

УДК 616.61-002.3-036.1-06:616.379-008.64]-085.33+615.015.8

DOI: 10.15587/2313-8416.2015.47376

ОПТИМИЗАЦИЯ АНТИБИОТИКО-ТЕРАПИИ БОЛЬНЫХ ХРОНИЧЕСКИМ ПИЕЛОНЕФРИТОМ, КОТОРЫЙ СОЧЕТАЕТСЯ С САХАРНЫМ ДИАБЕТОМ 2 ТИПА ПУТЕМ ОЦЕНКИ ЭКСПРЕССИИ ПЛАЗМИДНЫХ ГЕНОВ РЕЗИСТЕНТНОСТИ

© О. И. Чуб, А. В. Бильченко

Изучена распространенность плазмид-индуцированных механизмов резистентности у пациентов, страдающих хроническим пиелонефритом на фоне сахарного диабета 2 типа; установлены взаимосвязи резистентности in vitro к антибактериальным препаратам с наличием различных типов плазмидных генов устойчивости; разработаны методы дифференцированного назначения антибиотико-терапии больных хроническим пиелонефритом, который протекает на фоне сахарного диабета 2 типа в зависимости от экспрессии различных типов плазмидных генов устойчивости

Ключевые слова: хронический пиелонефрит, сахарный диабет 2 тип, антибиотико-терапия, резистентность, плазмиды, гены

The resistance caused by the transfer of resistance genes among the uropathogens with a help of plasmids in the treatment of chronic pyelonephritis (CP) combined with diabetes mellitus type 2 (DM) increased last years.

The aim of research was an optimization of methods of differentiated prescription of antibiotic therapy (ABT) for patients with CP and contaminant DM type 2 depending on expression of plasmid-induced genic mechanisms of antibiotic resistance.

Methods. There were examined 105 patients with chronic pyelonephritis, 73 of them – against the background of DM type 2. The sensitivity of isolated cultures to antibiotics was carried out by the disco-diffuse method of Bauer-Kirbi on the medium of Hinton-Muller using commercial discs. The study of plasmid-induced mechanisms of resistance was carried out by the method of polymerase chain reaction (PCR).

Results. Detectability of plasmid-induced mechanisms in patients with CP and DM type 2 is 31,5%. B-lactamase of extended spectrum (β LES) – were the most diffuse detected genes. The highest inhibitory activity against the strains with plasmid genes was shown by meropenem, fosfomicyn, nitroloxinum, 4th generation of cephalosporins and the 3th generation of fluoroquinolones. According to received results it was elaborated an algorithm of differentiated prescription of ABT for patients with CP and DM type 2 depending on expression of plasmid-induced resistance genes.

Conclusions. There was studied the prevalence of plasmid-induced resistance mechanisms and elaborated the methods for increase an efficiency of empirical ABT for patients with CP and contaminant DM type 2

Keywords: chronic pyelonephritis, diabetes mellitus type 2, antibiotic therapy, resistance, plasmids, genes

1. Введение

Хронический пиелонефрит (ХП) в структуре причин хронической болезни почек V ст. (ХБП), по данным официального реестра больных с ХБП в Украине, занимает ведущую позицию [1].

У пациентов с сахарным диабетом (СД), ХП диагностируется практически у каждого 2-го больного, что в 2–3 раза чаще, чем в общей популяции [2]. Кроме того, у пациентов с сахарным диабетом (СД), ХП, в большинстве случаев, протекает бессимптомно, что может привести к серьезному повреждению почек с развитием почечной недостаточности. Атипичные и резистентные ХП также чаще встречаются у пациентов с СД [3]. Эффективность лечения ХП лимитируется формированием устойчивости к антибактериальным препаратам (АБП), которая в последние годы связана с плазмид-индуцированным трансфером генов устойчивости [4, 5]. Поэтому оптимизация методов дифференцированного назначения АБТ больным ХП на фоне СД 2 типа является актуальным заданием современной медицины.

