**МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ’Я УКРАЇНИ**

**ХАРКІВСЬКА МЕДИЧНА АКАДЕМІЯ ПІСЛЯДИПЛОМНОЇ ОСВІТИ**

**КАФЕДРА ТЕРАПІЇ ТА НЕФРОЛОГІЇ**

На правах рукопису

**ЧУБ ОЛЬГА ІГОРІВНА**

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

**ОПТИМІЗАЦІЯ АНТИБІОТИКО-ТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПІЄЛОНЕФРИТ, ЩО ПОЄДНУЄТЬСЯ ІЗ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ, ШЛЯХОМ ОЦІНКИ ПЛАЗМІД-ІНДУКОВАНОЇ РЕЗИСТЕНТНОСТІ**

14.01.02 – внутрішні хвороби

Дисертація на здобуття наукового ступеня кандидата

медичних наук

**Науковий керівник**

д.мед.н., професор, завідувач кафедри терапії та нефрології,

проректор з наукової роботи ХМАПО МОЗ України

**Більченко Олександр Вікторович**

Харків – 2015

**ЗМІСТ**

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**……………………………………….4

**ВСТУП**…………………………………………………………………………..5

**ГЛАВА 1.**

**ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ**……………………………………………………….15

1.1 Статистико-епідеміологічні дані щодо поширеності хронічного пієлонефриту в загальній популяції та серед пацієнтів із ЦД 2 типу……..15

1.2 Спектр бактеріальної флори ХП та чутливість до АБП……………….16

1.3 Механізми формування антибіотикорезистентності. Сучасний погляд на проблему. Плазмід-індуковані механізми резистентності………………….17

1.3.1 Механізми резистентності до β-лактамних антибіотиків……...18

1.3.2 Механізми резистентності до фторхінолонів…………………...24

1.3.3 Плазміди: визначення, види, механізми інтеграції……………..28

1.4 Фармако-терапія інфекцій, спричинених штамами з плазмідними механізмами резистентності. Можливі шляхи подолання резистентності…29

**ГЛАВА 2.**

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**……………………………..35

2.1 Клінічна характеристика хворих……………………………………………35

2.2 Методи дослідження………………………………………………………..43

**ГЛАВА 3.**

**ВЛАСНІ СПОСТЕРЕЖЕННЯ.**

3.1 Поширеність плазмід-індукованих механізмів резистентності серед хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу……………………………………………………………………………….50

3.2 Основні фактори, пов’язані з наявністю плазмід-індукованих резистентності у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу…………………………………………………………………….60

3.3 Взаємозв’язок резистентності in vitro до β-лактамів та фторхінолонів з наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності…………..85 3.4 Вплив плазмід-індукованих механізмів резистентності на клінічну та бактеріологічну ефективність антибіотико-терапії хворих на хронічний пієлонефрит і цукровий діабет 2 типу…………………………………………99

3.5 Взаємозв’язок плазмід-індукованих механізмів резистентності з імунологічними маркерами системного запалення у хворих на хронічний пієлонефрит і цукровий діабет 2 типу………………………………………...120

3.6 Методи диференційованого призначення антибіотико-терапії хворим на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності…………………127

**АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ**…………………………………………………….………..137

**ВИСНОВКИ**…………………………………………………………………...154

**ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ**……………………………………………156

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**………………………………….158

**ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ**

βЛРС – β-лактамази розширеного спектру

HbA1c – глікозильований гемоглобін

AAC (6 ') - Ib-cr – аміноглікозид-ацетилтрансфераза

АБП – антибактеріальний препарат

АБТ – антибіотико-терапія

АГ – артеріальна гіпертензія

ДАД – діастолічний артеріальний тиск

ІСС – інфекції сечової системи

ІЛ-6 – інтерлейкін 6

МІК – мінімальна інгібуюча концентрація

МЛС – мисково - лоханочна система

НЗТ – ниркова замісна терапія

ПЛР – полімеразна ланцюжкова реакція

САД – систолічний артеріальний тиск

СРБ – С-реактивний білок

ХНН – хронічна ниркова недостатність

ХП – хронічний піелонефрит

ХХН – хронічна хвороба нирок

ЦД – цукровий діабет

ШКФ – швидкість клубочкової фільтрації

**ВСТУП**

**Актуальність теми.** Інфекції сечової системи (ІСС) є найбільш поширеною групою інфекційних захворювань у всьому світі [40, 86]. В Україні щорічно збільшується поширеність ІСС, переважно за рахунок хронічного пієлонефриту (ХП), оскільки на його долю в структурі вказаної групи хвороб припадає більше 90% випадків [3]. Більш того, ХП в структурі причин ХХН V ст., за даними офіційного реєстру хворих з ХХН в Україні за 2012 рік, займає провідну позицію [8]. На тлі цукрового діабету, ХП діагностується практично у кожного четвертого хворого, що у 2-3 рази частіше, ніж в загальній популяції [7, 9]. Крім того, у пацієнтів із цукровим діабетом, ХП, в більшості випадків, протікає безсимптомно, що може призвести до серйозного пошкодження нирок з розвитком ниркової недостатності. Атипові та резистентні ІСС також частіше зустрічаються у пацієнтів із ЦД [17, 109]. Тому якісна діагностика та лікування ХП, особливо на тлі ЦД, є актуальним завданням сучасної медичної практики.

Ефективність лікування ХП значною мірою лімітується формуванням стійкості до АБП [4]. Резистентність до АБП збільшує захворюваність, смертність та витрати на лікування [48, 49]. Проте, незважаючи на серйозність проблеми антибіотико-резистентності, і величезної кількості досліджень, проведених в цьому напрямку, маловивченою залишається резистентність, що пов'язана з перенесенням генів стійкості між бактеріями мобільними ДНК - плазмідами. За даними EARS-Net, в більшості європейських країн, внаслідок швидкого поширення генів резистентності за допомогою плазмід, кількість штамів Escherichia coli зі зниженою чутливістю до фторхінолонів, 3-ї генерації цефалоспоринів та аміноглікозидів, щороку збільшується [38]. Ці мобільні плазміди являють собою дрібні генетичні елементи у вигляді зв’язаних у кільце ниток ДНК, здатні переносити від одного до декількох генів резистентності не тільки серед бактерій одного виду, але і мікробів різних видів [27]. Тому, дослідження експресії плазмід-індукованих генів резистентності серед уропатогенів є актуальним і перспективним напрямом, який дозволить поглибити розуміння механізмів формування резистентності й підійти з нової позиції до підвищення ефективності антибактеріальної терапії.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Тема дисертаційної роботи затверджена Проблемною комісією «Терапія» МОЗ та НАМН України (протокол засідання №8 від 28.02.2013 р.) і є фрагментом науково-дослідної роботи Харківської медичної академії післядипломної освіти №0115U001231.

**Мета дослідження.** Підвищення ефективності терапії хворих на хронічний пієлонефрит із супутнім цукровим діабетом 2 типу, на підставі вивчення та розробки методів подолання генних механізмів антибіотико-резистентності індукованих плазмідами.

**Завдання дослідження:**

1. Вивчити наявність плазмід-індукованих механізмів антибіотико-резистентності у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу.
2. Визначити основні фактори, що можуть бути пов’язані з наявністю плазмід-індукованих механізмів антибіотико-резистентності у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу.
3. Встановити взаємозв'язок резистентності in vitro до антибактеріальних препаратів із присутністю індукованих плазмідами генів антибіотико-резистентності у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу.
4. Вивчити вплив плазмід-індукованих механізмів резистентності на клінічну та бактеріологічну ефективність антибіотико-терапії хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу.
5. Визначити взаємозв’язок плазмід-індукованих механізмів антибіотико-резистентності з показниками неспецифічних запальних реакцій (IgA, IgM, Ig G та інтерлейкіну 6) у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу.
6. Оптимізувати методи диференційованого призначення антибіотико-терапії в залежності від наявності індукованих плазмідами механізмів антибіотико-резистентності, у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу.

