

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Neuropathology of chronic pancreatitis in humans / R. G. Keith [et al.] // *Can. J. Surg.* — 1985. — Vol. 28. — P. 207–211.
2. Взаимосвязь поражения нервной ткани и фиброзных изменений в головке поджелудочной железы с болевым синдромом и качеством жизни пациентов при хроническом панкреатите / М. И. Кугаев [и др.] // *Новости хирургии.* — 2011. — Т. 19, № 5. — С. 39.
3. Поражение нервных стволов при хроническом панкреатите / О. В. Паклина [и др.] // *Анналы хирургической гепатологии.* — 2011. — № 3. — С. 95.
4. *Никитин, П. Н.* Изменения нервных стволов при хроническом панкреатите / П. Н. Никитин, Г. Р. Сетдикова, О. В. Паклина // VIII Всеросс. Конф. по патологии клетки. Сб. науч. тр. — М., 2010. — С. 169–170.
5. *Vardanyan, M.* Pathogenesis of Chronic Pancreatitis-induced Pain / M. Vardanyan, H. L. Rilo // *Discovery Medicine* [Электронный ресурс]. — 2010. — Vol. 9, № 47. — P. 304–310. Режим доступа: <http://www.discoverymedicine.com/Marina-Vardanyan/2010/04/10/pathogenesis-of-chronic-pancreatitis-induced-pain-2/>. — Дата доступа: 30.10.2012.
6. Pancreatic neuropathy results in «neural remodeling» and altered pancreatic innervations in chronic pancreatitis and pancreatic cancer / G. O. Ceyhan [et al.] // *Am. J. Gastroenterol.* — 2009. — Vol. 104, № 10. — P. 2555–2565.

Поступила 28.06.2012

УДК 616.61-002.3-085.281:579
АЛГОРИТМ РАЦИОНАЛЬНОЙ АНТИБАКТЕРИАЛЬНОЙ ТЕРАПИИ ПИЕЛОНЕФРИТОВ
И ЕГО МИКРОБИОЛОГИЧЕСКОЕ ОБОСНОВАНИЕ

Л. В. Лагун, Д. В. Тапальский

Гомельский государственный медицинский университет

Цель исследования: Изучение уровней устойчивости возбудителей пиелонефритов к антибактериальным препаратам различных групп, выявление продуцентов бета-лактамаз расширенного спектра среди возбудителей и разработка алгоритма микробиологической диагностики и рациональной антибактериальной терапии пиелонефритов.

Материалы и методы. В исследование включено 115 клинических изолятов энтеробактерий (70 — *Escherichia coli*, 35 — *Proteus spp.*, 10 — *Klebsiella pneumoniae*), выделенных из мочи пациентов с острыми и хроническими пиелонефритами. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам проводили диско-диффузионным методом. С использованием метода «двойных дисков» выполнен фенотипический скрининг продукции бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) для исследуемых штаммов микроорганизмов. Геноиндикация БЛРС различных классов у возбудителей пиелонефритов проведена с использованием полимеразной цепной реакции (ПЦР).

Результаты. Оценена устойчивость микроорганизмов — возбудителей пиелонефритов к антибактериальным препаратам различных групп. Изучены механизмы антибиотикорезистентности энтеробактерий. Выявлена высокая распространенность продуцентов бета-лактамаз расширенного спектра, относящихся к группе CTX-M.

Заключение. Полученные в ходе исследования данные об уровнях и механизмах устойчивости энтеробактерий к антибактериальным препаратам различных групп явились основой для разработки алгоритма микробиологической диагностики и рациональной антибактериальной терапии пиелонефритов.

Ключевые слова: резистентность к антибиотикам, энтеробактерии, β-лактамазы расширенного спектра, пиелонефриты, антибактериальная терапия пиелонефритов.

ALGORITHM OF RATIONAL ANTIBACTERIAL THERAPY
OF PYELONEPHRITIS AND ITS MICROBIOLOGICAL BASIS

L. V. Lagun, D. V. Tapalskiy

Gomel State Medical University

Aim of research. To study resistance levels to different antibiotics of pyelonephritis etiologic agents, revealing of extended-spectrum beta-lactamases producers among agents and development of an algorithm of microbiological diagnostics and rational antibacterial therapy of pyelonephritis.

Materials and methods. A total of 115 clinical strains of enterobacteria (70 — *Escherichia coli*, 35 — *Proteus spp.*, 10 — *Klebsiella pneumoniae*) isolated from urine of patients with acute and chronic pyelonephritis were included in the research. The sensitivity of microorganisms to antibacterial agents was determined by disc diffusion method. The extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) production was carried out by using the double disk diffusion method. The genodetection of ESBL of various groups in etiologic agents of pyelonephritises was determined by means of polymerase chain reaction (PCR).

Results. The resistance of microorganisms, etiologic agents of pyelonephritises to antibiotics of various groups was evaluated. The study revealed high prevalence of extended-spectrum β-lactamases producers concerning to CTX-M group.

Conclusion. The data obtained during the study about levels and resistance mechanisms of enterobacteria to antibacterial agents of different groups were the base for development of the algorithm of microbiological diagnostics and rational antibacterial therapy of pyelonephritis.

Key words: resistance to antibiotics, enterobacteria, extended-spectrum beta-lactamases, pyelonephritis, antibacterial therapy of pyelonephritises.