2. Обоснование исследования

«Эмпирическая» АБТ продолжает оставаться основой лечения больных с инфекциями мочевой системы [6]. В последние годы снижается эффективность «эмпирической» АБТ, связанная с быстрым глобальным увеличением распространенности резистентности Грамм-отрицательных патогенов в результате горизонтального переноса генов между бактериями с помощью плазмид, ответственных за одновременную резистентность к большому количеству антибиотиков [7]. Плазмид-индуцированная резистентность к β -лактамам обусловлена продукцией β -лактамаз расширенного спектра (β ЛРС), основные типы представлены генами blaTEM, blaSHV, blaCTX-M [8]. Плазмид-индуцированная резистентность к фторхинолонам возникает вследствие наличия: протеинов Qnr, аминогликозид ацетилтрансферазы AAC(6')-Ib-cr и *efflux pump* QerA и OqxAB [9]. Несмотря на существующие исследования в этой области, малоизученной остается проблема антибиотико-терапии (АБТ) больных ХП и сопутствующим СД

2 типа в зависимости от наличия плазмидных генов устойчивости.

3. Цель исследования

Оптимизация методов дифференцированного назначения АБТ больным ХП и сопутствующим СД 2 типа в зависимости от экспрессии плазмид-индуцированных генных механизмов антибиотикорезистентности.

4. Материалы и методы

Было обследовано 105 больных ХП, из них 73 – с сопутствующим СД 2 типа (I группа) и 32 пациента с ХП без диабета (II группа). Среди обследованных было 91 (86,7 %) женщина и 14 (13,3 %) мужчин, средний возраст составил 56,9±1,7 лет. По стадиям ХБП, больные были распределены следующим образом: ХБП I ст. диагностирована у 21 (20 %) больного, ХБП II ст. – у 28 (26,7 %) пациентов, ХБП III ст. – у 27 (25,7 %) и ХБП IV ст. – 29 (27,6 %). Стадию ХБП определяли по уровню скорости клубочковой фильтрации (СКФ) по формуле СКД-ЕРІ (KDIGO 2012) [10]. Исследование плазмид-индуцированных механизмов резистентности проводили методом полимеразной цепной реакции (ПЦР) [11]. Статистическую обработку данных проводили с помощью программы Statistica 6.0., в исследовании использовались параметрические и непараметрические методы. Лечение ХП проводили согласно действующих клинических рекомендаций [6]. В зависимости от вида эмпирического АБП больные были разделены на 3 группы: группа А (40 пациентов) – получали фторхинолоны (левофлоксацин) 500 мг/сутки в виде внутривенных инфузий, группа В (42 пациента) – цефалоспорины (цефтриаксон, цефепим) 2,0 в сутки в виде внутривенных инъекций и группа С (23 пациента) – комбинацию вышеуказанных препаратов.

5. Результаты исследования

Выявляемость плазмид-индуцированных механизмов резистентности среди обследованных пациентов составляет 29,5 % (31/105): 19 % за счет βЛРС, 9 % – составляют гены устойчивости к фторхинолонам и у 2 % выявилась комбинация указанных генов. У пациентов с ХП и СД 2 типа частота выявления плазмидных генов устойчивости была несколько выше – 31,5 % (23/73), тогда как у пациентов без диабета – 25 % (8/32), однако достоверных отличий между группами не выявлено (рис. 1).

Следующим этапом нашего исследования было изучение взаимосвязи резистентности in vitro к АБП с наличием плазмидных генов устойчивости. Установле-

но, что резистентность in vitro к аминопенициллинам, цефалоспорином и фторхинолонам была достоверно связана с наличием в штаммах плазмидных βЛРС типов blaCTX-M, blaTEM, blaSHV и генов устойчивости к фторхинолонам. Резистентность к аминогликозидам была достоверно связана с выявлением blaCTX-M и генов устойчивости к фторхинолонам (QnrA и QerA). Кроме того, была выявлена перекрестная резистентность к цефалоспорином, достоверно связанная с выявлением генов QnrA и AAC(6′)-Ib-cr. Наибольшую ингибирующую активность против βЛРС-продуцирующих микроорганизмов проявили меропенем, фосфомицин, нитроксолин, 3–4 генерация цефалоспоринов, 3-е поколение фторхинолонов; против штаммов с генами устойчивости к фторхинолонам – меропенем, фосфомицин, ко-тримоксазол, 3–4 генерация цефалоспоринов (рис. 2).