**Об’єкт дослідження:** хронічний пієлонефрит із супутнім цукровим діабетом 2 типу.

**предмет дослідження:** β-лактамази розширеного спектру дії типів blaTEM, blaSHV, blaCTX-M, протеїни QnrA, ефлюкс насос QepA, AAC(6')-Ib-cr, ІЛ-6, показники функціональної здатності нирок, глікемічний профіль.

**Методи дослідження:**

1. Методи оцінки стану хворого і верифікації діагнозу (сбір анамнезу, загальний огляд, лабораторні і інструментальні методи) проводилися згідно діючих рекомендацій [3];

2. Методи оцінки ефективності антибіотико-терапії вивчалися в динаміці клінічних симптомів і лабораторних показників (клінічного аналізу крові та сечі, біохімічного аналізу крові з визначенням концентрацій креатиніну, сечовини, загального білку);

3. Методи оцінки резистентності in vitro - чутливість виділених культур до АБП проводили диско-дифузійним методом Bauer-Kirbi на середовищі Хінтон-Мюллера з використанням комерційних дисків. Облік результатів проводили шляхом вимірювання зон затримки росту мікроорганізмів навколо дисків, включаючи діаметр самого диска [2];

4. Методи дослідження плазмід-індукованих механізмів резистентності полягали в діагностиці генів ТЕМ, SHV і СТХ-М, що кодують вироблення βЛРС та генів QnrА, AAC(6')-Ib-cr, QepA, що опосередковують стійкість до фторхінолонів, методом полімеразної ланцюжкової реакції (ПЛР). ПЛР проводили за стандартною схемою за допомогою програмованого термоциклера «Терцик-2» фірми ДНК-технологія [15].

5. Дослідження імунологічних маркерів системного запалення (ІЛ-6, IgA, IgG, IgM, С-реактивний білок) проводилося методом імуноферментного аналізу.

6. Статистичні методи проводили за допомогою пакету статистичних програм Statistica 6.0., що включали параметричні (блок базових статистик, оцінку значимостей відмінностей середніх проводили за допомогою ANOVA) та непараметричні (Хі квадрат, при необхідності з поправкою Йеті, критерій Фішера) методи; при факторному аналізі використовувався тип обертання - варімакс нормалізований.

**Наукова новизна одержаних результатів.** Уперше проведено наукове обгрунтування визначення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих із поєднанням ХП і ЦД 2 типу, з метою підвищення ефективності емпіричної антибіотико-терапії.

Встановлено, що наявність плазмід-індукованих механізмів резистентності серед хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу, становить 31,5%. У пацієнтів із ХП без діабету – виявлення складає 25%.

Доведено, що у пацієнтів із наявністю ХХН ІІІ та ІV стадій; артеріальною гіпертензією; епізодами перенесеного простатиту або циститу в анамнезі, частота виявлення плазмідних генів резистентності достовірно вища. Крім того визначені фактори, достовірно пов’язані з виявленням плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих із поєднаним перебігом ХП і ЦД 2 типу: факт стаціонарного лікування упродовж останнього року, прийом β-лактамів та фторхінолонів з різних причин у поточному році, уточнено віковий діапазон (старше 55 років).

Встановлені взаємозв’язки чутливості/резистентності in vitro до АБП з наявністю різних типів плазмідних генів стійкості. Встановлено, що резистентність in vitro до амінопеніциллінів, цефалоспоринів та фторхінолонів була достовірно пов’язана з наявністю в уропатогенних штамах плазмідних βЛРС типів blaCTX-M, blaTEM, blaSHV та генів резистентності до фторхінолонів – QnrА, AAC(6')-Ib-cr, QepA. Резистентність до аміноглікозидів була достовірно пов’язана з виявленням генів blaCTX-M, QnrА та QepA.

Визначено клінічну та бактеріологічну ефективність АБТ у хворих з виявленими плазмідними механізмами резистентності. Виявлено більш повільний регрес клінічних симптомів у хворих з плазмідними генами резистентності в динаміці лікування, та відсутність повної ерадикації збудника на тлі АБТ, що було передумовою для подовження термінів лікування та, в деяких випадках, заміни АБП.

**Практичне значення одержаних результатів.**

Визначення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу, сприяє підвищенню ефективності емпіричної антибіотико-терапії та запобігає розвитку ускладнень, у тому числі прогресуванні хронічної хвороби нирок.

Розроблений алгоритм діагностики плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу дозволяє відокремити основні категорії пацієнтів, яким доцільно в план обстеження включати дослідження експресії плазмідних генів стійкості, що сприяє поліпшенню діагностики антибіотико-резистентності та може використовуватися закладами практичної охорони здоров’я.

Визначені найбільш ефективні антибактеріальні препарати у бактерій з резистентністю in vitro на підставі дослідження вмісту різних типів плазмідних βЛРС та генів резистентності до фторхінолонів, що сприяє оптимізації антибіотико-терапії хворих із поєднанням хронічного пієлонефриту та цукрового діабету 2 типу.

Розроблений алгоритм диференційованого призначення антибактеріальних препаратів хворим на ХП і супутній ЦД 2 типу залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності сприяє підвищенню ефективності емпіричної антибіотико-терапії та може використовуватися закладами практичної охорони здоров’я.

**Впровадження результатів дослідження.** Результати дослідження впроваджені в практичну діяльність терапевтичного відділення з нефрологічними ліжками № 1 Харківської міської лікарні швидкої та невідкладної допомого проф. О.І. Мещанінова; терапевтичного відділення КЗОЗ РТМО Дергачівська центральна районна лікарня; Харківська міська лікарня №1. Отримані результати використовують у навчальному процесі кафедри терапії та нефрології ХМАПО.

**Особистий внесок здобувача.** Здобувач самостійно визначила напрямок дослідження та розробила дизайн дослідження. Здобувач проводила відбір і подальше клінічне, лабораторне та інструментальне обстеження хворих, підбір диференційованої терапії, здійснювала моніторинг клінічного перебігу захворювання в динаміці лікування. Здобувач самостійно оформила первинну медичну документацію тематичних хворих, сформувала комп'ютерну базу даних, провела статистичний аналіз та узагальнення отриманих результатів і співставлення з результатами літератури. Особисто здобувач сформулювала висновки, практичні рекомендації, здійснено впровадження результатів у практичну роботу закладів охорони здоров’я та навчальний процес.

**Апробація результатів дисертації.** Матеріали дисертаційної роботи представлено у вигляді доповідей на: всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених «Медицина ХХІ століття», присвяченої 90-річчю ХМАПО (Харків, 2013); всеукраїнській науково-практичній конференції «Загальнотерапевтична практика: нові технології та міждисциплінарні питання» ДУ «Інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України» (Харків, 2013); ІV з’їзді нефрологів України (Київ, 2013); європейському конгресі нефрологів 51st ERA-EDTA (Amsterdam, the Netherlands, 2014); всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Щорічні терапевтичні читання: рання діагностика, первинна та вторинна профілактика захворювань внутрішніх органів», присвячена 95-річчю з дня народження академіка Л.Т.Малої ДУ «Інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України» (Харків, 2014); всеукраїнській науково-практичній конференції з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої дню науки «Внесок молодих спеціалістів в розвиток медичної науки і практики» ДУ «Інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України» (Харків, 2014); всеукраїнській науково-практичній конференції молодих вчених «Медицина ХХІ століття», присвяченої 90-річчю ХМАПО (Харків, 2014).