Введение

Больные с пиелонефритом, независимо от профиля лечебного учреждения, составляют значительную долю пациентов среди всех лечившихся в стационарах. Среди больных терапевтических отделений пациенты, страдающие пиелонефритом, составляют 6 %, а среди урологических больных — от 30 до 58 % [1]. По данным А. В. Люлько и соавт., первичный пиелонефрит наблюдается у 16–20 % больных, вторичный — у 80–84 % [2]. По патологоанатомическим данным, пиелонефрит обнаруживается в 6–20 % случаев, а как основная причина смерти — в 2,5–5,6 % всех вскрытий [1, 3, 4, 5]. Заболевание широко распространено среди взрослого и детского населения; чаще всего подвержены заболеванию девочки раннего возраста, молодые женщины, особенно во время беременности, и пожилые люди обоих полов.

Возрастание заболеваемости пиелонефритом связано не только с усовершенствованием различных методов диагностики этого заболевания, но и с возросшей вирулентностью микроорганизмов, повышением их устойчивости к антибактериальным препаратам [1, 3, 7].

Согласно данным ESGNI (European Study Group on Nosocomial Infection), среди возбудителей инфекционных процессов мочевыводящих путей доминируют энтеробактерии, среди которых наибольший удельный вес составляет *Escherichia coli* (35,6 %) [8].

По различным данным, *E. coli* является этиологическим фактором пиелонефритов в 70–90 % случаев, *Pseudomonas aeruginosa* — в 4,5–18 % случаев. Реже выделяются другие представители семейства Enterobacteriaceae, такие как *Proteus spp.*, *K. pneumoniae* [9–14].

E. coli инициирует до 80 % острых воспалительных процессов в мочевых путях и почках у больных без обструкции мочевых путей и без наличия камней в почках. В то же время *Proteus spp.*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* чаще являются причиной рецидивов заболевания при хронических уроинфекциях, чаще встречаются у больных с обструктивными процессами в мочевых путях и мочекаменной болезнью [3, 5].

В настоящее время важно не только поставить клинический диагноз пиелонефрита, но и провести этиологическую диагностику и назначить рациональную антибактериальную терапию. От того, насколько правильно выбрана стартовая антимикробная терапия пиелонефритов, зависят, в конечном итоге, эффективность лечения и прогноз болезни.

Распространенность антибактериальной устойчивости микроорганизмов, выделенных у пациентов с острыми и хроническими пиелонефритами, увеличивается и может изменяться согласно региональному местоположению. В настоящее время проблеме микробиологического

мониторинга антибиотикорезистентности клинически значимых микроорганизмов уделяется пристальное внимание в разных странах мира.

Согласно данным многоцентрового исследования по антибиотикочувствительности возбудителей инфекций мочевыводящих путей (ИМП), в Великобритании чувствительность штаммов *E. coli*, *Proteus mirabilis* и *K. pneumoniae* к имипенему и амикацину составила 100 %. Отмечен высокий уровень чувствительных штаммов *E. coli* к таким антибиотикам, как цефтазидим (99,3 %), цiproфлоксацин (88,6–97,7 %), гентамицин (98,8 %), амоксициллин/клавуланат (78,8 %). Чувствительность *Proteus mirabilis* к амоксициллину составила 72,6 %, к амоксициллину/клавуланату — 96,8 %, цiproфлоксацину — 87,1 %, цефуроксиму — 95,2 %, цефтазидиму — 98,8 %. Чувствительность *K. pneumoniae* к амоксициллину/клавуланату составила 84,5 %, цiproфлоксацину — 94,4 %, цефуроксиму — 81,7 %, цефтазидиму — 91,6 %, гентамицину — 91,6 % [12].

В нескольких российских исследованиях, инициированных Научно-методическим центром по мониторингу антибиотикорезистентности Федерального агентства по здравоохранению и социальному развитию и поддержанных Российским обществом урологов и НИИ урологии, показано, что уровень резистентности уропатогенных кишечных палочек к аминопенициллинам (ампициллину, амоксициллину) в большинстве регионов страны, включая Москву, превышает пороговый уровень 20 %, в связи с чем эти препараты не могут быть рекомендованы для эмпирической терапии ИМП в России.

По данным многоцентровых эпидемиологических исследований УТИАР-I и УТИАР-II по изучению этиологии возбудителей ИМП и их резистентности к антибиотикам, резистентность *E. coli* к ампициллину составила 37,1 %. Выявление высокого уровня резистентности уропатогенной *E. coli* к ампициллину у амбулаторных пациентов в России стало отражением тенденции, характерной практически для всех стран [10]. Например, в США частота устойчивых к ампициллину штаммов возросла с 29 до 35 % [14], в Корее — до 64 % [15]. Аналогичные данные получены в европейских странах и Канаде [13]. Активность фторхинолонов варьировала в зависимости от региона и изменялась однонаправленно. В среднем по России выделяется 4,5–13 % штаммов *E. coli*, резистентных к фторхинолонам [10]. Сопоставимые данные получены в США [14] и большинстве европейских стран [13]. В то же время в Испании уровень резистентности кишечной палочки к фторхинолонам составил от 14 до 22 % [13], в Корее — 18–24 % [15].