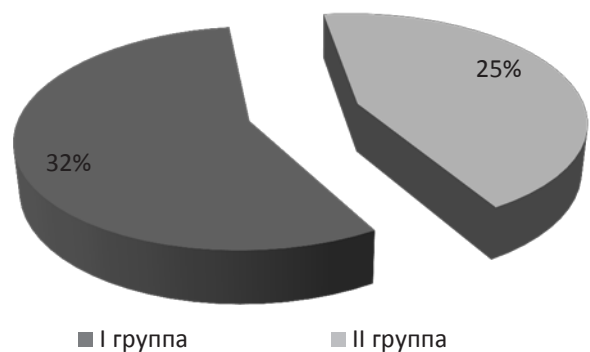


Рис. 1. Выявление плазмид-индуцированных механизмов у больных ХП и сопутствующим СД 2 типа и без него

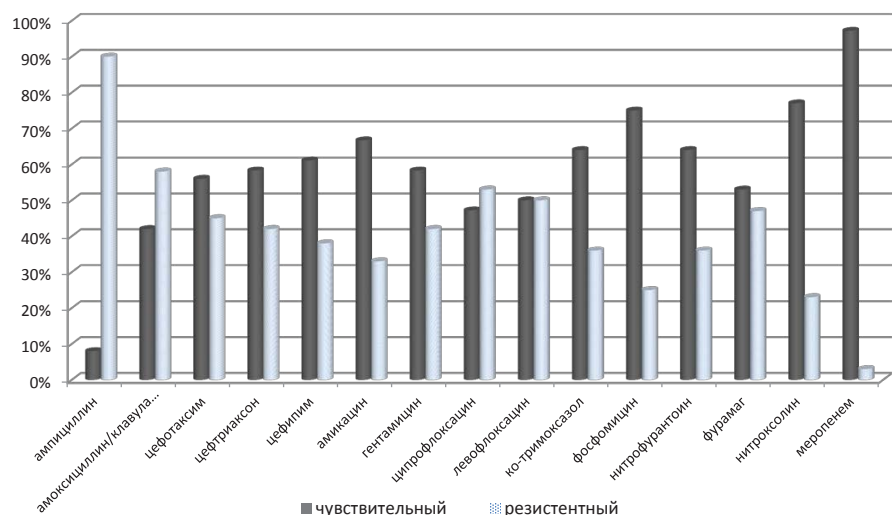


Рис. 2. Уровни чувствительности/резистентности штаммов с выявленными плазмидными генами устойчивости

Была проанализирована выявляемость плазмидных генов резистентности у обследованных пациентов в зависимости от вида эмпирического АБП с целью рационализации эмпирической АБТ. Установлено, что у пациентов, получавших эмпирически фторхинолоны, удельный вес генов устойчивости составил

41,7 %, цефалоспорины – 43,9 %, тогда как комбинацию фторхинолоны/цефалоспорины – 40 % (рис. 3).

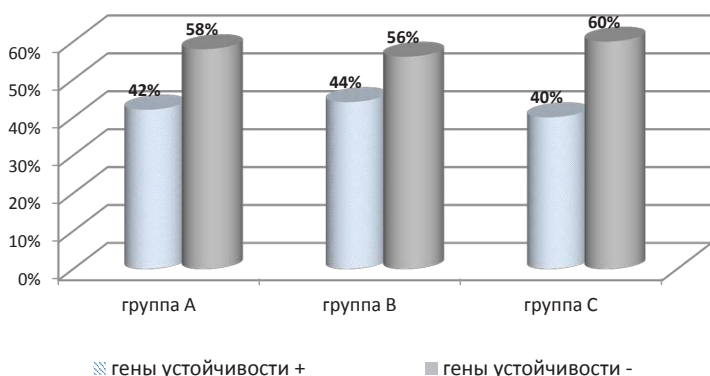


Рис. 3. Выявление плазмидных генов резистентности в зависимости от вида эмпирического АБП у больных ХП и СД 2 типа

По типам выявленных генов, в группе А, удельный вес как плазмидных βЛРС, так и генов устойчивости к фторхинолонам, не отличался и составил 20,8 %; в группе В и группе С – преобладали β-лактамазы расширенного спектра с частотой выявления 29,3 % и 32,5 % соответственно (табл. 1).