**Публікації.** За матеріалами дисертації опубліковано 23 наукові роботи, з яких 11 статей: 6 - у фахових виданнях, рекомендованих МОН України; 4 - закордонні публікації; 1 стаття у інших виданнях; 1 деклараційний патент на винахід; 12 тез у збірниках матеріалів наукових і науково-практичних конференцій (в т.ч. - 2 у закордонних виданнях).

Список публікацій:

1. Chub O. Extended Spectrum Beta-Lactamase Production in uropathogens from hospitalized patients with chronic pyelonephritis / O. Chub, A. Bilchenko, I. Khalin // The Open Urology and Nephrology Journal. – 2015. - №8. – P. 71-75. (Здобувач провела аналіз та обробку даних, узагальнення і тлумачення отриманих результатів, підготовила статтю до друку).
2. Чуб О.И. Выявляемость плазмид-индуцированных генных механизмов резистентности у больных пиелонефритом / О.И. Чуб // Експериментальна і клінічна медицина. – 2013. - №3(60). – С.64-67. (Здобувачу належить ідея дослідження, огляд сучасної літератури з проблеми, набір матеріалу, статистична обробка даних, узагальнення і тлумачення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку).
3. Чуб О.І. Основні фактори, пов'язані з наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності до антибіотиків у хворих на хронічний пієлонефрит / О.І. Чуб // Експериментальна і клінічна медицина. – 2013. - №4(61). – С.85-88. (Здобувач провела аналіз та обробку даних, узагальнення і тлумачення отриманих результатів, підготовила статтю до друку).
4. Чуб О.І. Вплив плазмід-індукованих механізмів резистентності на клінічну і бактеріологічну ефективність антибіотико-терапії у хворих на хронічний пієлонефрит / О.І. Чуб // Український терапевтичний журнал. – 2014. - №2 (41). – С.70-74. (Здобувач провела клінічне обстеження пацієнтів, лабораторне дослідження, статистичну обробку даних, узагальнення і тлумачення отриманих результатів, підготовка статті до друку).
5. Чуб О.И. Плазмид-индуцированная резистентность возбудителей инфекций мочевой системы / А.В. Бильченко, О.И. Чуб // Український журнал нефрології та діалізу. – 2014. - №2(42). – С.45-50. (Здобувачу належить ідея дослідження, огляд сучасної літератури з проблеми, підготовка статті до друку).
6. Чуб О.І. Виявлення плазмід-індукованих генів резистентності у хворих на хронічний пієлонефрит з і без супутнього цукрового діабету 2 типу / О.І. Чуб, О.В. Більченко // Журнал Нирки. – 2014. - №4 (10). – С. 17-19. (Здобувач провела клінічне обстеження пацієнтів, лабораторне дослідження, статистичну обробку даних, узагальнення і тлумачення отриманих результатів, підготовила статтю до друку).
7. Чуб О.И. Распространенность βЛРС типов TEM, SHV, CTX-M среди возбудителей хронического пиелонефрита / А.В. Бильченко, О.И. Чуб // Журнал Антибиотики и химиотерапия. – 2014. - №11-12(59). – С. 24-26. (Здобувач провела аналіз та обробку даних, узагальнення і тлумачення отриманих результатів, підготовила статтю до друку).
8. Chub O.I. Extended Spectrum Beta-Lactamase Production in uropathogens from hospitalized patients with chronic pyelonephritis / O.I. Chub, A.V. Bilchenko, I.V. Khalin // ISN Website (http://www.theisn.org/education/education-topics/glomerular-disease/item/1755-extended-spectrum-beta-lactamase-production-in-uropathogens-isolated-from-hospitalized-patients-with-chronic-pyelonephritis). (Здобувачу належить ідея дослідження, огляд сучасної літератури з проблеми, набір матеріалу, статистична обробка даних, узагальнення і тлумачення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку).
9. Чуб О.И. Эффективность эмпирической антибиотико-терапии пиелонефрита у пациентов с СД 2 типа и без него в зависимости от наличия плазмидных генов резистентности / О.И. Чуб, А.В. Бильченко // Georgian Medical News.-2015. - №2(239). – С.39-44. (Здобувач провела клінічне обстеження пацієнтів, лабораторне дослідження, статистичну обробку даних, узагальнення і тлумачення отриманих результатів, підготовила статтю до друку).
10. Чуб О.И. 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 // ScienceRise. – 2015. - №7/4(12). – С. 102-106. (Здобувач провела аналіз та обробку даних, узагальнення і тлумачення отриманих результатів, підготовила статтю до друку).
11. Чуб О.І. Фактори ризику виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на хронічний пієлонефрит на тлі цукрового діабету 2 типу / Більченко О.В., Чуб О.І. // Проблеми безперервної медичної освіти та науки. – 2015. - №3 (19). – С. 28-31. (Здобувачу належить ідея дослідження, огляд сучасної літератури з проблеми, набір матеріалу, статистична обробка даних, узагальнення і тлумачення отриманих результатів, підготовка матеріалів до друку).
12. Патент №91242, UA, МПК (2006.01) G 01 N 33/48. Спосіб диференційного підбору антибактеріальної терапії хворих на хронічний пієлонефрит / О.І. Чуб, О.В. Більченко; Харківська медична академія післядипломної освіти. – u 2014 00982 від 25.06.2014, Бюл. №12. (Здобувачем проведено аналіз даних, розробку формули корисної моделі, підготовку опису корисної моделі для експертизи).
13. Чуб О.И. Роль плазмид-индуцированных механизмов в формировании антибиотикорезистентности у больных хроническим пиелонефритом / О.И. Чуб, А.В. Бильченко // Актуальні питання профілактики, діагностики та лікування в практиці сімейного лікаря: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю. – Харків: ХМАПО, 2012. – С.115-116.
14. Чуб О.И. Плазмид-индуцированные генные механизмы антибиотикорезистентности у больных хроническим пиелонефритом / О.И. Чуб, А.В. Бильченко // Щорічні терапевтичні читання: оптимізація профілактики, діагностики та лікування в клініці внутрішніх хвороб: матеріали науково-практичної конференції. – Харків: ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України», 2012. – С. 256.
15. Чуб О.И. Опосредованные плазмидами генные механизмы устойчивости к антибиотикам у больных пиелонефритом / О.И. Чуб, А.В. Бильченко // Мультидисциплінарний підхід – ключ до успішної терапевтичної науки та практики: матеріали науково-практичної конференції. – Харків: ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України», 2012. – С. 261.
16. Чуб О.И. Антибиотико-резистентность, связанная с выработкой β-лактамаз расширенного спектра действия у больных пиелонефритом / О.И. Чуб // Медицина ХХІ століття: матеріали науково-практичної конференції молодих вчених з міжнародною участю. – Харків: ХМАПО, 2012. – С. 103-104.
17. Чуб О.И. Повышение эффективности терапии больных хроническим пиелонефритом и сопутствующим сахарным диабетом 2 типа на основании изучения генетических механизмов антибиотико-резистентности / О.И. Чуб, А.В. Бильченко // Щорічні терапевтичні читання: лікувально-діагностичні технології сучасної терапії: матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю. – Харків: ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України», 2013. – С. 328.
18. Чуб О.И. Индуцированные плазмидами механизмы антибиотико-резистентности у больных хроническим пиелонефритом и сопутствующим сахарным диабетом 2 типа / О.И. Чуб, А.В. Бильченко // Матеріали ІV з'їзду нефрологів України. – Київ: Український журнал нефрології та діалізу, 2013. – С.48-49.
19. Чуб О.И. Эффективность антибиотикотерапии больных хроническим пиелонефритом в зависимости от наличия плазмид-опосредованных механизмов резистентности / А.В. Бильченко, О.И. Чуб // Медицина ХХІ століття: матеріали науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 90-річчю ХМАПО. – Харків: ХМАПО, 2013. – С. 9-10.
20. Чуб О.І. Виявлення плазмід-індукованих β-лактамаз розширеного спектру дії типів ТЕМ, SHV і СТХ-М у хворих на хронічний пієлонефрит / О.І. Чуб, О.В. Більченко // Загальнотерапевтична практика: нові технології та міждисциплінарні питання: матеріали науково-практичної конференції. – Харків: ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України», 2013. – С. 328.
21. Chub O. The presence of plasmid-mediated ESBLs in uropathogens isolated from patients with chronic pyelonephritis / O. Chub // 51st ERA-EDTA Congress. - Amsterdam: Nephrology Dialysis Transplantation, 2014. – С. 346.
22. Чуб О.И. Проблема антибиотико-резистентности возбудителей хронического пиелонефрита: фокус на плазмид-индуцированную резистентность / О.И. Чуб // Внесок молодих спеціалістів в розвиток медичної науки і практики: матеріали науково-практичної конференції з участю міжнародних спеціалістів, присвяченої дню науки. – Харків: ДУ «Національний інститут терапії імені Л.Т. Малої НАМН України», 2014. – С. 212-213.
23. Чуб О.И. Распространенность плазмидных генов резистентности у больных хроническим пиелонефритом с и без сопутствующего сахарного диабета 2 типа / О.И. Чуб, А.В. Бильченко, М.А. Власенко // Медицина ХХІ століття: матеріали науково-практичної конференції молодих вчених, присвяченої 90-річчю ХМАПО. – Харків: ХМАПО, 2014. – С. 24.

