAR MECHANISMS OF RESISTANCE TO β -LACTAMS OF GRAM-NEGATIVE MICROORGANISMS – CAUSATIVE AGENTS OF URINARY TRACT INFECTIONS

Abstract. Etiological structure of urinary tract infections, antibiotic susceptibility results of selected gram-negative bacteria to antibiotics was examined. Gram-negative microorganisms collectively totaled 48.3%, the most frequent causative agents of urinary tract infections are *Escherichia coli* (31.0%), *Klebsiella pneumoniae* (4.6%). The most active drugs in regard to *E.coli* were carbapenems and amikacin (96.3% and 92.6% of susceptible strains, respectively); to gentamicin and tobramycin were 70.4% sensitive. Resistance to cephalosporins of III-IV generations of uropathogenic *E.coli* in 44.4% of cases was due to production of beta-lactamases of extended spectrum (ESBL) CTX-M1 and CTX-1 + OXA types.

All *K.pneumoniae* strains (100%) were sensitive to carbapenems, absolutely resistant to ampicillin (100%); piperacillin (100%). 50% of the strains showed resistance to all other groups of antibiotics. Resistance to cephalosporins of III-IV generations of these strains (50%) is explained by production of bla_{TEM-1 + CTX-M1}.

NFGOB in the etiological structure of urinary tract infections was 3.5%. The strain *P.aeruginosa* was determined, which produces metallo- β -lactamase (MBL) of VIM-2 group.

Keywords: urinary tract infections, gram-negative microorganisms, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotic resistance, β -lactamase of extended spectrum, metallo- β -lactamase.

УДК 616.62/63-022.7:615.33:579.84

А. Л. Бисекенова¹, Б. У. Шалекенов², Б. А. Рамазанова¹,
В. Н. Локшин³, Т. М. Джусубалиева⁴, С. Б. Шалекенов², А. А. Мусаева¹

¹Казахский национальный медицинский университет им. С. Д. Асфендиярова, Алматы, Казахстан,

²Казахский медицинский университет непрерывного образования, Алматы, Казахстан,

³Международный центр клинической репродуктологии «Persona»,

⁴Институт репродуктивной медицины, Алматы, Казахстан

АНТИБИОТИКОЧУВСТВИТЕЛЬНОСТЬ И МОЛЕКУЛЯРНЫЕ МЕХАНИЗМЫ РЕЗИСТЕНТНОСТИ К β -ЛАКТАМАМ ГРАМОТРИЦАТЕЛЬНЫХ МИКРООРГАНИЗМОВ – ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИЙ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

Аннотация. Изучены этиологическая структура инфекций мочевыводящих путей, результаты оценки антибиотикочувствительности выделенных грамотрицательных бактерий к антибактериальным препаратам. Грамотрицательные микроорганизмы в совокупности составили 48,3%, наиболее частыми возбудителями

инфекций мочевыводящих путей были *Escherichia coli* (31,0%), *Klebsiella pneumoniae* (4,6%). Наиболее активными препаратами в отношении *E.coli* были карбапенемы и амикацин (96,3% и 92,6% чувствительных штаммов соответственно); к гентамицину и тобрамицину были чувствительными 70,4%. Резистентность к цефалоспорином III–IV поколений уропатогенной *E.coli* в 44,4% случаев была обусловлена продукцией бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) CTX – M1 и CTX-M1 + OXA типов.

Все штаммы *K.pneumoniae* (100%) были чувствительны к карбапенемам, абсолютно резистентны к ампициллину (100%); пиперациллину (100%). Ко всем остальным группам антибиотиков 50% штаммов проявляли устойчивость. Резистентность к цефалоспорином III–IV поколений этих штаммов (50%) объяснялась продукцией $bla_{TEM-1 + CTX-M1}$.

НФГОБ в этиологической структуре инфекций МВП составили 3,5%. Выделен штамм *P.aeruginosa*, продуцирующий металло-β-лактамазу (МБЛ) VIM-2 группы.

Ключевые слова: инфекции мочевыводящих путей, грамотрицательные микроорганизмы, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, антибиотикорезистентность, β-лактамазы расширенного спектра (БЛРС), металло-β-лактамазы.

Введение. Инфекционно-воспалительные заболевания в урологии и вопросы их лечения представляют собой одну из наиболее актуальных проблем современной медицины. Это связано с их распространенностью, частым рецидивированием, социально-экономической и репродуктивной значимостью, а также с прогрессирующим ростом резистентности микроорганизмов к антибиотикам [1-3].

Для успешной антибиотикотерапии прежде всего необходимо знание структуры возбудителей. По данным многочисленных исследований, примерно в 50–90% случаев этиологическим фактором инфекций мочевыводящих путей является *E.coli*. Остальные возбудители (стафилококки, энтерококки, *Pseudomonas aeruginosa*, другие энтеробактерии) встречаются значительно реже [4-9]. В совокупности грамотрицательные бактерии занимают ведущую роль в этиологии инфекций МВП.

Обязательной составляющей рациональной антибиотикотерапии является необходимость учета резистентности уропатогенов к антимикробным препаратам по регионам и возможности ее изменения со временем. В последние годы отмечается тенденция к снижению чувствительности возбудителей инфекций МВП к ряду антибактериальных препаратов, что увеличивает риск неэффективности проводимого лечения. Особенно возрастает резистентность грамотрицательных бактерий к β-лактамам антибиотикам вследствие продукции бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) [10-13].