Наиболее активными в России препаратами в отношении штаммов *E. coli*, выделенных при

различных формах внебольничных неосложненных ИМП у взрослых, являются цефалоспорины III–IV поколения, ингибиторозащищенные пенициллины и фторхинолоны [9]. В то же время, при внебольничных осложненных ИМП резистентность к цефалоспорином II–IV поколения составляет 4 %; к ингибиторозащищенным пенициллинам — 3,2 %; карбапенемам — 0 %; аминогликозидам — 0,5–10 % (гентамицин — 10 %; нетимицин — 1,8 % и амикацин — 0,5 %); к нефторированным хинолонам — 20 %; фторхинолонам — 15–17 %.

В исследовании *Micromax*, выполненном в 8 стационарах Москвы, Смоленска, Екатеринбургa, отмечена низкая частота устойчивости *E. coli* и *Proteus spp.* к β -лактамам с незначительными различиями между отдельными центрами. В то же время, выявлена высокая резистентность *Klebsiella spp.* к цефалоспорином III поколения (31–40 %). Резистентность к цефепиму была почти в два раза меньше — 16 %. Не выявлено кишечных палочек, протеев и клебсилл, устойчивых к имипенему [16].

По результатам многоцентрового исследования SMART (the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends), проведенного в 2009–2010 гг. с клиническими изолятами грамотрицательных бактерий, выделенных из мочи госпитализированных пациентов с ИМП, среди 3079 штаммов частота выделения *E. coli* составила 53,4 %. Продуцентами бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) оказались 17,9 % штаммов *E. coli*. Продукция БЛРС — один из наиболее распространенных и клинически значимых механизмов резистентности энтеробактерий к современным β -лактамам антибиотикам. Термин « β -лактамазы расширенного спектра» (от англ. extended-spectrum β -lactamases — ESBL) объединяет большое число бактериальных ферментов, которые отличаются способностью расщеплять оксимино- β -лактамы (цефалоспорины III–IV поколений и азтреонам) наряду с пенициллинами и ранними цефалоспорином и проявляют чувствительность к ингибиторам (клавулановой кислоте, сульбактаму и тазобактаму). Среди БЛРС-продуцирующих штаммов *E. coli* резистентных к цефотаксиму выявлено 99,3 % штаммов, цефтриаксону — 99,0 %, цефепиму — 82,4 %, цефтазидиму — 66,8 %, цiproфлоксацину — 84,7 %, ампициллину/сульбактаму — 66,8 %. К амикацину чувствительны были 87,1 % штаммов *E. coli*, пиперациллину/тазобактаму — 84,4 %, имипенему — 99,7 % [17].

Для лечения нозокомиальных ИМП, которые, как правило, вызываются полирезистентными микроорганизмами, включая штаммы, продуцирующие БЛРС, трудно дать какие-либо конкретные рекомендации, поскольку внутрибольничные уropатогены чаще подвержены се-

лективному давлению антибиотиков, а влияние этого фактора может варьировать в различных географических регионах и отделениях разного профиля.

Цель исследования

Изучение уровней устойчивости возбудителей пиелонефритов к антибактериальным препаратам различных групп, выявление продуцентов бета-лактамаз расширенного спектра среди возбудителей и разработка алгоритма микробиологической диагностики и рациональной антибактериальной терапии пиелонефритов.

Материалы и методы

В исследование включено 115 клинических изолятов энтеробактерий (70 — *Escherichia coli*, 35 — *Proteus spp.*, 10 — *Klebsiella pneumoniae*), выделенных в 2005–2008 гг. из мочи пациентов с острыми и хроническими пиелонефритами. Все пациенты находились на стационарном лечении в урологическом и детском нефрологическом отделениях Гомельской областной клинической больницы. Выделенные микроорганизмы были обнаружены в этиологически значимых количествах (более 10^5 колониеобразующих единиц в 1 мл исследуемого материала).

Чувствительность к четырнадцати антибактериальным препаратам (ампициллину, карбенициллину, амоксициллину/клавуланату, имипенему, цефазолину, цефуроксиму, цефотаксиму, цефтазидиму, цефепиму, цiproфлоксацину, офлоксацину, гентамицину, амикацину, хлорамфениколу) определяли диско-диффузионным методом. Использовали агаризованную питательную среду Мюллер-Хинтон (HiMedia Laboratories, Индия). При выполнении исследования, учете и интерпретации результатов руководствовались «Методическими указаниями по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам» [6], рекомендациями и критериями CLSI — Clinical and Laboratory Standards Institute. Для контроля качества определения антибиотикочувствительности использовался референсный штамм *E. coli* ATCC 25922. Параллельно с тестированием клинических изолятов проводили тестирование контрольного штамма.

При характеристике микроорганизмов использовали общепринятые показатели — чувствительные, умеренно резистентные и резистентные. Для интегральной характеристики лекарственной устойчивости использовали термин «нечувствительные» штаммы, объединяющий умеренно резистентные и резистентные микроорганизмы.

С использованием метода «двойных дисков» выполнен фенотипический скрининг продукции бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) для 110 исследуемых штаммов микроорганизмов (65 штаммов *E. coli*, 35 штаммов *Proteus spp.*, 10 штаммов *K. pneumoniae* с различными профилями резистентности к антибактериальным препаратам).