**ГЛАВА 1**

**ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ**

**СУЧАСНІ ПОГЛЯДИ НА РОЛЬ ПЛАЗМІД-ІНДУКОВАНИХ МЕХАНІЗМІВ У ФОРМУВАННІ АНТИБІОТИКО-РЕЗИСТЕНТНОСТІ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПІЄЛОНЕФРИТ І СУПУТНІЙ ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ**

**1.1 Статистико-епідеміологічні дані щодо поширеності хронічного пієлонефриту в загальній популяції та серед пацієнтів із ЦД 2 типу.**

Інфекції сечової системи (ІСС) є найбільш поширеною групою інфекційних захворювань у всьому світі [40, 86]. В Україні щорічно збільшується поширеність ІСС, переважно за рахунок хронічного пієлонефриту (ХП), оскільки на його долю в структурі вказаної групи хвороб припадає більше 90% випадків. Так, у 2006 році питома вага хронічного пієлонефриту за причинами розвитку хронічної хвороби нирок (ХХН) I стадії склала 40,7%; захворюваність серед загальної кількості хворих на ХХН становила 40743 (87,2/100000 населення), поширеність – 381772 (816,6/100000 населення) [3]. Крім того, ХП в структурі причин ХХН V ст., за даними офіційного реєстру хворих з ХХН в Україні за 2012 рік, займає провідну позицію [8]. В США з приводу ІСС відбувається понад 100,000 госпіталізацій щорічно, найчастіше з приводу пієлонефриту (ПН). Практично 15% всіх амбулаторних приписів антибактеріальних препаратів (АБП) відбувається з приводу ІСС [77].

На тлі цукрового діабету, який визнаний Всесвітньою організацією охорони здоров'я (ВООЗ) як неінфекційна епідемія 21 століття, ХП діагностується практично у кожного четвертого хворого, що у 2-3 рази частіше, ніж в загальній популяції [7, 9, 47]. Крім того, у пацієнтів із цукровим діабетом, ХП, в більшості випадків, протікає безсимптомно, що може призвести до серйозного пошкодження нирок з розвитком ниркової недостатності. Атипові та резистентні ІСС також частіше зустрічаються у пацієнтів із ЦД [17, 109]. Тому якісна діагностика та лікування ХП, особливо на тлі ЦД, є актуальним завданням сучасної медичної практики.

**1.2 Спектр бактеріальної флори ХП та чутливість до АБП.**

Домінуючим збудником ІСС, у тому числі ХП, залишається Грам-негативна флора, що було продемонстровано в багатьох дослідженнях. Так, Колесник М.О. та соавт. демонструють найбільш розповсюджені інфекції, що викликаються E.coli (50% і нижче за умов ускладненого або рецидивуючого перебігу ІСС порівняно з 70-95% неускладненого), Klebsiella spp. (25% порівняно з 12% осіб без ЦД), близько 30% випадків припадає на грам позитивні бактерії та не менш, ніж у 20% ідентифікується асоціація бактеріальних збудників [6]. Згідно опублікованих даних в міжнародному журналі по інфекційним захворюванням (Journal of Global Infectious Diseases), питома вага Грам-негативних збудників ІСС склала 82%, на долю Грам-позитивних бактерій випало 13%, Грибкової флори – 5%. Домінуючим патогеном серед Грам-негативної флори була виявлена *E.сoli* (61%), Pseudomonas aeruginosa – 17%, Klebsiella spр. – 9%. Серед Грам-позитивних бактерій переважали Enterococcus spр. (7%), Staphylococcus spр. (6%) та Candida spр. (11%) [11].

При аналізі чутливості збудників ХП до антибактеріальних препаратів, встановлено її зниження по всьому світу. Так, згідно даних європейського звіту з приводу антибіотикорезистентності EARS-Net 2012, рівні резистентності клінічних штамів E.coli до АБП в середньому між країнами становили: до амінопеніциллінів 57,4% (39,7% - 71,0%); до 3-ї генерації цефалоспоринів 11,8% (4,4% - 38,1%), серед яких від 85%-100% штамів мали плазмідні βЛРС; до фторхінолонів – 22,3% (9,7% - 42%); до аміноглікозидів – 10,3% (3,6% - 26,5%); резистентність до карбапенемів становила < 0,1%; комбінована резистентність до 3-ї генерації цефалоспоринів, фторхінолонів та аміноглікозидів становила 4,4% (0,7% - 16,1%) [38]. Ahmed NH та соавт. демонструють рівні резистентності уропатогенних штамів до ампіцилліну 85%-100%, амоксіциллін/клавуланату – 81-100%, 3-ї генерації цефалоспоринів – 57%-94%, фторхінолонів – 59-94%, аміногликозидів – 5-43% [11]. По даним Shakya R та співавт., мульти-резистентність серед уропатогенів (резистентність до 3-х та більше АБП) мала місце у 68,82% виділених штамів [106]. За даними Khatri B та співавт. тільки нітрофурантоїн та амоксициллін проявили високу інгібуючу активність in vitro як проти грам-негативної флори, так і грам-позитивних уропатогенних бактерій [67]. Однак, Akingbade O та співавт. демонструють наступні рівні резистентності серед уропатогенних штамів E.coli: до амоксицилліну (90,8%), ампіцилліну (90,8%), еритроміцину (75,8%), ко-трімоксазолу (70%), стрептоміцину (70%) та тетрацикліну (68,3%), тоді як 85,8% та 84,2% були чутливі до гентаміцину та цефтазідіму відповідно. Рівні чутливості до фторхінолонів та 3-ї генерації цефалоспоринів були наступними: левофлоксацин (80%), цефтріаксон (76,7%), ципрофлоксацин (72,5%) та офлоскацин (60,8%) [12]. В Україні, в 2010 році було проведено дослідження, де рівні резистентності E.coli становили: до пеніциллінів (49%), тетрациклінів (40-49%), фторхінолонів – 17-32%. Крім того, 23% виділених штамів були резистентні до 10 та більше АБП.

Отже, спостерігається зниження чутливості етіологічної флори ХП до АБП, що призводить до неефективності емпіричної терапії подолання, необхідності застосування антибіотиків резерву, що у кінцевому підсумку може призвести до розвитку та прогресуванню ХХН. Тому, вивчення механізмів антибіотикорезистентності з одного боку дозволить підвищити ефективність емпіричної АБТ, а з іншого – поглибити розуміння формування резистентності з метою запобігання її поширенню серед бактеріальних штамів.