К важным тенденциям относится рост частоты выделения карбапенемаз молекулярного класса B – металло-β-лактамаз (МБЛ) [14, 15].

Целью настоящего исследования было изучение этиологической структуры и антибиотико-чувствительности возбудителей инфекций мочевыводящих путей у взрослых пациентов г. Алматы, анализ молекулярных механизмов резистентности грамотрицательных микроорганизмов к цефалоспорином III–IV поколений и карбапенемам.

Материал и методы исследования. За период с 14.07.2015 по 09.12.2016 от больных с инфекциями мочевыводящих путей всего было набрано 237 проб мочи, 5 выделений из уретры.

В исследование были включены 87 клинически значимые изоляты ($\geq 10^5$ КОЕ/мл) бактерий и грибов, собранные в рамках внутривузовского научного проекта: «Мониторинг резистентности возбудителей внебольничных и нозокомиальных инфекций к антимикробным препаратам и изучение его молекулярных механизмов» в отделении урологии ГКБ №12 г. Алматы. Материалом для микробиологических исследований служили: моча, выделения из уретры. Выделение и первичная идентификация бактериальных изолятов проводилась в лаборатории кафедры микробиологии КазНМУ им. С. Д. Асфендиярова. Окончательная видовая идентификация и определение их чувствительности к антимикробным препаратам проводились в НКДЛ НИИ им. Атабарова. Все исследованные изоляты были идентифицированы до вида и определена их антибиотико-чувствительность на бактериологическом автоматизированном анализаторе "VITEK-2 Compact", дополнительно использовали классический диско-диффузионный метод определения антибиотикочувствительности на агаре Мюллера – Хинтона, согласно рекомендациям EUCAST [16].

Для фенотипического выявления продукции БЛРС использовали метод двойных дисков [17]. По наличию расширенной зоны подавления роста между дисками с цефтазидимом (CAZ, 30 мкг),

цефепимом (CPM, 30 мкг) и диском, содержащим комбинацию амоксициллина с клавулановой кислотой (AMC 20/10 мкг). Для контроля качества определения чувствительности использовали штаммы *E.coli* ATCC 25922, *K.pneumoniae* ATCC 700603 (ESBL+).

Детекцию наиболее распространенных и клинически значимых генов класса А (TEM1, STX-M1, SHV, OXA) для культур с подтвержденным ESBL-фенотипом проводили методом ПЦР [18]. Выделение геномной и плазмидной ДНК грамотрицательных бактерий проводили по стандартной методике с помощью набора Easy Pure Bacteria Genomic DNA Kit (выделение геномной ДНК) и Easy Pure Plasmid MiniPrep Kit (выделение плазмидной ДНК) (TransGenBiotech, Китай). Использовались по 5 мл 18-20-часовой культуры бактерий.

Использованные праймеры для проведения полимеразной цепной реакции на 4 пары генов БЛРС (TEM1, STX-M1, SHV, OXA) приведены в таблице 1.

Таблица 1 – Использованные праймеры

Ген	Направление праймера	Последовательность	Длина продукта (п.н.)
OXA	f	ACACAATACATATCAACTTCGC	814
	r	AGTGTGTTTAGAATGGTGATC	
TEM1	f	TCAACATTTTCGTGTCGCCCT	765
	r	ACTACGATACGGGAGGGCTT	
SHV	f	GGTTATGCGTTATATTCGCC	865
	r	TTAGCGTTGCCAGTGCTC	
CTX-M1	f	ATGTGCAGYACCAGTAARGT	593
	r	TGGGTRAARTARGTSACCAGA	

Для ПЦР использовалось по 10 пмоль каждого праймера и 20 нг геномной и плазмидной ДНК бактерий, таким образом, проводилось 2 реакции на 1 образец. Использовался готовый мастер микс Platinum® PCR Super Mix (LifeTechnologies, CAUSA), объем реакции составлял 25 мкл, амплификацию проводили с использованием термоциклера BioRadIQ5 (Bio-Rad Laboratories, Inc., CAUSA) по следующему протоколу: 95°C – 5 мин, 95°C – 45сек, 53.5° (60°, 54°, 55°C) – 45 сек 35 циклов соответственно, 72°C – 45 сек, и окончательный отжиг 72°C – 10 мин. Последующая детекция генов осуществлялась на 1% агарозном геле с добавлением этидиум бромид. По образованию продукта амплификации делали заключение о наличии или отсутствии гена, характеризующегося определенной длиной, что давал нам качественные результаты.

Детекция генов карбапенемаз класса В - металло-β-лактамаз (VIM-2) у выделенных и идентифицированных нами бактериальных изолятов *Pseudomonas aeruginosa* проводилась методом ПЦР в режиме реального времени с использованием коммерческих наборов «АмплиСенс®.MDR Acinetobacter-OXA-FL» и «АмплиСенс®.MDR MBL-FL» (ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, Россия) и системы Rotor-Gene 6000 (Corbett Research, Австралия) в НИИ антимикробной химиотерапии г. Смоленск в рамках участия в многоцентровом проекте АРЕХ.

Результаты исследования. В 87 случаях выделены и идентифицированы клинически значимые изоляты бактерий и грибов рода кандиды. Состав возбудителей инфекций МВП представлен на рисунке 1.

