

УДК 616.61/.62-002-074/.076

ХАРАКТЕРИСТИКА ШТАММОВ БАКТЕРИЙ, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ БОЛЬНЫХ С ИНФЕКЦИЯМИ МОЧЕВЫВОДЯЩИХ ПУТЕЙ

*Л.С. Бузолева^{1,2}, Н.А. Кузнецова¹*¹ НИИ эпидемиологии и микробиологии СО РАМН (690087 г. Владивосток, ул. Сельская, 1),² Дальневосточный государственный университет (690950 г. Владивосток, Суханова, 8)**Ключевые слова:** инфекции мочевыводящих путей, *Escherichia coli*, антибиотикочувствительность, плазмиды.

Изучено 96 штаммов микроорганизмов, выделенных от 104 амбулаторных больных с проявлениями патологии при инфекции мочевыводящих путей (ИМП): цистит, пиелонефрит и бессимптомная бактериурия. Установлено, что видовая структура возбудителей, вызвавших ИМП, в подавляющем большинстве представлена *Escherichia coli*. При этом штаммы, выделенные от больных с хронической формой ИМП, характеризовались низкой чувствительностью к антибиотикам и наличием плазмид с высокой молекулярной массой, а выделенные от больных с острой инфекцией – высокой чувствительностью к антибиотикам и наличием плазмид с низкой молекулярной массой.

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) относятся к одним из наиболее распространенных в амбулаторной практике урологов, акушеров-гинекологов, терапевтов. Распространенность ИМП в России составляет около 1000 случаев на 100 тыс. населения в год, при этом в амбулаторной практике чаще встречаются хронические формы ИМП [1].

Этиология внебольничных ИМП неосложненных форм (цистит, пиелонефрит) сравнительно хорошо изучена за последние десятилетия. Главной особенностью этих инфекций является достаточно прогнозируемый спектр возбудителей, на 85–95 % представленный бактериями рода *Enterobacteriaceae*, в основном *Escherichia coli* (70–95 % случаев) [9, 12]. Реже (15–20 % случаев) встречаются *Staphylococcus saprophiticus*, *Klebsiella pneumoniae*. Иногда ИМП могут вызываться другими энтеробактериями – протейями, серрациями, энтерококками, синегнойной палочкой [13]. При этом чаще всего устанавливается вид возбудителя, редко исследуются его биологические свойства (антибиотикочувствительность, плазмидный спектр и т.д.), что может оказать влияние на характер течения заболевания – острый или хронический. Данные по устойчивости уропатогенов к антибиотикам важны в первую очередь для адекватного эмпирического выбора терапии, известна также их региональная приуроченность [5, 10].

Целью настоящей работы послужил анализ биологических особенностей штаммов возбудителей, выделенных от пациентов с острыми и хроническими ИМП, обращавшихся в поликлиники Владивостока.

Материал и методы. Для исследования были взяты пробы мочи от 104 амбулаторных больных с диагнозами цистит, пиелонефрит и бессимптомная

бактериурия. Посев мочи проводили после центрифугирования в конических пробирках при 3000 об./мин в течение 5 мин, осадок (0,1 мл) высевали на чашки Петри со средой Эндо и помещали в термостат при 37 °C на сутки [1]. Для идентификации штаммов использовали общепринятые тесты [2] и API-тесты фирмы BioMerieux (Франция), предназначенные для ускоренной идентификации энтеробактерий до вида по биохимическим признакам. Определение чувствительности к антимикробным препаратам осуществляли с использованием стандартной среды АГВ, общепринятой для постановки теста чувствительности к антимикробным препаратам, и стандартные диски антибиотиков, полученные из Института антибиотиков (Санкт-Петербург) [3]. Интерпретация полученных результатов выполнялась согласно таблицам чувствительности микроорганизмов к антибиотикам, входящим в набор для определения чувствительности бактерий к антимикробным препаратам с помощью дисков.

Изучение плазмидного спектра 20 штаммов *E. coli* (10 штаммов – от больных с диагнозом «острый пиелонефрит» и 10 штаммов от больных с диагнозом «хронический пиелонефрит») проводили по методу Kado-Liu [11].