**1.3 Механізми формування антибіотикорезистентності. Сучасний погляд на проблему. Плазмід-індуковані механізми антибіотикорезистентності.**

Резистентність мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів буває природної та набутої. Природна резистентність розвивається при відсутності у мікроорганізму мішені для дії антибіотика або ж при недоступності цієї мішені. Придбана стійкість розвивається або внаслідок мутацій, або при передачі генів, що кодують резистентність, від резистентних бактерій чутливим мікроорганізмам. Основними механізмами, що опосередкують придбану стійкість, є:

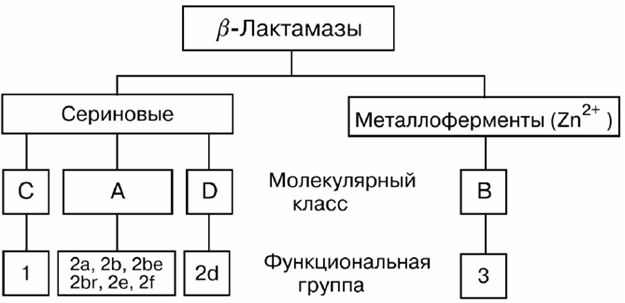
* деструкція або інактивація (модифікація) антибіотика;
* зміна мішені дії антибіотика;
* зменшення проникності клітинної стінки, блокада механізмів транспортування антибіотика всередину бактеріальної клітини, або активне його виведення з мікроорганізму;
* придбання нового метаболічного шляху замість того, що пригнічувався антибіотиком.

З клінічної точки зору, найбільш важливим з них є здатність мікроорганізмів синтезувати ферменти, що руйнують антибіотики. Бактеріальні ферменти, що руйнують β-лактамні антибіотики, називаються β-лактамази [90].

**1.3.1 Механізми резистентності до β-лактамних антибіотиків.**

β-лактами - група антибіотиків, що включає пеніциліни, цефалоспорини, карбапенеми і монобактами. Резистентність бактерій до вказаних препаратів найчастіше виникає внаслідок наступних механізмів: продукції β-лактамаз у поєднанні з природною не чутливі мікроорганізму і наявністю еффлюкса [84].

Продукція β-лактамаз - головний механізм резистентності до β-лактамних антибіотиків у Г- бактерій. В даний час відомо більше 400 різних β-лактамаз і в останні роки ця кількість стрімко зростає - до декількох десятків на рік. Ці ферменти відрізняються між собою як за походженням (плазмідні або хромосомно кодуються), так і по амінокислотної послідовності. Сучасна класифікація поділяє ці ферменти як за функціональними (Bush-Jacoby-Medeiros scheme), так і по молекулярно-біологічними ознаками (класифікація Ambler). Ambler scheme розділяє β-лактамази на 4 класи відповідно до протеїнової гомології ферментів. β-лактамази класу A, C і D є сериновими β-лактамазами, а β-лактамази класу B - метало-β-лактамази (мал.1.1). Функціональна класифікація β-лактамаз заснована на їх різній здатності гідролізувати ті чи інші β-лактамні антибіотики [84, 90].



Мал. 1.1 Класифікація β-лактамаз по молекулярним класам і функціональним групам.

У першу групу входять ферменти, що відносяться до молекулярного класу С (β-лактамази типу AmpC). Характерною особливістю цієї групи є їх більш висока активність до цефалоспоринів у порівнянні з пеніцилінами (тому їх часто називають цефалоспоринази). Крім того, ці ферменти малочутливі до дії інгібіторів β-лактамаз. У другу функціональну групу, входять β-лактамази молекулярних класів A і D. Гени ферментів другої групи входять до складу плазмід, тому ефективність їх перенесення між різними штамами, а отже, і швидкість поширення дуже високі. До групи 2а відносяться β-лактамази Г + бактерій Staphylococcus spp. і Bacillus spp. Ферменти цієї групи найбільш ефективні відносно пеніцилінових антибіотиків (за винятком оксациліну і його аналогів). Найвідомішими представниками групи 2b є β-лактамази TEM і SHV. Найбільш ефективно ці ферменти гідролізують пеніциліни, меншою мірою - цефалоспорини. У підгрупу 2be входять численні мутанти β-лактамаз типу TEM і SHV. Поява додаткових мутацій привело до того, що вони стали ефективно розщеплювати і цефалоспорини I - IV поколінь. Широка субстратна специфічність ферментів цієї групи є причиною їх іншої широко використовуваної назви - β-лактамази розширеного спектру дії («extended spectrum beta-lactamases» - ESBLs). β-лактамази розширеного спектру дії (βЛРС) - група ензимів, що здатні гідролізувати майже всі β-лактамні антибіотики, крім цефаміціна і карбапенемів, внаслідок гідролізу β-лактамного кільця [26]. Основними продуцентами βЛРС є Г- бактерії, що мають здатність до гідролізу β-лактамних антибіотиків, які містять у своєму складі оксііміно групу (цефалоспорини 3-го покоління і азтреонам), проте вищевказані ензими ингібуються інгібіторами β-лактамаз (клавуланова кислота, сульбактам, тазобактам). βЛРС закодовані генами, які переносять великі плазміди. Останні також переносять гени резистентності до інших антибактеріальних препаратів, таких як аміноглікозиди, триметоприм, сульфонаміди, тетрацикліни і хлорамфенікол. Останні дослідження продемонстрували резистентність до фторхінолонів, опосередковану ко-трансфером qnr детермінант за допомогою плазмід з генами βЛРС. Таким чином, резистентність до антибіотиків широкого спектру дії, в даний час, є частою характеристикою βЛРС-продукуючих бактеріальних штамів. Класифікацію βЛРС представлено в таблиці 1.1.

Таблиця 1.1

**Класифікація β-лактамаз**

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| Ambler classb (No.) | | | |
| A | B | C | D |
| TEM(190) | IMP(30) | CMY(73) | OXA(224) |
| SHV(141) | VIM(3) | FOX(10) |  |
| CTX-M(120) | IND(8) | ACT(9) |  |
| GES(17) | NDM(6) | DHA(8) |  |
| KPC(11) |  | MOX(8) |  |
| PER(7) |  | MIR(5) |  |
| VEB(7) |  | ACC(4) |  |
| SME(3) |  | CFE(1) |  |
| PC1(1)C |  | LAT(1) |  |

Перший плазмід-опосередкований β-лактамаз TEM-1 був виявлений в ранні 1960-і роки в клітинах Escherichia coli, виділених із крові інфікованих пацієнтів. Свою назву він отримав від прізвища Temoniera - першого пацієнта, у якого був виявлений. Будучи плазмід і транспозон опосередкованим, ензим TEM-1 отримав всесвітнє поширення і зараз виявляється в багатьох видах сімейства Enterobacteriaceae (Pseudomonas aeruginosa, Hemophilus influenza і Neissiria gonorrhea) [20, 97].

У 1987 році були виділені штами K. pneumoniae, резистентні до різних антибіотиків, включаючи оксііміно-цефалоспорини. Згодом, при вивченні цих штамів також були виділені і β-лактамази, які вони продукували. Вони були названі CTX-1 у зв'язку з їх гідролітичною активністю проти цефотаксима. Однак, досліджуючи послідовність амінокислот у гені, що кодує цей ензим, було виявлено, що він належить до виду TEM-2, відрізняючись від свого попередника TEM-1 двома амінокислотами (Lys for Glu at position 102 and Ser for Gly at position of 236). З тих пір було ідентифіковано більше 150 типів TEM β-лактамаз. Більшість з цих ензимів володіють βЛРС активністю, але ингібуються інгібіторами β-лактамаз, тоді як інші варіанти TEM поряд з розширеним спектром дії, отримали характеристику інгібітор-резистентних β-лактамаз (мутанти сімейства TEM - тип СМТ) [13, 26].