Общая доля представителей семейства Enterobacteriaceae составила 44,8%, при этом *E.coli* являлась возбудителем у 31% пациентов. Значительно реже выделяли *K.pneumonia* (4,6%), *E.cloacae* (2,3%). В 3,5% случаев были обнаружены НФГОБ: *Ps. aeruginosa*, *Sph.paucimobilis*.

Среди грамположительных уропатогенов наиболее распространенными были *Staphylococcus haemolyticus* (11,5%), *Enterococcus faecalis* (10,4%), *Staphylococcus aureus* (8,1%). Распределение всех видов выделенных изолятов в этиологической структуре инфекций МВП представлено в таблице 2.

В связи с доминированием *E.coli* и, в общем, грамотрицательных микроорганизмов в этиологической структуре инфекций МВП, наибольший практический интерес представляют данные по чувствительности/устойчивости их к антибиотикам (таблица 3).

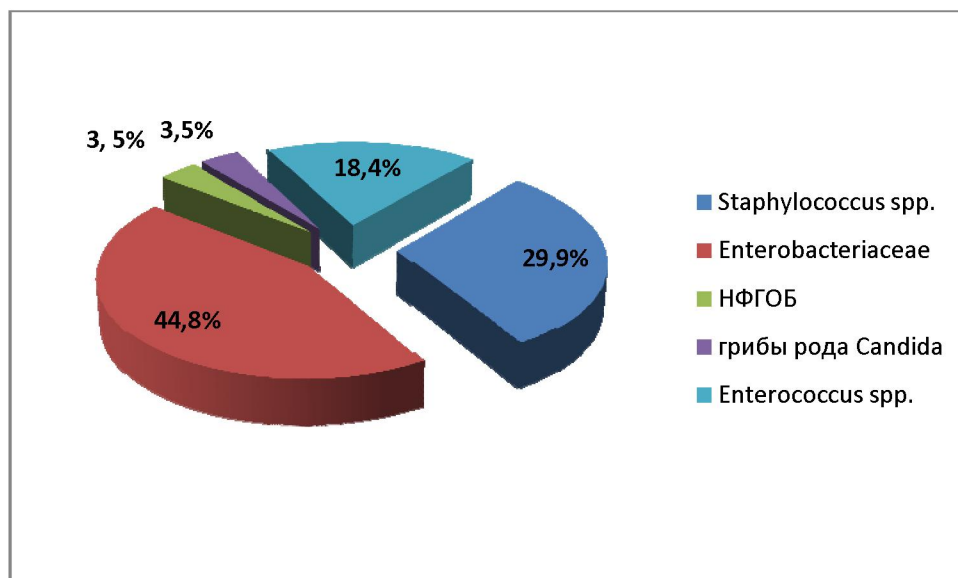


Рисунок 1 – Этиологическая структура инфекций мочевыводящих путей в урологическом отделении ЦГКБ г. Алматы (n = 87)

Таблица 2 – Видовая характеристика выделенных изолятов (n=87)

Семейство, группа	Вид	Абс. кол-во	%
Enterobacteriaceae (всего – 39)	Escherichia coli	27	31,0
	Klebsiella pneumoniae	4	4,6
	Raoultella planticola	2	2,3
	Enterobacter cloacae	2	2,3
	Pantoea spp.	1	1,2
	Shigella sonnei	1	1,2
	Proteus mirabilis	1	1,2
	Serratia marcescens	1	1,2
	Micrococcaceae (всего – 26)	Staphylococcus haemolyticus	10
Staphylococcus aureus		7	8,1
Staphylococcus epidermidis		3	3,5
Staphylococcus hominis		2	2,3
Staphylococcus lentus		2	2,3
Staphylococcus lugdunensis		1	1,2
Kocuria kristinae		1	1,2
Streptococcaceae (всего – 16)	Enterococcus faecalis	9	10,4
	Enterococcus faecium	3	3,5
	Enterococcus gallinarum	3	3,5
	Streptococcus alactolyticus	1	1,2
Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НФГОБ) (всего – 3)	Pseudomonas aeruginosa	2	2,3
	Sphingomonas paucimobilis	1	1,2
Грибы рода Candida (всего – 3)	Candida spp.	3	3,5

Таблица 3 – Распределение грамотрицательных микроорганизмов – возбудителей инфекций МВП (в %) по степени чувствительности к антибиотикам