Таким образом, учитывая высокую распространенность плазмид-индуцированных механизмов

резистентности у больных ХП и сопутствующим СД 2 типа, данные чувствительности/резистентности in vitro к АБП и влияние разных видов АБТ на колонизацию мочевой системы бактериями с плазмидными механизмами резистентности, был разработан алгоритм дифференцированного назначения АБТ больным ХП и сопутствующим СД 2 типа в зависимости от экспрессии плазмид-индуцированных генов резистентности (рис. 4).

Таблица 1

Выявляемость различных типов плазмидных генов резистентности в зависимости от вида эмпирической АБТ у больных ХП и СД 2 типа

Гены	Группы		
	Группа А	Группа В	Группа С
blaCTX-M	2 (8,3 %)	3 (7,3 %)	6 (15 %)
blaTEM	3 (12,5 %)	4 (9,8 %)	4 (10 %)
blaSHV	0 (0,0 %)	5 (12,2 %)	3 (7,5 %)
QnrA	0 (0,0 %)	3 (7,3 %)	1 (2,5 %)
QepA	5 (20,8 %)	1 (2,4 %)	1 (2,5 %)
AAC(6')-Ib-cr	0 (0,0 %)	2 (4,9 %)	1 (2,5 %)

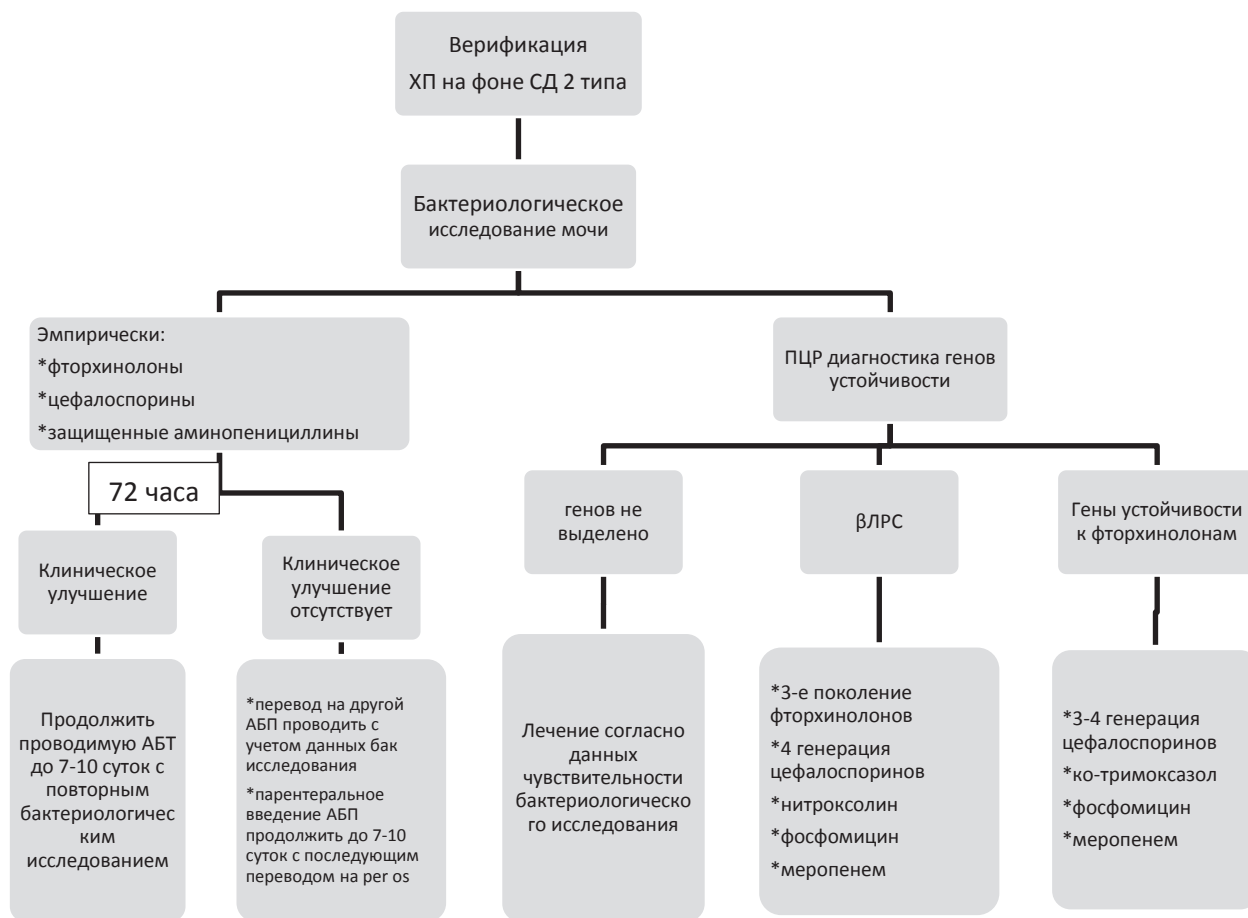


Рис. 4. Алгоритм дифференцированного назначения АБТ больным ХП и сопутствующим СД 2 типа в зависимости от наличия плазмид-индуцированных механизмов резистентности

6. Обсуждение результатов

Разработка методов дифференцированного назначения АБТ в зависимости от наличия плазмид-индуцированных механизмов резистентности, позволит повысить эффективность лечения ХП и предотвратить развитие осложнений. Кроме того, повышение эффективности лечения и рациональное применение антибиотиков позволит уменьшить количество рецидивов заболевания и новых случаев ХБП V ст., обусловленных ХП, уменьшить расходы на лечение и сроки госпитализации, и, наконец, предотвратить распространение индуцированной плазмидами антибиотико-резистентности среди бактериальных штаммов. В нашем исследовании были определены наиболее эффективные АБП против бактерий с плазмидными генами устойчивости и