Критерием включения штаммов как потенциальных продуцентов БЛРС в исследование было снижение чувствительности хотя бы к одному из цефалоспоринов III поколения до уровня, предлагаемого CLSI: для цефтазидима — диаметр зоны подавления роста при использовании диско-диффузионного метода ≤ 22 мм, для цефотаксима ≤ 27 мм. Метод «двойных дисков» представляет собой вариант классического диско-диффузионного метода определения чувствительности. Особенностью метода является то, что через 10 минут после инокуляции бактериальной взвеси на поверхность агара Мюллера-Хинтона накладывали диски с антибиотиками: в центр — диск, содержащий клавулановую кислоту (амоксиклав/клавуланат 20/10 мкг), по бокам от него на расстоянии 20 и 30 мм между центрами дисков — диски с цефтазидимом (30 мкг) и цефотаксимом (30 мкг).

Параллельно с анализом испытуемых культур исследовали контрольные штаммы: *E. coli* ATCC 25922 — отрицательный контроль (БЛРС–); *K. pneumoniae* ATCC 700603 — по-

ложительный контроль (БЛРС+). Расширение зоны подавления роста между одним или несколькими дисками с цефалоспорином и диском, содержащим клавулановую кислоту, указывало на наличие БЛРС.

Для выявления генов БЛРС различных классов (TEM, OXA, SHV, CTX-M) проведена полимеразная цепная реакция (ПЦР). Определена групповая принадлежность БЛРС классов TEM, SHV и CTX-M в мультиплексной ПЦР в реальном времени с последующей оценкой температур плавления зондов, позволяющей выявлять точечные мутации, придающие расширенный спектр бета-лактамазной активности в соответствующих кодонах генов. Для тестирования отобраны 49 культур энтеробактерий с подтвержденным БЛРС-фенотипом (*E. coli* — 29 штаммов, *K. pneumoniae* — 5 штаммов, *Proteus spp.* — 15 штаммов).

Результаты и обсуждение

Результаты определения антибиотикорезистентности диско-диффузионным методом изолятов *E. coli* представлены в таблице 1 и на рисунке 1.

Таблица 1 — Резистентность штаммов *E. coli* (n = 70) к антибактериальным препаратам

Антибиотик	Чувствительные		Умеренно резистентные		Резистентные	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Ампициллин	12	17,1	2	2,9	56	80,0
Карбенициллин	16	22,8	3	4,3	51	72,9
Амоксиклав	53	75,7	8	11,4	9	12,9
Цефазолин	14	20,0	9	12,9	47	67,1
Цефуроксим	37	52,8	10	14,3	23	32,9
Цефотаксим	44	62,9	11	15,7	15	21,4
Цефтазидим	39	55,7	13	18,6	18	25,7
Цефепим	43	61,4	11	15,7	16	22,9
Имипенем	69	98,6	1	1,4	0	0
Ципрофлоксацин	57	81,4	1	1,4	12	17,2
Офлоксацин	53	75,7	4	5,7	13	18,6
Гентамицин	47	67,2	8	11,4	15	21,4
Амикацин	59	84,3	7	10,0	4	5,7
Хлорамфеникол	24	34,3	15	21,4	31	44,3

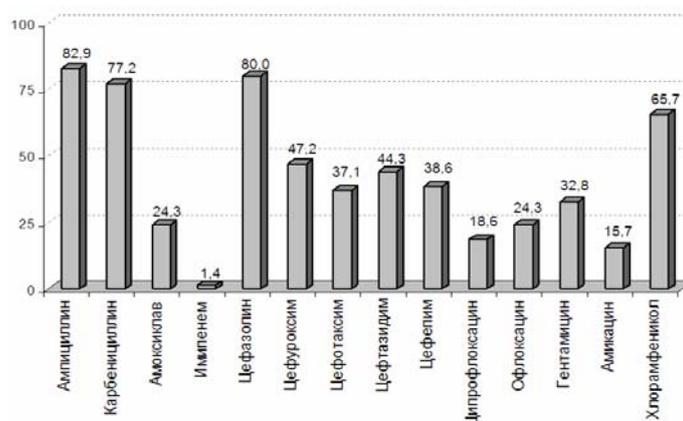


Рисунок 1 — Частота выделения нечувствительных к антибиотикам штаммов *E. coli*, %

Из представленных данных видно, что наибольшей активностью в отношении исследованных штаммов *E. coli* обладали имипенем, ципрофлоксацин, офлоксацин, амикацин и амокси-

циллин/клавуланат. Наименьшая частота резистентности выявлена к имипенему: нечувствительным был 1 (1,4 %) штамм *E. coli*, который обладал промежуточным уровнем устойчивости.

К ципрофлоксацину количество нечувствительных штаммов *E. coli* составило 13 (18,6 %). Из них умеренно резистентным был 1 (1,4 %) штамм, резистентными — 12 (17,2 %) штаммов. Офлоксацин незначительно уступает ципрофлоксацину в активности.

Активность ампициллина была самой низкой из всех антибактериальных препаратов, включенных в исследование. Нечувствительными к данному препарату были 58 (82,9 %) штаммов *E. coli*. Из нечувствительных микроорганизмов большинство штаммов были резистентны и только 2,9 % обладали промежуточным уровнем резистентности к ампициллину. Карбенициллин также характеризовался низкой активностью. Чувствительными к нему были 16 (22,8 %) исследуемых изолятов *E. coli*, умеренно резистентными — 3 (4,3 %), резистентными — 51 (72,9 %).