Антибиотики	S, %	МИК, мкг/мл	I, %	МИК, мкг/мл	R, %	МИК, мкг/мл
1	2	3	4	5	6	7
<i>Escherichia coli</i> (n=27)						
Ампициллин	11,1	≤ 2	-	-	88,9	≥ 32
Пиперациллин	18,5	≤ 4	-	-	81,5	≥ 128
Цефокситин	81,5	4-8	18,5	16-32	-	-
Цефтазидим	25,9	≤ 1	25,9	4	48,2	16-64
Цефтриаксон	29,6	≤ 1	-	-	70,4	16-64
Цефепим	37,0	≤ 1	48,2	2-4	14,8	8-64
Эртапенем	96,3	≤ 0,5	-	-	3,7	2
Мерапенем	96,3	≤ 0,25	3,7	8	-	-
Амикацин	92,6	≤ 2	7,4	16	-	-
Гентамицин	70,4	≤ 1	-	-	29,6	≥ 16
Тобрамицин	70,4	1-2	-	-	29,6	8-16
Ципрофлоксацин	48,2	≤ 0,25	3,7	1	48,2	2-4
Левифлоксацин	51,9	0,12-1	-	-	48,2	≥ 8
Триметоприм/сульфаметоксазол	29,6	≤ 20	-	-	70,4	≥ 320
Нитрофурантоин	96,3	16-64	-	-	3,7	128
<i>Klebsiella pneumonia</i> (n=4)						
Ампициллин	-	-	-	-	100	≥ 32
Пиперациллин	-	-	-	-	100	≥ 128
Цефокситин	100	≤ 4	-	-	-	-
Цефтазидим	50	≤ 1	-	-	50	≥ 64
Цефтриаксон	50	≤ 1	-	-	50	≥ 64
Цефепим	50	≤ 1	-	-	50	≥ 64
Эртапенем	100	≤ 0,5	-	-	-	-
Мерапенем	100	≤ 0,25	-	-	-	-
Амикацин	50	∅	25	-	25	≥ 64
Гентамицин	50	≤ 1	-	16	50	≥ 16
Тобрамицин	50	≤ 1	-	-	50	≥ 16
Ципрофлоксацин	50	≤ 0,25	-	-	50	≥ 4
Левифлоксацин	50	≤ 0,12	-	-	50	≥ 8
Триметоприм/сульфаметоксазол	50	≤ 20	-	-	50	≥ 320
<i>Raoultella planticola</i> (n=2)						
Ампициллин	-	-	-	-	100	16
Ампициллин/сульбактам	100	∅	-	-	-	-
Пиперациллин	50	≤ 4	-	-	50	64
Цефазолин	100	≤ 4	-	-	-	-
Цефокситин	100	≤ 4	-	-	-	-
Цефтазидим	100	≤ 1	-	-	-	-
Цефтриаксон	100	≤ 1	-	-	-	-
Цефепим	100	≤ 1	-	-	-	-
Эртапенем	100	≤ 0,5	-	-	-	-
Мерапенем	100	≤ 0,25	-	-	-	-
Амикацин	100	∅	-	-	-	-
Гентамицин	100	≤ 1	-	-	-	-
Тобрамицин	100	≤ 1	-	-	-	-
Ципрофлоксацин	100	≤ 0,25	-	-	-	-
Левифлоксацин	100	≤ 0,12	-	-	-	-
Триметоприм/сульфаметоксазол	100	≤ 20	-	-	-	-

Продолжение таблицы 3						
1	2	3	4	5	6	7
Enterobacter cloacae (n=2)						
Пиперациллин	-	-	-	-	100	≥128
Цефокситин	-	-	-	-	100	≥64
Цефтазидим	-	-	-	-	100	≥64
Цефтриаксон	-	-	-	-	100	≥64
Цефепим	-	-	-	-	100	32-64
Эртапенем	-	-	-	-	100	4-8
Мерапенем	100	≤0,25	-	-	-	-
Имипенем	100	≤0,25	-	-	-	-
Амикацин	-	-	-	-	100	≥64
Гентамицин	-	-	-	-	100	≥16
Тобрамицин	50	≤1	-	-	50	≥16
Ципрофлоксацин	-	-	-	-	100	≥4
Левифлоксацин	-	-	-	-	100	≥8
Триметоприм/сульфаметоксазол	50	≤20	-	-	50	≥320
Pseudomonas aeruginosa (n=2)						
Пиперациллин	-	-	-	-	100	≥128
Цефтазидим	-	-	-	-	100	16-64
Цефепим	-	-	-	-	100	16-64
Мерапенем	-	-	-	-	100	≥16
Имипенем	50	≤0,25	-	-	50	≥16
Гентамицин	-	-	-	-	100	8
Тобрамицин	-	-	-	-	100	8
Ципрофлоксацин	-	-	-	-	100	≥4
Левифлоксацин	-	-	-	-	100	≥8
Sphingomonas paucimobilis (n=1)						
Ампициллин	-	-	-	-	100	≥32
Ампициллин/сульбактам	-	-	-	-	100	≥32
Пиперациллин	-	-	-	-	100	≥128
Цефазолин	-	-	-	-	100	≥64
Цефокситин	100	8	-	-	-	-
Цефтазидим	100	8	-	-	-	-
Цефтриаксон	-	-	-	-	100	≥64
Цефепим	100	≤1	-	-	-	-
Эртапенем	100	≤0,5	-	-	-	-
Мерапенем	100	1	-	-	-	-
Амикацин	-	-	100	4	-	-
Гентамицин	-	-	-	-	100	≥16
Тобрамицин	-	-	-	-	100	8
Ципрофлоксацин	-	-	100	2	-	-
Триметоприм/сульфаметоксазол	-	-	-	-	100	≥320

Как видно из результатов исследования, имеется высокая частота выделения штаммов *E.coli*, резистентных к ампициллину (88,9%), пиперациллину (81,5%), а также к триметоприму/сульфаметоксазолу (70,4%). Зарегистрирован относительно высокий уровень резистентности к фторхинолонам: ципрофлоксацину (48,2%) и левифлоксацину (48,2%). Наиболее активными препаратами в отношении *E.coli* были карбапенемы и амикацин (96,3% и 92,6% чувствительных штаммов соответственно). Чувствительностью к гентамицину и тобрамицину обладали 70,4% штаммов *E.coli*. К цефалоспорином III–IV поколений: цефтазидиму были резистентны 48,2%, цефтриаксону – 70,4 и цефепиму – 14,8% штаммов. При этом обращает на себя внимание тот факт, что 81,5% штаммов были чувствительны к цефокситину, что доказывает резистентность данного препарата к бета-лактамазам. У 19 штаммов из 27 уропатогенной *E.coli* (70,4%) были зарегистрированы гены TEM1 (продукция бета-лактамаз широкого спектра действия), из них 9 изолятов (44,4%) несли одновременно гены двух групп β-лактамаз TEM1 + CTX-M1, и 3 штамма одновременно комбинацию генов TEM1 + CTX-M1 + OXA. Известно, что CTX-M1, OXA генетически связаны с β-лактамазами широкого спектра и отличаются от TEM1 единичными аминокислотными заменами,