SHV-1 (sulfhydryl variable type) - β-лактамаз з гідролітичною активністю проти пеніцилінів і вузького спектра цефалоспоринів (цефалотин і цефалоридин). Тоді як ген blaSHV-1 інтегрується в бактеріальну хромосому більшості штамів K. pneumoniae, β-лактамаз SHV-1 опосредует свої властивості за рахунок плазмід-індукованих механізмів резистентності серед Г- бактерій. Перший плазмід-опосередкований механізм резистентності до оксііміно-цефалоспоринів був продемонстрований у клінічних штамах K. pneumoniae, Klebsiella ozaenae, і S. marcescens в 1983 році. Новий ензим був названий SHV-2 внаслідок гомологічної структури з геном, що кодує новий ензим і blaSHV-1. Дослідження послідовності в структурі генів показало, що різницю між двома ензимами становить одна амінокислота Gly238Ser. В даний час відомо більше 50 підвидів сімейства SHV [20, 50].

У 1989 році був виділений штам Escherichia coli, який мав не -ТЕМ, та не - SHV βЛРС. Згодом новий β-лактамаз був названий CTX-M-1, у зв'язку з його високою гідролітичною активністю проти цефотаксима. В даний час відомо більше 80 типів CTX-M. Першоджерело ензимів CTX-M відрізняється від такого сімейства ТЕМ і SHV βЛРС. Тоді як βЛРС типів blaТЕМ і blaSHV - були утворені внаслідок мутацій в послідовності амінокислот своїх попередників, ензими CTX-M були отримані в результаті горизонтального генного трансферу від іншої бактерії за допомогою рухомих плазмід. Мікроорганізми, що містять ензими CTX-M резистентні до цефотаксиму, але чутливі до цефтазидиму in vitro. Крім того, більшість ензимів CTX-M ефективно гідролізують цефіпім і, відповідно, мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) цефепіму для бактерій, які продукують CTX-M вище, ніж для бактерій, які продукують інші типи βЛРС [130].

Інфекції, що викликані βЛРС-продукуючими штамами, варіюють від неускладнених ІСС до загрозливого життя сепсису. Крім того, βЛРС-продукуючі організми проявляють ко-резистентність до великої кількості інших груп антибіотиків, що призводить до обмеження терапевтичного вибору. Карбапенеми є засобом вибору для лікування серйозних інфекцій, викликаних βЛРС-продукуютчими штамами. Інгібітори β-лактамаз, такі як сульбактам, клавуланат або тазобактам відомі як інактіватори класу А βЛРС. Цікавим є той факт, що β-лактамаз CTX-M здатний гідролізувати сульбактам, тоді як клавуланат і тазобактам зберігають свою здатність інактивувати цей ензим [59].

За даними EARS-Net, в більшості європейських країн, внаслідок швидкого поширення генів резистентності за допомогою плазмід, кількість штамів Escherichia coli зі зниженою чутливістю до фторхінолонів, 3-ї генерації цефалоспоринів та аміноглікозидів, щороку збільшується. Поширеність генів βЛРС серед штамів, резистентних до 3-ї генерації цефалоспоринів, становило 85%-100% [38, 118]. Наявність генів βЛРС було виявлено у 35,1% штамів *K.pneumoniae* згідно результатів дослідження SENTRY Antimicrobial Surveillance Program, США [108]. Штами Escherichia coli, що продукують зазначені ензими часто зустрічаються в амбулаторній практиці, оскільки Escherichia coli є збудником амбулаторних інфекцій сечової системи і вибір препаратів для лікування даної патології обмежений. Це призводить до застосування нових антибіотиків, таких як карбапенеми для емпіричної терапії тяжких інфекцій сечової системи. В даний час у Великобританії і США описані мікроорганізми, що продукують карбапенемази. Внаслідок наростання резистентності, пропонується припинити терапію ІСС без наявності симптомів, а також тривале застосування антибіотиків для профілактики рецидивів ІСС [105].

Фактори ризику колонізації або інфекції, спричинені βЛРС-продукуючими організмами, включають: чоловіча стать; вік 65 років і вище; випадок не давньої госпіталізації; лікування в попередні 3 місяці цефалоспоринами, пеніцилінами та фторхінолонами; захворювання простати; деменція; діабет [65].

Отже, резистентність до β-лактамів, обумовлена плазмідними βЛРС, щорічно зростає завдяки активності рухомих генетичних елементів – плазмід, що призводить до обмеження терапевтичних можливостей, тому що β-лактами є препаратами емпіричної АБТ в лікуванні ІСС, у тому числі ХП. Тому, ідентифікація резистентних штамів з генами βЛРС є необхідним для запобігання поширення мульти-резистентності та підвищення ефективності терапії.

**1.3.2 Механізми формування резистентності до фторхінолонів.**

Зростання резистентності основних збудників ІСС до фторхінолонів призводить до неефективності антибіотико-терапії, як амбулаторних, так і госпіталізованих хворих [10]. В дослідженні ARESC (Antimicrobial Resistance Epidemiological Survey on Cystitis), проведеному в 9 європейських країнах та Бразилії, було показано, що рівень резистентності Escherichia coli до фторхінолонів в Бразилії, Іспанії, Італії та Росії становить не менше 10%, у Польщі 6,7%, у Франції 1,7%. У Великобританії, протягом 13 років, відзначено зростання резистентності до фторхінолонів у штамів сімейства Enterobacteriaceae (Escherichia coli і Klebsiella pneumoniae), який збільшувався від <2% в 1996 до> 20% в 2009 році [104]. Аналогічна тенденція відзначена в США, де рівні резистентності до фторхінолонів в штамах, виділених від амбулаторних пацієнтів з ІСС, збільшилися від 3% у 2000 році до 17,1% в 2010 році [103]. За даними дослідження KONSID, проведеного в 11 інститутах в Кореї, резистентність штамів Escherichia coli до ципрофлоксацину перевищила 30%, що робить неможливим його застосування для емпіричної терапії [53].

До недавнього часу, механізмами розвитку резистентності до хінолонів у сімейства Enterobacteriaceae вважалися наступні: мутації в хромосомних генах, що кодують ДНК гіразу (gyrA, gyrB) та топоізомеразу IV (parC і parЕ), ​​зниження проникності зовнішньої мембрани (porin defect) клітини і зверх-експресія природного еффлюкса [31]. Однак з 1998 року почали з'являтися повідомлення про появу нових механізмів резистентності до фторхінолонів, індукованих плазмідами. Вперше плазмід-опосередкована резистентність до фторхінолонів була описана в штамі Klebsiella pneumoniae, виділеного в одному з регіонів США в 1998р [70]. На теперішній час відомо кілька подібних механізмів, індукованих плазмідами: протеїни Qnr, аміноглікозид- ацетилтрансфераза AAC(6 ')-Ib-cr і efflux pump QepA [94, 100, 115].

Вперше плазмід-індукована резистентність до фторхінолонів була описана в 1998 г в мульти-резистентному штамі Klebsiella pneumoniae, виділеному із сечі пацієнта в університеті Алабама в Бірмінгемі, який мав здатність передавати невисокі рівні резистентності до хінолонів Escherichia coli та іншим Грам-негативним бактеріям. Зазначений плазмід-індукований ген резистентності був названий «qnr». Цей ген являє собою 218 аміно-кислотний протеїн Qnr (пізніше названий QnrА), який захищає ДНК гіразу (і можливо топоїзомеразу IV) від інгібуючої активності фторхінолонів. QnrА належить до сімейства протеїнів з пентапептіднимі повторами (pentapeptide-repeat family), яке в даний час налічує більше 90 членів [22, 70]. В последующие годы были описаны похожие плазмид-опосредованные детерминанты Qnr в штаммах семейства Enterobacteriaceae (QnrB, QnrC, QnrD, QnrS) [21, 58]. Надалі вони були виявлені в усьому світі і майже завжди асоціювалися з продукцією β-лактамаз розширеного спектру [92, 93, 99]. При взаємодії Qnr-детермінант з топоізомеразами, ДНК і фторхінолонами, останні втрачають здатність зв'язуватися зі своєю мішенню. [81]. Протеїни Qnt викликають стійкість до налідиксової кислоти і знижену чутливість до фторхінолонів [85].