Из антибактериальных препаратов группы пенициллинов наиболее активны в отношении штаммов *E. coli* были ингибиторозащищенные пенициллины (амоксциллин/клавуланат). Так, резистентными к амоксициллину/клавуланату были 12,9 % изолятов, умеренно резистентными — 11,4 %.

Из цефалоспоринов наибольшей активностью обладали цефотаксим и цефепим. Нечувствительными к цефотаксиму были 26 (37,1 %) штаммов *E. coli*, из которых резистентными являлись 15 (21,4 %), умеренно резистентными —

11 (15,7 %). Количество нечувствительных к цефепиму штаммов *E. coli* составило 38,6 %.

Нечувствительными к цефуроксиму были 33 (47,2 %) изолятов *E. coli*. Их них 10 (14,35 %) обладали промежуточным уровнем резистентности, а 23 (32,9 %) были резистентными. Цефазолин значительно уступал цефалоспорином II–IV поколений в активности. Так, чувствительными к цефазолину были 20 % штаммов *E. coli*, резистентными — 67,1 %, умеренно устойчивыми — 12,9 %.

Из аминогликозидов наибольшей активностью отличался амикацин. Количество нечувствительных к нему штаммов *E. coli* составило 11 (15,7 %). Из них промежуточным уровнем резистентности обладали 7 (10,0 %) штаммов, резистентными были 4 (5,7 %) штамма. Гентамицин уступал амикацину в активности. Нечувствительными к гентамицину были 23 (32,8 %) изолятов *E. coli*, причем 8 (11,4 %) обладали промежуточным уровнем устойчивости, а 15 (21,4 %) были резистентны.

Хлорамфеникол характеризовался низкой активностью. Нечувствительными к нему были 46 (65,7 %) исследуемых штаммов, из которых резистентными являлись 31 (44,3 %), умеренно резистентными — 15 (21,4 %).

Результаты определения антибиотикорезистентности диско-диффузионным методом изолятов *Proteus spp.* и *K. pneumoniae* представлены в таблицах 2–3.

Таблица 2 — Резистентность штаммов *Proteus spp.* (n = 35) к антибактериальным препаратам

Антибиотик	Чувствительные		Умеренно резистентные		Резистентные	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Ампициллин	10	28,6	1	2,9	24	68,5
Карбенициллин	11	31,4	2	5,7	22	62,9
Амоксиклав	26	74,3	5	14,3	4	11,4
Цефазолин	12	34,3	1	2,9	22	62,8
Цефуроксим	19	54,3	1	2,9	15	42,8
Цефотаксим	25	71,4	3	8,6	7	20,0
Цефтазидим	26	74,3	3	8,6	6	17,1
Цефепим	30	85,7	3	8,6	2	5,7
Имипенем	35	100	0	0	0	0
Ципрофлоксацин	30	85,7	1	2,9	4	11,4
Офлоксацин	31	88,5	1	2,9	3	8,6
Гентамицин	19	54,3	1	2,9	15	42,8
Амикацин	31	88,6	0	0	4	11,4
Хлорамфеникол	15	42,8	3	8,6	17	48,6

Таблица 3 — Резистентность штаммов *K. pneumoniae* (n = 10) к антибактериальным препаратам

Антибиотик	Чувствительные		Умеренно резистентные		Резистентные	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%
Ампициллин	1	10,0	2	20,0	7	70,0
Карбенициллин	1	10,0	0	0	9	90,0
Амоксиклав	7	70,0	1	10,0	2	20,0
Цефазолин	5	50,0	2	20,0	3	30,0
Цефуроксим	6	60,0	0	0	4	40,0
Цефотаксим	7	70,0	1	10,0	2	20,0
Цефтазидим	7	70,0	2	20,0	1	10,0
Цефепим	8	80,0	2	20,0	0	0
Имипенем	9	90,0	1	10,0	0	0
Ципрофлоксацин	9	90,0	0	0	1	10,0
Офлоксацин	10	100,0	0	0	0	0
Гентамицин	6	60,0	1	10,0	3	30,0
Амикацин	9	90,0	1	10,0	0	0
Хлорамфеникол	3	30,0	2	20,0	5	50,0

Наибольшей активностью в отношении исследованных штаммов *Proteus spp.* обладали имипенем, офлоксацин, ципрофлоксацин, амикацин, цефепим, цефтазидим и цефотаксим.

Наибольшей активностью в отношении исследованных штаммов *K. pneumoniae* обладали офлоксацин, ципрофлоксацин, имипенем, амикацин и цефепим.

С использованием метода «двойных дисков» проведена фенотипическая детекция β -лактамаз расширенного спектра (БЛРС) для 110 штаммов микроорганизмов (65 штаммов *E. coli*, 35 штаммов *Proteus spp.*, 10 штаммов *K. pneumoniae*).

Продукция БЛРС была выявлена у 29 из 65 (44,6 %) штаммов *E. coli*. В предыдущих испытаниях, выполненных с помощью стандартного диско-диффузионного метода, устойчивость к цефотаксиму и цефтазидиму обнаруживалась только у 17 из 29 (58,6 %) БЛРС-продуцирующих штаммов, устойчивость только к цефотаксиму — у 6 (20,7 %) штаммов, устойчивость только к цефтазидиму — у 4 (13,8 %) штаммов. 2 штамма *E. coli* (6,9 %) с подтвержденной продукцией БЛРС при предварительном исследовании диско-диффузионным методом были отнесены к категории «чувствительные» к цефотаксиму и цефтазидиму.