разработан алгоритм дифференцированного назначения АБТ у больных ХП на фоне СД 2 типа в зависимости от экспрессии плазмидных генов резистентности. Согласно рекомендациям EAU 2015, эмпирическими АБП при лечении ХП является парентерально фторхинолон (при наличии резистентности <10 %), третье поколение цефалоспоринов (при наличии резистентности <10 %), аминогликозид/карбапенемы в случае резистентности к фторхинолонам и цефалоспоринов >10 %; при выявлении штаммов с плазмидными βЛРС – карбапенемы/аминогликозиды [12]. Arne Søråas и соавт. демонстрируют благоприятный клинический исход при лечении фторхинолонами и цефалоспоридами, и отрицательный – при лечении мециллинамом, инфекции мочевой системы, вызванной бактериями с плазмидными механизмами резистентности [13].

Тогда как в исследовании, проведенном Florine N. J. и соавт., высокую эффективность в качестве эмпирической АБТ больных с выявленными плазмидными механизмами резистентности проявила комбинация β-лактамов/ингибиторов β-лактамаз и цефалоспоринов [14]. Наше исследование демонстрирует возможность назначения фторхинолонов/4-й генерации цефалоспоринов при выявлении βЛРС-продуцирующих штаммов и 3–4 поколения цефалоспоринов при выявлении генов устойчивости к фторхинолонам. Также высокую ингибирующую активность демонстрируют карбапенемы, фосфомицин, ко-тримоксазол, нитроксолин против штаммов с плазмидными механизмами резистентности, однако необходимо проведение дальнейших исследований для подтверждения полученных данных, и разработки более эффективных методов лечения с целью уменьшения распространения резистентности с помощью плазмид.

7. Выводы

1. Изучена распространенность плазмид-индуцированных механизмов резистентности среди пациентов, страдающих ХП на фоне СД 2 типа, которая составляет 31,5 %, по выявляемости доминируют гены βЛРС.