Статистическую обработку результатов исследования проводили с использованием программ Microsoft Excel и Statistica 6.0. Оценку достоверности различий определяли по t-критерию Стьюдента.

Результаты исследования. В ходе работ было выделено 96 штаммов микроорганизмов, которые были определены до вида. При анализе видовой структуры возбудителей частота встречаемости энтеробактерий в бактериальных изолятах превалировала. В подавляющем большинстве выделенные были штаммы представлены *E. coli* (табл. 1). Анализ видового разнообразия штаммов, изолированных от больных с хронической или острой формой ИМП, не позволил выделить доминирующие виды при той или иной форме процесса (табл. 2).

Полученные штаммы были исследованы на антибиотикочувствительность. В группу препаратов для данного эксперимента вошли антибиотики цикла тетрациклина (доксциклин), цефалоспорины (цефазолин), а также аминогликозидного (гентамицин, азитромицин) и фторхинолонового рядов (пемфлосацин, офлоксацин, ципрофлоксацин и ломефлоксацин) в соответствии с данными литературы [4].

Таблица 1

Соотношение микроорганизмов, выделенных от больных ИМП

Вид	Кол-во выделенных штаммов	
	абс.	%
<i>Escherichia cloaceae</i>	1	1,04
<i>Escherichia coli</i>	68	70,80
<i>Enterobacter eiguefaciens</i>	1	1,04
<i>Hafnia spp.</i>	4	4,20
<i>Klebsiella aeruginosa</i>	5	5,20
<i>Proteus mirabilis</i>	4	4,20
<i>Pseudomonas spp.</i>	1	1,04
<i>Serratia spp.</i>	1	1,04
<i>Staphylococcus spp.</i>	10	10,40
<i>Streptococcus spp.</i>	1	1,04
Всего:	96	100,00

Самым эффективным препаратом, к которому микроорганизмы, в том числе и *E. coli*, проявляли высокую чувствительность и просто чувствительность, оказался препарат цефалоспоринового ряда – цефазолин, который подавлял рост возбудителей почти в 85,5 % случаев, а также препарат аминогликозидного цикла – гентамицин (84,5 % случаев). Большая часть исследованных штаммов оказалась нечувствительна к доксициклину (79 %). Следует отметить, что у больных с хронической формой пиелонефрита лишь в 2 % случаев обнаружена высокая чувствительность к антибиотикам, в то время как при остром заболевании – в 33 % (табл. 3).

У штаммов с низкой чувствительностью к большинству использованных для исследования антибиотиков были обнаружены плазмиды с высокой молекулярной массой – от 46 до 90 МДа, в отличие от штаммов с высокой чувствительностью. А у штаммов с высокой чувствительностью к антибиотикам наблюдали плазмиды с более низкой молекулярной массой – от 1,1 до 22 МДа (табл. 3).

Обсуждение полученных данных. Изучение биологических свойств возбудителя в перспективе дает возможность избежать проблемы в лечении вызываемых ими ИМП. Анализ результатов показал, что среди микроорганизмов, выделяющихся как при острых, так и при хронических уретритах, доминирующим видом является *E. coli*, что совпадает с данными литературы [5, 10]. При этом вид возбудителя не влияет на развитие хронической или острой формы инфекции.

Подавляющее большинство выделенных штаммов *E. coli* были чувствительны к цефазолину и гентамицину – антибиотикам с широким спектром действия на различные виды как грамположительных, так и грамотрицательных микроорганизмов, что согласуется с результатами других исследований [5, 8].

Известны работы о региональной приуроченности штаммов, что, возможно, связано и со свойствами возбудителя [5, 7]. Так, при изучении

Таблица 2

Соотношение видов при разных формах течения инфекции

Вид	Кол-во выделенных штаммов, абс.	
	Хронические ИМП	Острые ИМП
<i>Enterobacter cloaceae</i>	0	1
<i>Escherichia coli</i>	35	33
<i>Klebsiella aeruginosa</i>	2	3
<i>Proteus mirabilis</i>	1	3
<i>Staphylococcus aureus</i>	1	6
<i>Staphylococcus spp.</i>	2	1
<i>Enterobacter eiguefaciens</i>	1	0
<i>Hafnia spp.</i>	2	2
<i>Pseudomonas spp.</i>	1	0
<i>Streptococcus spp.</i>	1	0
<i>Serratia spp.</i>	1	0