Таким образом, стандартные методы определения чувствительности не всегда позволяют выявить истинную резистентность БЛРС-продуцирующих штаммов, поскольку такие штаммы могут проявлять *in vitro* уровень устойчивости к современным цефалоспорином ниже установленных пограничных значений (чувствительность — умеренная резистентность). Показана необходимость проведения дополнительного фенотипического теста (метод «двойных дисков») для выявления устойчивости к антибиотикам, опосредованной продукцией БЛРС.

Продукция БЛРС была выявлена у 5 (50%) штаммов *K. pneumoniae*. Из них 2 штамма ранее были охарактеризованы как «чувствительные» к цефотаксиму и цефтазидиму при использовании стандартного диско-диффузионного метода.

Продукция БЛРС была выявлена у 15 (42,9 %) штаммов *Proteus spp.* (у 2 из них, или 13,3 % стандартный диско-диффузионный метод не позволил обнаружить устойчивости к цефтазидиму и цефотаксиму).

Для всех штаммов с подтвержденной продукцией БЛРС отмечено увеличение диаметров зон подавления роста при добавлении клавулановой кислоты (синергизм) в отношении обоих цефалоспоринов.

Для 49 культур энтеробактерий с подтвержденным БЛРС-фенотипом (*E. coli* — 29 штаммов, *K. pneumoniae* — 5 штаммов, *Proteus spp.* — 15 штаммов) проведена геноиндикация БЛРС различных классов (TEM, OXA, SHV, CTX-M)

с использованием полимеразной цепной реакции в реальном времени.

Ни у одного из 49 исследуемых штаммов и в негативном контроле *E. coli* ATCC 25922 бета-лактамазы расширенного спектра класса OXA обнаружены не были (OXA –). Таким образом, выявленная скрининговым фенотипическим методом БЛРС-активность исследуемых штаммов не была обусловлена наличием OXA-генов.

У 38 из 49 исследуемых штаммов амплифицировался участок гена *bla*_{TEM}, однако нуклеотидных замен в 104 позиции, придающих БЛРС-активность, выявлено не было (WT, дикий тип). Таким образом, выявленные у 38 исследуемых изолятов гены *bla*_{TEM} не имели нуклеотидных замен, придающих расширенную бета-лактамазную активность (WT, дикий тип), что позволило отнести их к генетической группе TEM-1.

У всех исследованных штаммов *Proteus spp.* и *E. coli* (не зависимо от наличия или отсутствия фенотипически определяемой БЛРС-активности) гены *bla*_{SHV} не детектировались. Проведенное исследование обнаружило присутствие *bla*_{SHV}-генов как у БЛРС-позитивных, так и БЛРС-негативных штаммов *K. pneumoniae*. Анализ кривых плавления зондов не выявил точечных мутаций в анализируемых кодонах (179, 238-240) *bla*_{SHV}-генов исследуемых штаммов клебсиелл (WT, дикий тип). Таким образом, выявленные у 5 штаммов *K. pneumoniae* *bla*_{SHV}-гены относятся к генетической группе SHV-1 (плазмидно-кодируемые пенициллиназы SHV-1, не обладающие расширенным спектром активности в отношении бета-лактамов антибиотиков).

У 14 штаммов *E. coli*, 8 штаммов *P. mirabilis* и 5 штаммов *K. pneumoniae* обнаружен продукт амплификации длиной около 97 п.н. с температурой плавления около 82,8–83,0 °С. Аналогичный ПЦР-продукт амплифицировался для позитивного контроля *E. coli* (CTX-M-3, генетическая группа CTX-M-1). У 2 штаммов *E. coli* обнаружен продукт амплификации длиной 518 п.н. с температурой плавления около 91 °С. Аналогичный ПЦР-продукт амплифицировался для позитивного контроля *E. coli* (CTX-M-14, генетическая группа CTX-M-9). Проведенное исследование обнаружило присутствие *bla*_{CTX-M}-генов двух генетических кластеров (CTX-M-1 и CTX-M-9) среди штаммов *E. coli*, *P. mirabilis* и *K. pneumoniae* с подтвержденной фенотипической БЛРС-активностью.

С учетом полученных в ходе исследования данных об уровнях устойчивости возбудителей пиелонефритов к антибактериальным препаратам различных групп, данных о распространенности продуцентов бета-лактамаз расширенного спектра среди возбудителей разработан алгоритм микробиологической диагностики и рациональной антибактериальной терапии пиелонефритов.

I. Бактериологическое исследование мочи (по возможности до начала антибактериальной терапии).

Исследование включает:

1) выделение возбудителя количественным методом и его идентификация;

2) определение чувствительности диско-диффузионным методом к следующим антибактериальным препаратам: ампициллин, амоксициллин/клавуланат, цефотаксим или цефтриаксон, гентамицин, ципрофлоксацин или офлоксацин.

Дополнительно (при осложненных инфекциях мочевыводящих путей или неэффективности стартовой эмпирической терапии) определяется чувствительность к препаратам: цефепим, меропенем или имипенем, цефоперазон/сульбактам, тикарциллин/клавуланат; амикацин.