расширяющими спектр ферментативной активности. Таким образом, продукция БЛРС, которые разрушают все β -лактамы антибиотики, за исключением цефамицинов (цефокситин) и карбапенемов, как основной механизм устойчивости к оксиминоцефалоспорином была выявлена у 12 (44,4%) штаммов *E.coli* (по фенотипическим признакам и генетической детекции – bla_{TEM1+CTX-M1}; bla_{TEM1+CTX-1+OXA}).

Выделенные в ходе исследования штаммы *K.pneumoniae* являлись в 4,6% случаев возбудителями инфекций МВП и отличались абсолютной резистентностью к ампициллину (100%); пиперациллину (100%). Все штаммы *K.pneumoniae* (100%) были чувствительны к карбапенемам и цефокситину. Ко всем остальным группам антибиотиков 50% штаммов проявляли устойчивость. Резистентные к цефалоспорином III – IV поколений штаммы (50%) были продуцентами bla_{TEM-1 + CTX-M1}.

2 изолята *Enterobacter cloacae*, выделенные у больных с инфекциями МВП проявляли чувствительность к карбапенемам (100%), тобрамицину (50%) и триметоприму/сульфаметоксазолу (50%). К пиперациллину, амикацину, фторхинолонам, гентамицину, цефалоспорином III–IV поколений, цефокситину регистрировалась абсолютная резистентность (100%). При ПЦР – детекции у этих штаммов *E.cloacae* обнаружены гены TEM1. Резистентность к цефалоспорином, вероятно, обусловлена продукцией хромосомных β -лактамаз класса C, признаком чего является выявленная у данных штаммов устойчивость к цефокситину.

Неферментирующие грамотрицательные бактерии (НФГОБ) в этиологической структуре инфекций МВП занимали 3,45%. Небольшое количество штаммов *Pseudomonas aeruginosa* – 2 изолята делает относительно некорректной оценку полученных данных, однако эти результаты следует выделить особо. Нозокомиальный штамм *P.aeruginosa* №349, выделенный от пациента Д., 1963 г.р., с диагнозом: МКБ, острый пиелонефрит справа; пузырно-мочеточниковый рефлюкс, проявлял наряду с резистентностью на карбапенемы ассоциированную устойчивость к антибиотикам других классов: пиперациллину, фторхинолонам, аминогликозидам и цефалоспорином. При ПЦР-детекции выявлен ген VIM-2, кодирующий выработку карбапенемаз молекулярного класса В – металло- β -лактамаз (МБЛ). Второй штамм *P.aeruginosa* был чувствителен к имипенему, на остальные антибиотики проявлял резистентность. При ПЦР- детекции: TEM1.

Заключение. Результаты данного исследования свидетельствуют о ведущей роли семейства Enterobacteriaceae в этиологической структуре инфекций МВП (44,8%), к основным возбудителям относятся *E.coli* (31,0%) и *K.pneumoniae* (4,6%).

Среди изученных антибактериальных препаратов карбапенемы обладают наибольшей активностью по отношению ко всем видам энтеробактерий (96,3–100%). В отношении *E.coli* высокую активность проявляли нитрофурантоин (96,3%), амикацин (92,6%) и цефокситин (81,5%). К фторхинолонам – цiproфлоксацину и левофлоксацину, по данным нашего исследования, сохраняют чувствительность 48,2% и 51,9% соответственно штаммов *E.coli*, что ближе к показателям чувствительности (50%) в странах Азиатско-Тихоокеанского региона [19], но ниже, чем в России (70%) [1]. Уровень устойчивости к триметоприму/сульфаметоксазолу составил 70,4%. Высокая частота резистентности к цефалоспорином III–IV поколений у 44,4% штаммов *E.coli* была обусловлена продукцией бета-лактамаз расширенного спектра действия (БЛРС) CTX – M1 и CTX-M1 + OXA типов. В сравнении с показателями резистентности к цефалоспорином в исследовании «Дармис» в России за 2010–2011 гг. [1, 4], наши локальные данные по БЛРС-продуцирующим штаммам *E.coli* свидетельствуют об их широком и прогрессирующем распространении.

Продукция БЛРС CTX-M1 генетической группы выявлена у 50% штаммов *K.pneumoniae*, которые были резистентны ко всем исследованным группам антибиотиков, кроме карбапенемов и цефокситина. В нашем исследовании доминирующей группой БЛРС у уропатогенных энтеробактерий являются CTX-M1 родственные ферменты, наиболее частое распространение которых характерно и для соседней России [20, 21].