У 2005 році був описаний другий плазмід-індукований механізм резистентності до фторхінолонів - аміноглікозид-ацетилтрансфераза (AAC (6 ') - Ib-cr). Цей протеїн є варіантом ферменту 6'acetyl трансферази, який відомий своєю здатністю модифікувати хімічну структуру аміноглікозидів [98]. Аміноглікозид-ацетилтрансфераза (AAC (6 ') - Ib-cr) являє собою біфункціональний як аміноглікозід так і фторхінолон- активний варіант, здатний каталізувати ацетелирование обох класів препаратів [127]. Цей варіант ензиму набув здатності ацетелірувати ципрофлоксацин і норфлоксацин, в результаті чого активність ципрофлоксацину знижується в 4 рази. Моксифлоксацин і левофлоксацин не ацетилюються внаслідок відсутності piperazinyl substituent в позиції С-7 [44, 102]. Протеїн AAC (6 ') - Ib-cr має більш широке поширення, ніж детермінанти Qnr. Продукція генів QNR і AAC (6) -Ib-cr асоціюються з продукцією βЛРС, таким чином, представляючи другий механізм ко-селекції лікарської стійкості в результаті впливу хімічно не родинних агентів [33].

Нещодавно був відкритий третій механізм плазмід-індукованої стійкості до фторхінолонів: еффлюкс насоси (efflux pumps) OqxAB і QepА. Протеїни OqxAB і QepА опосередковують резистентність до гідрофільних фторхінолонів, таких як норфлоксацин, ципрофлоксацин і енрофлоксацин, підвищуючи МІК в 32-64 рази. У доповненні до хінолонів, активному виведенню з клітини в результаті дії еффлюкс насоса QepА схильні еритроміцин, етідіумбромід, acrifliavine; а еффлюкс помпа OqxAB додатково експортує етідіум бромід, тетрациклін, хлорамфенікол, триметоприм та інші препарати [14, 52]. Ген QepА і аміноглікозид-рибосом-метилтрансфераза є частиною мобільного елемента, з чого випливає можливість селекції детермінант QepА внаслідок впливу аміноглікозидів і навпаки, резистентність до аміноглікозидів може розвиватися в результаті впливу фторхінолонів; те ж саме відноситься і до AAC(6 ') - Ib-cr-опосередкованої резистентності. Таким чином, екструзія хімічно не споріднених агентів внаслідок дії еффлюкс насосів представляє третій механізм перехресної резистентності (cross-resistance).

В Італії, поширеність плазмід-індукованих механізмів резистентності до фторхінолонів у амбулаторних і госпіталізованих пацієнтів з ІСС склало 11% і 21% відповідно. Найпоширеніший ген – аміноглікозид-ацетилтрансфераза aac (6 ') - Ib-cr [75]. Поширеність плазмід-індукованих генів резистентності до фторхінолонів серед клінічних штамів Escherichia coli і K.pneumoniae в Таїланді становить 22,3% і 65,3% відповідно. За виявленням гени розташувалися в наступному порядку: aac (6 ') - Ib-cr, qnrS, qnrB і qnrA [87]. Поширеність плазмід-індукованих генів резистентності до фторхінолонів серед ентеробактеріальних штамів, виділених у дитячій лікарні в Тунісі, склало 14,4% [61].

До факторів ризику колонізації уропатогенів з механізмами резистентності до фторхінолонів відносять: вік старше 60 років (OR 2,52), наявність обструкції сечових шляхів (OR 2,09), епізод рецидиву ІСС у минулому (OR 2,98), та прийом фторхінолонів у попередні 3 місяця (OR 4,27) [**126, 111**]. Крім того, в останні 6 років, у багатьох країнах світу, посилено вивчається взаємозв'язок кількості призначень фторхінолонів і розвиток резистентності до них. Так, у клінічних дослідженнях, проведених в Європі, Америці, визначається достовірне зростання резистентності до фторхінолонів при збільшенні кількості їх призначень [63, 96, 125]. Згідно з даними W. E. van der Starre та співавт., при збільшенні кількості призначень левофлоксацину з приводу ІСС з 3,1 до 12,7 на 1000 візитів, резистентність до нього і інших фторхінолонів збільшилася з 1% до 9%. Факторами ризику, що сприяли резистентності, у штамів E.coli були виявлені: випадок госпіталізації, використання левофлоксацину в попередній рік [128].

При інфекціях, викликаних βЛРС-продукуючими бактеріями, визначається висока частота перехресної резистентності, що обмежує застосування як фторхінолонів, так і аміноглікозидів [31]. Згідно даних Ferjani S та соавт., виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності до фторхінолонів серед βЛРС-продукуючих бактерій склало 60% [39]. Дослідження GEIH-ESBL 2006 project демонструє виявлення протеїнів Qnr серед βЛРС-продукуючих мікроорганізмів, що склало 3,7%, а виявлення аміноглікозид-ацетилтрансферази (aac (6 ') - Ib-cr) – 16,2% [24].

Отже, наростаюча резистентність до фторхінолонів внаслідок впливу плазмід-індукованих механізмів представляє серйозну проблему в лікуванні ІСС. Внаслідок активності плазмід можливе співіснування одночасно декількох механізмів резистентності (cross-resistance), в результаті чого, терапевтичний вибір вже спочатку лімітований. Тому, необхідно чітко дотримуватися принципів та схем лікування, враховувати можливий бактеріальний спектр і його чутливість, а також фактори ризику наявності стійкості з метою запобігання поширення опосередкованих плазмідами генів резистентності до фторхінолонів між бактеріями.

**1.3.3 Плазміди: визначення, види, механізми інтеграції.**

Плазміди - екстра (позахромосомні генетичні елементи бактерій, здатні до самовідтворення та існуюють в цитоплазмі бактеріальної клітини. Плазміди являють собою молекули ДНК, мають кільцеву замкнуту структуру, розміри їх варіюють від 1 до більше 1000 kilobase (kb).

Плазміди відіграють важливу роль в еволюції бактерій, беручи участь у процесі природного відбору. Клітини, які набувають плазміди, набувають нові, найчастіше вигідні для них, властивості. Ці властивості лягли в основу назв вперше виявлених плазмід, а саме: F-плазмід (фактор статі), які надають клітинам донорні властивості, R-плазмід (resistance) визначають стійкість (резистентність) клітин до антибіотиків, Col- плазмид (colicinogeny-коліціногенность) детермінують синтез білкових речовин, що називаються коліцини, здатних викликати загибель чутливих бактерій власного виду або близькоспоріднених. Залежно від здатності чи нездатності передаватися від однієї бактеріальної клітини в іншу в процесі кон'югації, розрізняють кон'югатівні (self-transmissible) плазміди, які мають свій transfer-механізм і некон'югатівні (mobilizable) плазміди, що переміщуються за допомогою transfer-механізму кон'югативних плазмід. R-фактор - типова плазміда, являє собою двониткову молекулу ДНК, в якій є гени, відповідальні за самореплікацію і перенесення резистентності в реципієнтну клітку - фактор переносу стійкості RTF (resistance transfer factor) і окремі гени, що детермінують стійкість до конкретного антибіотика. Плазміда, що містить RTF, належить до кон'югативних. На поверхні таких клітин утворюються статеві F-пілі, необхідні для її кон'югації з клітиною-реципієнтом та передачі R-фактора (малюнок 1.5). Статеві F-пілі клітини-донора утворюють так званий «кон'югаційний місток» з кліткою реципієнтом, за яким передається одна з ниток плазмідної ДНК. В результаті такого процесу утворюється нова клітина (новий донор), що містить у своєму складі плазміду, і відповідно – нові властивості. У подальшому при поділі такої клітини, всі дочірні особі будуть мати у своєму геномі плазміду.