2. Установлены взаимосвязи резистентности *in vitro* выделенных уропатогенных штаммов к АБП в зависимости от экспрессии различных типов плазмидных генов устойчивости.

3. Оптимизированы методы дифференцированного назначения АБТ больным ХП на фоне СД 2 типа в зависимости от наличия плазмид-индуцированных механизмов резистентности.

Литература

1. Колесник, М. О. Медико-профілактична допомога хворим нефрологічного профілю 2009–2012, що робити далі? [Текст] / М. О. Колесник, Н. О. Сайдакова, Н. І. Козлюк, С. С. Ніколаєнко // Український журнал нефрології та діалізу. – 2013. – № 3 (39). – С. 3–14.
2. Колесник, Н. А. Почка и диабет: от понимания проблемы к своевременной и адекватной терапии [Текст] / Н. А. Колесник // Здоров'я України. – 2009. – № 13–14. – С. 13–15.
3. Srinivas, M. Clinical profile of urinary tract infections in diabetics and non-diabetics of urinary tract infections in diabetics and non-diabetic [Text] / M. Srinivas, U. K., Chandrashekar, K. N. Shivashankara, B. C. Pruthvi // Australasian Medical Journal. – 2014. – Vol 7, Issue 1. – P. 29–34. doi: 10.4066/amj.2014.1906
4. Колесник, М. О. Етіологічний спектр інфекцій сечової системи [Текст] / М. О. Колесник, Н. М. Степанова // Український журнал нефрології та діалізу. – 2007. – № 3 (15). – С. 16–29.
5. Carattoli, A. Plasmids in Gram negatives: molecular typing of resistance plasmids [Text] / A. Carattoli // International Journal of Medical Microbiology. – 2011. – Vol. 301, Issue 8. – P. 654–658. doi: 10.1016/j.ijmm.2011.09.003
6. Колесник, М. О. Адаптована клінічна настанова з кращої практики діагностики, лікування та профілактики інфекцій сечової системи у жінок [Текст] / М. О. Колесник, Н. М. Степанова, Л. О. Лебідь та ін. // Український журнал нефрології та діалізу. – 2012. – № 2 (34). – С. 53–77.
7. Curcio, D. Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections: Are you Ready for the Challenge? [Text] / D. Curcio // Curr Clin Pharmacol. – 2013. – № 12. – P.13–22.
8. Valenza, G. Extended-Spectrum-β-Lactamase-Producing Escherichia coli as Intestinal Colonizers in the German Community [Text] / G. Valenza, S. Nickel, Y. Pfeifer // Antimicrob Agents Chemother. – 2014. – Vol 58, Issue 2. – P. 1228–1230.
9. Poirel, L. Plasmid-mediated quinolone-resistance; interactions between human, animal and environmental ecologies [Text] / L. Poirel, V. Cattoir, P. Nordmann // Frontiers in Microbiology. – 2012. – Vol. 3, Issue 24. – P. 1–7. doi: 10.3389/fmicb.2012.00024
10. Колесник, М. О. Класифікація хвороб сечової системи для нефрологічної практики [Текст] / М. О. Колесник, І. Дудар, Н. Степанова та ін. // Український журнал нефрології та діалізу. – 2013. – № 4 (40). – С. 3–7.
11. Sundsfjord, A. Genetic methods for detection of antimicrobial resistance [Text] / A. Sundsfjord // DAHLAPMIS. – 2005. – Vol. 12. – P. 815–837.
12. Grabe, M. Guidelines on Urological Infections [Text] / M. Grabe // European Association of Urology. – 2015. – P. 182.
13. Soraas, A. High rate of per oral mecillinam treatment failure in community acquired urinary tract infections caused by ESBL-producing Escherichia coli [Text] / A. Soraas, A. Sundsfjord, S. B. Jørgensen, K. Liestøl, P. A. Jenum // PLoS One. – 2014. – Vol. 9, Issue 1. – P. e85889. doi: 10.1371/journal.pone.0085889

14. Frakking, F. N. Appropriateness of empirical treatment and outcome in bacteremia caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing bacteria [Text] / F. N. Frakking, W. C. Rottier, J. W. Dorigo-Zetsma, J. M. van Hattem et al. // *Antimicrob Agents Chemother.* – 2013. – Vol. 57, Issue 7. – P. 3092–3099.