В ходе исследования выделен нозокомиальный штамм *P.aeruginosa*, продуцирующий металло- β -лактамазу (МБЛ) – VIM-2, который проявлял наряду с резистентностью на карбапенемы ассоциированную устойчивость к антибиотикам других классов: пиперациллину, фторхинолонам, аминогликозидам и цефалоспорином. Ассоциированная резистентность к антибиотикам всех классов, за исключением полимиксинов, крайне ограничивает возможности терапии инфекций, вызванных такими штаммами. Регистрация в Алматы данного штамма, несущего ген bla_{VIM-2}

служит дополнительным подтверждением распространенности в России, Беларуси и Казахстане МБЛ VIM-2 типа [15].

Таким образом, на фоне общей негативной тенденции к росту антибиотикорезистентности, ее показатели могут различаться между географическими регионами.

Профили чувствительности к антибактериальным препаратам и генетические основы антибиотикорезистентности являются уникальными для данного региона (г. Алматы). Эти данные позволяют оценить уровень и прогноз резистентности к β -лактамным антибиотикам, выявить основные механизмы устойчивости уропатогенов, сформулировать рекомендации по рациональной антибиотикотерапии.

ЛИТЕРАТУРА

[1] Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В., Эйдельштейн М.В., Швелев А.Н., Гринев А.В., Перепанова Т.С., Козлов Р.С., исследовательская группа «ДАРМИС». Современное состояние антибиотикорезистентности возбудителей внебольничных инфекций мочевых путей в России: результаты исследования «ДАРМИС» (2010–2011) // *Клин микробиол антимикроб химиотер.* – 2012; 14(4): 280-302.

[2] Wagenlehner F.M., Niemetz A.H., Weidner W., Naber K.G. Spectrum and antibiotic resistance of uro pathogens from hospitalised patients with urinary tract infections: 19942005 // *Int J Antimicrob Agents.* – 2008; 31 (Suppl 1): 37-43.

[3] Bouchillon S.K., Badal R.E., Hoban D.J., Hawser S.P. Antimicrobial susceptibility of inpatient urinary tract isolates of Gram-negative bacilli in the United States: results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) Program: 2009–2011. *Clin Ther* 2013; 35(6): 872-7.

[4] Палагин И.С., Сухорукова М.В., Дехнич А.В., Эйдельштейн М.В., Гринев А.В., Перепанова Т.С., Козлов Р.С. Исследовательская группа «ДАРМИС». Осложненные внебольничные инфекции мочевых путей у взрослых пациентов в России // *Клин микробиол антимикроб химиотер.* – 2014; 16(1): 39-56.

[5] Hooton T.M. Uncomplicated urinary tract infection // *New Engl J Med.* – 2012; 366: 1028-37.

[6] Kahlmeter G., ECO. SENS. An international survey on the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project // *J Antimicrob Chemother.* – 2003; 51: 69-76.

[7] Nicole L. Epidemiology of urinary tract infections // *Infect Med.* – 2001; 18: 153-62.

[8] Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity and economic cost // *American Journal of Medicine.* – 2002. – Vol. 113. – P. 5-13.

[9] Косякова К.Г., Каменева О.А., Морозова С.Е. Этиологическая структура и антибиотикорезистентность возбудителей внебольничных инфекций мочевой системы // *Клин микробиол антимикроб химиотер.* – 2015. – Т. 17, № 2(1). – С. 33.

[10] Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Дехнич А.В., Козлов Р.С. и исследовательская группа «Марафон». Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов Enterobacteriaceae в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. // *Клин микробиол антимикроб химиотер.* – 2014. – № 16(4). – С. 254-265.

[11] Ghafourian S. et al. Incidence of extended-spectrum beta-lactamase-producing *Klebsiella pneumoniae* in patients with urinary tract infection // *Sao Paulo Med. J.* – 2012. – Vol. 130(1). – P. 37-43.

[12] Сидоренко С.В., Березин А.Г., Иванов Д.В. Молекулярные механизмы устойчивости грамтрицательных бактерий семейства Enterobacteriaceae к цефалоспориновым антибиотикам // *Антибиотики и химиотерапия.* – 2011; 49(3): 6-16.

[13] Ena J., Arjona F., Martinez-Painado C. et al. Epidemiology of urinary tract infections caused by extended β -spectrum beta-lactamase-producing *Escherichia coli* // *Urology.* – 2006; 68 (6): 1169-1174.

[14] Сухорукова М.В., Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Иванчик Н.В., Тимохова А.В., Шек Е.А., Дехнич А.В., Козлов Р.С. и исследовательская группа «Марафон». Антибиотикорезистентность нозокомиальных штаммов *Pseudomonas aeruginosa* в стационарах России: результаты многоцентрового эпидемиологического исследования МАРАФОН в 2011–2012 гг. // *Клин микробиол антимикроб химиотер.* – 2014. – № 16(4). – С. 273-279.

[15] Эйдельштейн М.В., Скленова Е.Ю., Шевченко О.В., Тапальский Д.В., Азизов И.С., Дсоуза Д.В., Тимохова А.В., Сухорукова М.В., Козырева В.К., Сафронова Е.В., Астахова М.В., Карпов И.А., Шамаева С.Х., Абрамова Н.В., Гординская Н.А., Козлов Р.С. Распространенность и молекулярная эпидемиология грамтрицательных бактерий, продуцирующих мегало-бета-лактамазы, в России, Беларуси и Казахстане // *Клин микробиол антимикроб химиотер.* – 2012. – № 14(2). – С. 132-152.

[16] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for interpretation of MICs and zone diameters. – Version 4.0. – 2014. (<http://www.eucast.org>).