антибиотикочувствительности *E. coli*, мы установили, что этот микроорганизм практически в равной мере устойчив к гентамицину и ципрофлоксацину (6 и 5 % соответственно). В то же время доля штаммов *E. coli*, устойчивых к гентамицину, выделенных от больных ИМП в европейской части России (Москва, Санкт-Петербург, Смоленск, Нижний Новгород), больше, чем устойчивых к ципрофлоксацину (13 и 1 % соответственно) [5].

Если характеризовать антибиотикочувствительность штаммов, выделенных от больных с острой и хронической формой заболевания, то можно отметить, что в случае хронической инфекции штаммы оказались нечувствительными к большинству антибиотиков, а при острой форме характеризовались высокой чувствительностью.

Генетические механизмы, регулирующие жизнедеятельность возбудителя ИМП, как паразитического организма, базируются на явлении закрепления приспособленности к факторам среды за счет таких структур, как плазмиды. Плазмиды играют существенную роль в адаптации и устойчивости микроорганизмов к определенным факторам, в том числе антибиотикам [6]. По результатам исследования можно отметить, что от больных с острым проявлением ИМП выделены штаммы с высокой чувствительностью к антибиотикам и присутствием плазмид с низкой молекулярной массой (от 1,1 до 22 МДа). У пациентов с хронической формой заболевания выделенные штаммы характеризовались низкой чувствительностью к антибиотикам и наличием плазмид с высокой молекулярной массой (от 46 до 90 МДа).

Известно, что наличие плазмид у бактерий обеспечивает возможность адаптироваться к различным факторам среды. В частности, на кольцевой ДНК находятся гены, которые детерминируют такие признаки, как устойчивость к антибиотикам, к тяжелым металлам и другим поллютантам, способность продуцировать экзотоксины или бактериоцины [6].

Таблица 3

Антибиотикочувствительность и спектр плазмид у штаммов возбудителей, выделенных от больных с острой и хронической формой пиелонефрита

№ штамма	Диагноз	Антибиотик								Плазмиды, МДа
		1	2	3	4	5	6	7	8	
1144	ХП	нч	нч	нч	нч	нч	нч	нч	нч	22:77
1167	ХП	ч	ч	нч	ч	нч	ч	ч	ч	52
588	ХП	нч	ч	нч	нч	нч	нч	нч	нч	77
1337	ХП	нч	нч	нч	нч	нч	ч	нч	нч	77
152	ХП	ч	ч	ч	ч	ч	ч	нч	ч	29:77
522	ХП	нч	нч	ч	нч	ч	ч	нч	ч	46:77
1128	ХП	нч	нч	нч	ч	ч	нч	нч	нч	90
1396	ХП	в	нч	ч	нч	ч	в	нч	ч	19:52
1386	ХП	ч	ч	ч	нч	ч	ч	нч	ч	77
1381	ХП	ч	нч	ч	нч	ч	нч	нч	нч	71
1032	ОП	нч	ч	ч	ч	ч	ч	ч	нч	52
1207	ОП	ч	нч	ч	в	ч	в	ч	ч	6
1178	ОП	в	нч	ч	ч	ч	ч	нч	ч	41
253	ОП	ч	в	в	в	ч	в	ч	нч	без пл.
138	ОП	ч	в	в	в	нч	ч	ч	ч	21
273	ОП	ч	в	в	в	ч	в	ч	нч	8
1373	ОП	ч	в	в	ч	ч	в	нч	ч	без пл.
165	ОП	ч	в	ч	в	ч	в	ч	ч	без пл.
1050	ОП	в	в	в	в	в	в	в	в	1,1
656	ОП	ч	нч	в	в	в	в	ч	в	22

Примечание. ХП – хронический пиелонефрит, ОП – острый пиелонефрит, в – высокая чувствительность, ч – чувствительность, нч – нечувствительность. Антибиотики: 1 – цефазолин, 2 – азитромицин, 3 – гентамицин, 4 – пefлоксацин, 5 – офлоксацин, 6 – ципрофлоксацин, 7 – доксициклин, 8 – ломефлоксацин.