References

1. Kolesnik, M. O., Saydakova, N. A., Kozlyuk, N. I., Nikolaenko, S. (2013). Medical and preventive care to patients Nephrology Profile 2009-2012 what should to do next? *Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis*, 3 (39), 3–14.
2. Kolesnik, N. A. (2009). Kidneys and Diabetes: from understanding the problem to timely and adequate therapy. *Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis*, 13–14, 13–15.
3. Srinivas M., Chandrashekar UK., Shivashankara, K. N., Pruthvi, B. C. (2014). Clinical profile of urinary tract infections in diabetics and non-diabetics. *AMJ*, 7 (1), 29–34. doi: 10.4066/amj.2014.1906
4. Kolesnik, M. O., Stepanova, N. (2007). Etiological range of urinary tract infections. *Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis*, 3 (15), 16–29.
5. Carattoli, A. (2011). Plasmids in Gram negatives: Molecular typing of resistance plasmids. *International Journal of Medical Microbiology*, 301 (8), 654–658. doi: 10.1016/j.ijmm.2011.09.003
6. Kolesnik, M. O., Dudar, I., Stepanova, N. et al. (2012). Adapted clinical instruction for the better practice of diagnosis, treatment and prevention of urinary tract infections in women. *Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis*, 2 (34), 53–77.
7. Curcio, D. (2013). Multidrug-Resistant Gram-Negative Bacterial Infections: Are you Ready for the Challenge? *Curr Clin Pharmacol.*, 12, 13–22.
8. Valenza, G., Nickel, S., Pfeifer, Y. (2014). Extended-Spectrum- β -Lactamase-Producing *Escherichia coli* as Intestinal Colonizers in the German Community. *Antimicrob Agents Chemother.*, 58 (2), 1228–1230.
9. Poirel, L., Cattoir, V., Nordmann, P. (2012). Plasmid-Mediated Quinolone Resistance; Interactions between Human, Animal, and Environmental Ecologies. *Frontiers in Microbiology*, 3 (24), 1–7. doi: 10.3389/fmicb.2012.00024
10. Kolesnik, M. O., Dudar, I., Stepanova, N. et al. (2013). Classification of the urinary tract diseases for nephrological practice. *Ukrainian Journal of Nephrology and Dialysis*, 4 (40), 3–7.
11. Sundsfjord, A. (2005). Genetic methods for detection of antimicrobial resistance. *DAHLAPMIS*, 12, 815–837.
12. Grabe, M. (2015). Guidelines on Urological Infections. *European Association of Urology*, 182.
13. Søråas, A., Sundsfjord, A., Jørgensen, S. B., Liestøl, K., Jennum, P. A. (2014). High Rate of Per Oral Mecillinam Treatment Failure in Community-Acquired Urinary Tract Infections Caused by ESBL-Producing *Escherichia coli*. *PLoS ONE*, 9 (1), e85889. doi: 10.1371/journal.pone.0085889
14. Frakking, F. N., Rottier, W. C., Dorigo-Zetsma, J. W., van Hattem, J. M. et al. (2013). Appropriateness of empirical treatment and outcome in bacteremia caused by extended-spectrum- β -lactamase-producing bacteria. *Antimicrob Agents Chemother.*, 57 (7), 3092–3099.

Дата надходження рукопису 15.06.2015

Чуб Ольга Игоревна, аспирант, кафедра терапії і нефрології, Харківська медична академія післядипломного освіти, ул. Корчагинцев, 58, г. Харків, Україна, 61176
E-mail: o.chub@mail.ru

Бильченко Александр Викторович, доктор медичних наук, професор, кафедра терапії і нефрології, Харківська медична академія післядипломного освіти, ул. Корчагинцев, 58, г. Харків, Україна, 61176
E-mail: bilchenko.post@gmail.com