[17] Эйдельштейн М.В. Выявление бета-лактамаз расширенного спектра у грамтрицательных бактерий с помощью фенотипических методов // *Клин микробиол антимикроб химиотер.* – 2001; 3(2): 183-189.

[18] Monstein H.J., O'stholm-Balkhed A., Nilsson M.V., Nilsson M., Dornbusch K., Nilsson L.E. Multiplex PCR amplification assay for the detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae // *APMIS.* – 2007. – 115. – P. 1400-1408.

[19] Lu P.L., Liu Y.C., Toh H.S., et al. Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of Gram-negative bacteria causing urinary tract infections in the Asia-Pacific region: 2009-2010 results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) // *Int J Antimicrob Agents.* – 2012; 40 (Suppl): S37-43.

[20] Прямчук С.Д. Идентификация специфических маркеров для характеристики множественно-устойчивых госпитальных штаммов Enterobacteriaceae: Автореф. ... уч. степени канд. Биол. наук. – 2011. – С. 38.

[21] Ильина В.Н., Субботовская А.И., Козырева В.С., Сергеевичев Д.С., Шилова А.Н. Характеристика штаммов Enterobacteriaceae, продуцирующих БЛРС СТХ-М типа, выделенных в кардиохирургическом стационаре // Клинико-микробиол. антимикроб. химиотер. – 2013. – № 15(4). – С. 309-314.

REFERENCES

[1] Palagin I.S., Suhorukova M.V., Dehnich A.V., Jejdelshtejn M.V., Shevelev A.N., Grinev A.V., Perepanova T.S., Kozlov R.S. Issledovatel'skaja grupa «DARMIS». Sovremennoe sostojanie antibiotikorezistentnosti vozбудitelej vnebol'nichnyh infekcij mochevyh putej v Rossii: rezul'taty issledovanija «DARMIS» (2010–2011). Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2012; 14(4):280-302.

[2] Wagenlehner F.M., Niemetz A.H., Weidner W., Naber K.G. Spectrum and antibiotic resistance of uro pathogens from hospitalised patients with urinary tract infections: 19942005 // Int J Antimicrob Agents 2008; 31 (Suppl 1): 37-43.

[3] Bouchillon S.K., Badal R.E., Hoban D.J., Hawser S.P. Antimicrobial susceptibility of inpatient urinary tract isolates of Gram-negative bacilli in the United States: results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) Program: 2009–2011. Clin Ther 2013; 35(6): 872-7.

[4] Palagin I.S., Suhorukova M.V., Dehnich A.V., Jejdelshtejn M.V., Grinev A.V., Perepanova T.S., Kozlov R.S. Issledovatel'skaja grupa «DARMIS». Oslozhnennye vnebol'nichnye infekcii mochevyh putej u vzroslyh pacientov v Rossii. Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2014; 16(1): 39-56.

[5] Hooton T.M. Uncomplicated urinary tract infection // New Engl J Med. 2012; 366: 1028-37.

[6] Kahlmeter G. ECO.SENS. An international survey on the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project // J Antimicrob Chemother. 2003; 51: 69-76.

[7] Nicole L. Epidemiology of urinary tract infections // Infect Med. 2001; 18: 153-62.

[8] Foxman B. Epidemiology of urinary tract infections: incidence, morbidity and economic cost // American Journal of Medicine. 2002. Vol. 113. P. 5-13.

[9] Kosjakova K.G., Kameneva O.A., Morozova S.E. Jetiologicheskaja struktura i antibiotikorezistentnost' vozбудitelej vnebol'nichnyh infekcij mochevoj sistemy // Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2015. Vol. 17, N 2(1). P. 33.

[10] Suhorukova M.V., Jejdelshtejn M.V., Skleenova E.Ju., Ivanchik N.V., Timohova A.V., Dehnich A.V., Kozlov R.S. i issledovatel'skaja grupa «Marafon». Antibiotikorezistentnost' nozokomial'nyh shtammov Enterobacteriaceae v stacionarah Rossii: rezul'taty mnogocentrovogo jepidemiologicheskogo issledovanija MARAFON v 2011–2012 gg. // Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2014. N 16(4). P. 254-265.

[11] Ghafourian S. et al. Incidence of extended-spectrum beta-lactamase-producing Klebsiella pneumoniae in patients with urinary tract infection // Sao Paulo Med. J. 2012. Vol. 130(1). P. 37-43.

[12] Sidorenko S.V., Berezin A.G., Ivanov D.V. Molekuljarnye mehanizmy ustojchivosti gramotricatel'nyh bakterij semejstva Enterobacteriaceae k cefalosporinovym antibiotikam // Antibiotiki i himioterapija. 2011; 49(3): 6-16.

[13] Ena J., Arjona F., Martinez-Painado C. et al. Epidemiology of urinary tract infections caused by extended – spectrum beta-lactamase-producing Escherichia coli // Urology 2006; 68 (6): 1169-1174.

[14] Suhorukova M.V., Jejdelshtejn M.V., Skleenova E.Ju., Ivanchik N. V., Timohova A.V., Shek E.A., Dehnich A.V., Kozlov R.S. i issledovatel'skaja grupa «Marafon». Antibiotikorezistentnost' nozokomial'nyh shtammov Pseudomonas aeruginosa v stacionarah Rossii: rezul'taty mnogocentrovogo jepidemiologicheskogo issledovanija MARAFON v 2011–2012 gg. // Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2014. N 16 (4). P. 273-279.