3) определение продукции бета-лактамаз расширенного спектра (БЛРС) фенотипическим методом «двойных» дисков.

При выявлении в фенотипическом тесте продукции БЛРС должна быть проведена коррекция антибиотикограммы: для аминопенициллинов и цефалоспоринов I–IV поколений (за исключением ингибиторзащищенных) категории «S» и «I» (чувствительный и умеренно устойчивый) изменяется на «R» — устойчивый.

II. Стартовая эмпирическая антибактериальная терапия:

- фторхинолон (ципрофлоксацин или офлоксацин, при уровне устойчивости основных возбудителей не более 15 % по данным локального микробиологического мониторинга);

- ингибиторзащищенный аминопенициллин (амоксициллин/клавуланат).

III. Коррекция эмпирической терапии при неэффективности стартовой терапии (отсутствии улучшения через 72 часа от начала антибактериальной терапии):

- фторхинолон (если не использовался для стартовой терапии);

- ингибиторзащищенный уреидопенициллин;

- карбапенем;

- комбинированная терапия (амикацин + ингибиторзащищенный аминопенициллин или амикацин + фторхинолон).

Антибактериальные препараты, не рекомендуемые для проведения эмпирической терапии пиелонефрита:

- аминопенициллины (амоксициллин, ампициллин);

- ко-тримоксазол (может назначаться только при доказанной чувствительности к нему возбудителя);

- цефалоспорины I–III поколений (в связи с широким распространением продуцентов БЛРС среди возбудителей инфекций мочевыводительной системы).

IV. Этиотропная антибактериальная терапия — коррекция схемы антибиотикоте-

рапии при получении результатов выявления чувствительности к антибиотикам и определения продукции БЛРС.

V. Повторное микробиологическое исследование мочи:

- на 5-й день от начала антибактериальной терапии;

- через 10 дней после завершения антибактериальной терапии (контроль микробиологической санации).

Заключение

С использованием диско-диффузионного метода установлена широкая распространенность устойчивости к β -лактамам и не- β -лактамам антибиотикам. Так, 83 % штаммов *E. coli* были нечувствительны к ампициллину, 37–44 % штаммов — к цефалоспорином III поколения.

У 44,6 % штаммов *E. coli*, 50 % штаммов *K. pneumoniae* и 42,9 % штаммов *Proteus spp.* с использованием фенотипического скринингового метода выявлена продукция БЛРС. Причем 12,2 % БЛРС-положительных штаммов ранее были охарактеризованы как «чувствительные» к цефотаксиму и цефтазидиму при использовании стандартного диско-диффузионного метода. Установлено, что стандартные методы определения чувствительности не всегда позволяют выявить истинную резистентность БЛРС-продуцирующих штаммов, поскольку такие штаммы могут проявлять *in vitro* уровень устойчивости к современным цефалоспорином ниже установленных пограничных значений. В связи с этим показана необходимость проведения дополнительных фенотипических тестов для выявления устойчивости к антибиотикам, опосредованной продукцией БЛРС.

Показано, что определяемая скрининговым фенотипическим методом БЛРС-активность исследуемых штаммов не была обусловлена наличием ОХА-генов. Обнаружены *bla_{SHV}*-гены у изолятов *K. pneumoniae*, относящиеся к генетической группе SHV-1 (плазмидно-кодируемые пенициллиназы SHV-1), не обладающие расширенным спектром активности в отношении бета-лактамов антибиотиков. Выявленные у большинства БЛРС-положительных изолятов энтеробактерий гены *bla_{TEM}* не имели нуклеотидных замен, придающих расширенную бета-лактамазную активность (WT, дикий тип), что позволило отнести их к генетической группе TEM-1.

Проведенное исследование обнаружило присутствие *bla_{CTX}*-генов двух генетических кластеров (CTX-M-1 и CTX-M-9) среди штаммов *E. coli*, *P. mirabilis* и *K. pneumoniae* с подтвержденной фенотипической БЛРС-активностью.

Таким образом, бета-лактамазная активность расширенного спектра у клинических изолятов энтеробактерий — возбудителей пиелонефритов опосредована наличием генов CTX-M (кластеры CTX-M-1 и CTX-M-9). Наличие генов бета-

лактамаз других типов (TEM, SHV), как правило, не связано с расширением бета-лактамазной активности в связи с отсутствием нуклеотидных замен в соответствующих позициях.

Полученные в ходе исследования данные об уровнях и механизмах устойчивости энтеробактерий к антибактериальным препаратам различных групп стали основой для разработки алгоритма микробиологической диагностики и рациональной антибактериальной терапии пиелонефритов.