Обращает на себя внимание довольно высокая устойчивость (50% случаев) у *E. coli*, выделенной от хронических больных ИМП, к цефалоспорином III поколения, что может быть связано с продукцией плазмидных β -лактамаз [5].

Таким образом, наибольший процент высеваемости у больных ИМП составили штаммы *E. coli*. При этом штаммы, выделенные от больных с хронической формой патологии, характеризовались низкой чувствительностью к антибиотикам и наличием плазмид с высокой молекулярной массой, а от больных с острой инфекцией – высокой чувствительностью к антибиотикам и наличием плазмид с низкой молекулярной массой.

Литература

- Богомолов Ю.К. Дифференциальная диагностика инфекционных болезней. М.: Дизайн Пресс. 2000. 276 с.
- Определитель бактерий Берджи [в 2 т.]. Т. 1 / под ред. Дж. Холта, Н. Крига, П. Снита и др. / пер. с англ. М.: Мир, 1997. 432 с.
- Поляк М.С. Определение чувствительности микроорганизмов к противомикробным препаратам «Метод дисков». СПб.: НИЦ фармакотерапии, 1997. 21 с.
- Практические рекомендации по антибактериальной терапии инфекций мочевой системы внебольничного происхождения у детей: пособие для врачей / под ред. Л.С. Страчунского и Н.А. Коровиной. М., 2002. 22 с.
- Страчунский Л.С. Состояние антибиотикорезистентности в России // Клиническая фармакология. 2000. № 2. С. 6–9.
- Теновер Ф. Глобальная проблема антимикробной резистентности // Рус. мед. журн. 1996. № 4. С. 217–219.
- Шубин Ф.Н. Резиональное распределение штаммов *Yersinia pseudotuberculosis* на Дальнем Востоке // Микробиология. 2004. № 3. С. 5–7.
- Яковлев В.П. Цефалоспорины // Пульмонология. 1993. Прил. С. 7–11.
- Bacheller C.D., Bernstein J.M. Urinary tract infections // Med. Clin. North. Am. 1997. Vol. 81. P. 719–729.
- Caroll K.C., Hale D.C., Von Boerum D.H. Laboratory evaluation of urinary tract infections in an ambulatory clinic // Am. J. Clin. Pathol. 1994. Vol. 101. P. 100–103.
- Kado C.I. Liu S.T. Rapid procedure for detection and isolation of large and small plasmids // J. Bacteriol. 1981. Vol. 145. P. 1365–1373.
- Hooton T.M., Stamm W.E. Diagnosis and treatment of uncomplicated urinary tract infection // Infect. Dis. Clin. North. Am. 1997. Vol. 1. P. 551–581.
- Puigvert A. Urinary infection // Urol. Int. 1986. Vol. 41. P. 109–111.

Поступила в редакцию 19.11.2010.

CHARACTERISTICS OF STRAINS OF BACTERIA EDUCED FROM PATIENTS WITH URINARY TRACT INFECTIONS

L.S. Buzoleva^{1,2}, N.A. Kuznetsova²

Research Institute of Epidemiology and Microbiology of the Siberian Branch of the Russian Academy of Medical Sciences (1 Selskaya St. Vladivostok 690087 Russia), Far Eastern State University (8 Sukhanova St. Vladivostok 690950 Russia)

Summary – The authors studied 96 strains of microorganisms educed from 104 out-patients with the pathology of urinary tract infections like cystitis, pyelonephritis and asymptomatic bacteriuria, and found out that the species structure of the pathogens caused the urinary tract infections were mostly represented by *Escherichia coli*. The strains educed from the patients with the chronic urinary tract infections were characterized by low antibiotic sensitivity and plasmids with large molecular weight. The strains educed from the patients with the acute infection were characterized by high antibiotic sensitivity and plasmids with low molecular weight.

Key words: urinary tract infections, *Escherichia coli*, antibiotic sensitivity, plasmids.

Pacific Medical Journal, 2011, No. 1, p. 51–53.