[15] Jejdelshtejn M.V., Skleenova E.Ju., Shevchenko O.V., Tapal'skij D.V., Azizov I.S., Dsouza D.V., Timohova A.V., Suhorukova M.V., Kozlyeva V.K., Safronova E.V., Astahova M.V., Karpov I.A., Shamaeva S.H., Abramova N.V., Gordinskaja N.A., Kozlov R.S. Rasprostranennost' i molekuljarnaja jepidemiologija gramotricatel'nyh bakterij, producirujushih metalo-beta-laktamazy, v Rossii, Belarusi i Kazahstane // Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2012. N 14(2). P. 132-152.

[16] The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint Tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 4.0, 2014 (<http://www.eucast.org>).

[17] Jejdelshtejn M.V. Vyjavlenie beta-laktamaz rasshirennoho spektra u gramotricatel'nyh bakterij s pomoshh'ju fenoticheskikh metodov // Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2001; 3(2); 183-189.

[18] Monstein H.J., O'stholm-Balkhed A., Nilsson M.V., Nilsson M., Dornbusch K., Nilsson L.E. Multiplex PCR amplification assay for the detection of blaSHV, blaTEM and blaCTX-M genes in Enterobacteriaceae. APMIS; 2007; 115: 1400–1408.

[19] Lu P.L., Liu Y.C., Toh H.S., et al. Epidemiology and antimicrobial susceptibility profiles of Gram-negative bacteria causing urinary tract infections in the Asia-Pacific region: 2009–2010 results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) // Int J Antimicrob Agents. 2012; 40 (Suppl): p. 37-43.

[20] Prjamchuk S.D. Identifikacija specificheskikh markerov dlja harakteristiki mnozhestvenno-ustojchivyh hospital'nyh shtammov Enterobacteriaceae: Avtoref. ... uch. stepeni kand. biol. nauk. 2011. P. 38.

[21] Il'ina V.N., Subbotovskaja A.I., Kozlyeva V.S., Sergeevichev D.S., Shilova A.N. Harakteristika shtammov Enterobacteriaceae, producirujushih BLRS STH-M tipa, vydelennyh v kardiohirurgicheskom stacionare // Klin mikrobiol antimikrob himioter. 2013. N 15(4). P. 309-314.

А. Л. Бисекенова¹, Б. У. Шалекенов², Б. А. Рамазанова¹,
В. Н. Локшин³, Т. М. Джусубалиева⁴, С. Б. Шалекенов², А. А. Мусаева¹

¹С. Д. Асфендияров атындағы Қазақ ұлттық медициналық университеті, Алматы, Қазақстан;

²Үздіксіз білім беру Қазақ медициналық университеті, Алматы, Қазақстан;

³«Persona» халықаралық клиникалық репродуктология орталығы, Алматы, Қазақстан;

⁴Репродуктивті медицина институты, Алматы, Қазақстан

НЕСЕП ШЫҒАРАТЫН ЖОЛДАРДЫҢ ИНФЕКЦИЯЛАРЫН ҚОЗДЫРҒЫШ ГРАМТЕРІС МИКРООРГАНИЗМДЕРДІҢ АНТИБИОТИККЕ СЕЗІМТАЛДЫҒЫ ЖӘНЕ β ЛАКТАМДАРҒА ТӨЗІМДІЛІГІНІҢ МОЛЕКУЛЯРЛЫ МЕХАНИЗМДЕРДІ

Аннотация. Несеп шығаратын жолдардың инфекцияларының этиологиялық құрылымы, бөлінген грам-теріс бактериялардың антибактериалды препараттарға антибиотиктік сезімталдығын бағалаудың нәтижелері зерттелді. Грам-теріс бактериялардың жиынтығы 48,3%-ды құрады, несеп шығаратын жолдардың инфекцияларының ең жиі қоздырғыштары *Escherichia coli* (31,0%), *Klebsiella pneumoniae* (4,6%) болды. *E.coli*-ге қатысты еі белсенді препараттар карбапенемдер мен амикациндер (сәйкесінше 96,3% және 92,6% сезімтал штамдары) болды; гентамицин мен тобрамицинге 70,4% сезімтал болды. Уропатогенді *E.coli*-дің III–IV тұқымдағы цефалоспориндеріне төзімділігі 44,4% жағдайда (БЛРС) СТХ – M1 және СТХ-M1 + ОХА типтердегі кеңейтілген әсер ету спектрлі бета-лактамаз өнімдерімен негізделеді.

K.pneumoniae (100%) барлық штамдары карбапенемдерге сезімтал, амициллинге, пиперациллинге (100%) абсолютті төзімді (100%) болды. Осы штамдардың III – IV тұқымдарының (50%) цефалоспориндерге төзімділігі blaTEM-1 + СТХ-M1 өнімімен түсіндірілді. НСЖ инфекцияларының этиологиялық құрылымдарындағы НФГОБ 3,5%-ды құрады. VIM-2 тобындағы металло- β -лактамазаны (МБЛ) өндіретін *P.aeruginosa* штаммы бөлінді.

Түйін сөздер: несеп шығаратын жолдардың инфекциясы, грам-теріс микроорганизмдер, Enterobacteriaceae, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa*, антибиотикке төзімділік, кең спектрдегі β -лактамазалар, металло- β -лактамазалар.