БИБЛИОГРАФИЧЕСКИЙ СПИСОК

1. Чиж, А. С. Практическое руководство по нефрологии / А. С. Чиж. — Минск: Выш. шк., 2001. — 639 с.
2. Люлько, А. В. Пиелонефрит / А. В. Люлько, Б. С. Горев, П. С. Кондрат. — Киев: Здоров'я, 1989. — 227 с.
3. Борисов, И. А. Пиелонефрит и его лечение на современном этапе / И. А. Борисов // Терапевтический архив. — 1997. — № 8. — С. 49–54.
4. Лоран, О. Б. Роль урогенитальных инфекций в этиологии цистита и необструктивного пиелонефрита у женщин (часть 1) / О. Б. Лоран, Л. А. Синякова, И. В. Косова // Урология. — 2005. — № 2. — С. 74–79.
5. Тиктинский, О. Л. Пиелонефриты / О. Л. Тиктинский, С. Н. Калинина. — СПб: Медиа Пресс, 1996. — 238 с.
6. Методические указания по определению чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам (МУК 4.2 1890 – 2004 г.) // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2004. — Т. 6, № 4. — С. 306–359.
7. Саркулова, М. Н. Характер и этиологическая структура внутрибольничной инфекции у урологических больных / М. Н. Саркулова // Урология. — 2006. — № 1. — С. 19–22.
8. European perspective on nosocomial urinary tract infection / E. Bouza [et al.] // Clinical Microbiology and Infection. — 2001. — № 7. — P. 523–531.

9. Антибактериальная терапия неосложненного острого цистита и пиелонефрита у взрослых. Пособие для врачей / Н. А. Лопаткин [и др.] // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. — 2000. — Т. 2, № 1. — С. 69–76.

10. Резистентность возбудителей амбулаторных инфекций мочевыводящих путей по данным многоцентровых микробиологических исследований УТИАР-I и УТИАР-II / В. В. Рафальский [и др.] // Урология. — 2004. — № 2. — С. 13–17.

11. Antibiotic sensitivity of bacteria associated with community-acquired urinary tract in Britain / S. P. Barrett [et al.] // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. — 1999. — Vol. 44. — P. 359–365.

12. A UK Multicentre Study of the Antimicrobial Susceptibility of Bacterial Pathogens Causing Urinary Tract Infection / D. J. Farrell [et al.] // Journal of Infection. — 2003. — Vol. 46. — P. 94–100.

13. Kahlmeter, G. An international survey of the antimicrobial susceptibility of pathogens from uncomplicated urinary tract infections: the ECO.SENS Project / G. Kahlmeter // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. — 2003. — Vol. 51 (1). — P. 69–76.

14. Trends in antimicrobial resistance among urinary tract infection isolates of *Escherichia coli* from female outpatients in the United States / J. A. Karlowsky [et al.] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. — 2002. — Vol. 46 (8). — P. 2540–2545.

15. Change of antimicrobial susceptibility among *Escherichia coli* strains isolated from female patients with community-onset acute pyelonephritis / S. K. Lim [et al.] // Yonsei Med J. — 2012. — Vol. 53 (1). — P. 164–171.

16. Практическое руководство по антиинфекционной химиотерапии / Под ред. Л. С. Страчунского, Ю. Б. Белоусова, С. Н. Козлова. — М.: Объединенная редакция «Боргес», 2002. — 381 с.

17. Antimicrobial susceptibility of global inpatient urinary tract isolates of *Escherichia coli*: results from the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) program: 2009–2010 / D. J. Hoban [et al.] // Diagnostic Microbiology and Infectious Disease. — 2011. — Vol. 70. — P. 507–511.

Поступила 20.06.2012

УДК 616.147.23:616.136/.137]-092.9

СРАВНИТЕЛЬНАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА МОРФОФУНКЦИОНАЛЬНЫХ СВОЙСТВ РАЗЛИЧНЫХ ЗАМЕНИТЕЛЕЙ СОСУДОВ ПРИ ВКЛЮЧЕНИИ В АРТЕРИАЛЬНЫЙ КРОВОТОК В УСЛОВИЯХ ЭКСПЕРИМЕНТА

А. А. Лызиков, С. Л. Ачинович

Гомельский государственный медицинский университет
Гомельский областной клинический онкологический диспансер

Статья посвящена изучению морфофункциональных свойств бедренной вены в сравнении с большой подкожной веной и искусственным протезом при включении в артериальный кровоток в условиях эксперимента. Материалом служили десять экспериментальных животных — беспородных собак, которым в бедренные артерии имплантировали комбинированные заплатки, состоящие из бедренной и подкожной вен и искусственного протеза. Забор материала осуществляли через 3, 6, 9 и 12 месяцев после операции. Проводили иммуногистохимическое исследование полученного морфологического материала. Определяли степень развитости микроциркуляторного русла перимизия крупных сосудов как один из критериев оценки функционирования трансплантируемого сосуда.

В результате исследования выявлены основные закономерности пребывания исследуемых кондуитов в артериальном кровотоке.

Ключевые слова: артериальные реконструкции, бедренная вена, поверхностная вена, искусственный протез сосуда, инфекция сосудистого протеза.

COMPARATIVE CHARACTERISTICS OF THE MORPHOFUNCTIONAL FEATURES OF DIFFERENT VASCULAR SUBSTITUTES IN EXPERIMENTAL INCLUSION INTO THE ARTERIAL BLOOD FLOW

A. A. Lyzikov, S. L. Achinovich

Gomel State Medical University
Gomel Regional Clinical Oncologic Dispensary

The article is devoted to the study of morphofunctional features of femoral vein in comparison with great subcutaneous vein and vascular prosthesis in experimental inclusion into the arterial blood flow. Ten mongrels were used as subjects of the experiment. They were implanted combined patches consisting of femoral and subcutaneous veins and artificial prosthesis into the femoral artery.