Ще однією властивістю бактеріальних плазмід є їх здатність інтегруватися (вбудовуватися) в геном клітини-господаря і таким чином реалізовувати свої нові властивості, зокрема резистентність до антибактеріальних препаратів.

Плазмід-опосередкований трансфер генів резистентності серед бактеріальних збудників вважається одним з найбільш важливих механізмів поширення мульти-резистентності (MDR). Тому, характеристика плазмід від різних бактеріальних штамів є ключовим кроком для розуміння механізмів вірулентності і їх еволюції, і розробки більш ефективних лікарських засобів, які впливають на резистентні бактерії.

**1.4 Фармако-терапія інфекцій, спричинених штамами з плазмідними механізмами резистентності. Можливі шляхи подолання резистентності.**

В результаті швидкого зростання резистентності грамнегативних бактерій, існуюча у світі програма синтезу антибактеріальних препаратів не забезпечить терапевтичні потреби на найближчі 10-20 років [23]. Карбапенеми розглядаються в якості препаратів вибору в лікуванні інфекцій, викликаних ESBL-продукуючими мікроорганізмами. Це положення не перевірялося в рандомізованих контрольованих дослідженнях, і грунтується на ретроспективних дослідженнях і описах клінічних випадків. Так, за даними невеликих досліджень, у хворих з бактеріємією, викликаною ESBL-продукуючою Klebsiella pneumoniae, застосування карбапенемів було незалежним предиктором зменшення смертності у порівнянні з застосуванням інших антибіотиків, до яких збудник демонстрував чутливість in vitro [72]. Внаслідок цього, в лікуванні інфекцій, викликаних бактеріями, що продукують ESBLs, карбапенеми витісняють цефіпім, який демонструє високу мінімальну інгібуючу концентрацію щодо CTX-M продукуючих Klebsiella spp. і Escherichia coli [119]. Крім того, ряд досліджень показав, що цефалоспорини, включаючи цефаміціни і цефіпім, демонстрували гірші клінічні результати у порівнянні з карбапенемами, незважаючи на однакову чутливість збудників in vitro.

Збільшення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) до карбапенемів, навіть у межах допустимих значень, викликає підозру на наявність карбапенем-резистентних штамів, які, як правило, одночасно резистентні і до аміноглікозидів та фторхінолонів [66]. Klebsiella pneumoniae є своєрідним «колектором» плазмід, що містять карбапенемази. Терапія інфекцій, спричинених бактеріями, що продукують карбапенемази вкрай складна. Частота клінічної неефективності, коливається, за даними системного мета-аналізу невеликих досліджень, від 8,4 до 50%, при цьому найменшу частоту неефективності (8,4%) продемонстрував режим комбінованої терапії із застосуванням більш ніж 2 антибіотиків, одним з яких був карбапенем [121].

Оскільки антибактеріальна ефективність β-лактамних антибіотиків залежить від часу, протягом якого їх концентрація перевищує МІК, одним з можливих шляхів подолання резистентності ESBL-продукуючих штамів може бути зміна режиму дозування препаратів. Використання раціональної фармакокінетики існуючих препаратів дозволяє підвищити клінічну ефективність і поліпшити фармако-економічні показники антибіотико-терапії. Даний підхід підтримується всіма новими клінічними рекомендаціями [78]. Особливу складність представляє терапія інфекцій, спричинених штамами, що продукують NDM. При серйозних інфекціях рекомендована комбінована антибактеріальна терапія з використанням поліміксину, хоча до поліміксину спостерігається швидке наростання резистентності [129].

У ряді досліджень фторхінолони поступалися в клінічній ефективності карбапенемам, при цьому спостерігалося також зниження чутливості виділених штамів до фторхінолонів [37].

Очевидним вирішенням проблеми резистентності штамів, що продукують ESBL, може бути використання антибіотиків, захищених інгібіторами β-лактамаз, такими як клавуланова кислота, сульбактам і тазобактам. Найбільшу ефективність in vitro демонстрував тазобактам, внаслідок чого став широко застосовуватися піперациллін-тазобактам для лікування інфекцій, спричинених бактеріями, що продукують ESBL [91], у тому числі при бактеріємії, незважаючи на існуючі спочатку рекомендації уникати в даній ситуації його застосування. Значне збільшення використання піперациллін-тазобактама за останні 10 років, не привело до істотного зростання частоти виявлення резистентних до піперациллін-тазобактаму штамів, проте відзначається підвищення МІК у відношенні ESBL-продукуючих штамів. У той же час амоксициллін-клавуланат демонструє стабільність МІК у відношенні ESBL-продукуючих штамів. Автори досліджень пов'язують зростання МІК піперациллін-тазобактаму з механізмами резистентності не залежними від виробітки β-лактамаз [71, 76]. Невеликі дослідження підтверджують, що клінічна ефективність амоксициліну з клавулановою кислотою в лікуванні хворих з циститом, викликаним ESBL-продукуючими штамами, становить до 93% при високій чутливості in vitro і 56% серед штамів з помірною чутливістю і резистентних in vitro, що дозволяє успішно використовувати амоксицилін з клавулановою кислотою для емпіричної терапії циститів викликаних ESBL-продукуючими штамами [101].

Дослідження in vitro показали високу активність фосфоміцину щодо ESBL-продукуючих штамів Escherichia coli і Klebsiella pneumoniae, що викликало нову хвилю інтересу до фосфоміцину у клініцистів при ІСС, викликаних мульти-резистентними штамами [46]. Була показана висока in vitro активність фосфоміцину щодо KPC-продукуючих штамів Klebsiella pneumoniae, що досягала 93% в цілому і 87% у групі штамммів, що були не чутливі до тігецікліну та/або колістину. За даними багатоцентрового обсерваційного дослідження, фосфоміцин був ефективний у лікуванні тяжких інфекцій, спричинених мульти-резистентними і панрезистентними карбапенемаз-продукуючими штамами Pseudomonas aeruginosa і Klebsiella pneumoniae [95].

Також високу чутливість in vitro карбапенемаз-продукуючі штами демонстрували до тігецикліну, у зв'язку з чим, прогнозувалася його висока клінічна ефективність. Однак, клінічні дослідження показали швидке наростання резистентності до тігецикліну в ході терапії, що поставило під сумнів можливість його використання при інфекціях викликаних карбапенемаз-продукуючими штамами і викликало необхідність ретельного моніторування чутливості збудника до тігецикліну в ході терапії [34].

У 2008 році, Європейською Об'єднаною Референтною Лабораторією по вивченню антибактеріальної Резистентності (EURL-AR) ініційовано дослідження в усіх Національних референтних лабораторіях по з метою збору ретроспективної інформації про наявність плазмід-індукованої резистентності штамів Salmonella і Escherichia coli і виявлення генів відповідальних за неї [124].

Отже, терапевтичні можливості лікування інфекцій, спричинених бактеріями з плазмідними механізмами резистентності, дуже лімітовані. Крім того, наявність перехресної резистентності, обмежує використання навіть антибіотиків резерву. Тому, суворе дотримання рекомендацій по призначенню та дозуванню антибактеріальних препаратів, ідентифікація та ретельний моніторинг резистентних бактерій і генів, що відповідають за неї, є необхідними для вивчення механізмів формування резистентності та пошуку можливих шляхів її подолання.

**ГЛАВА 2**

**МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

**2.1 Клінічна характеристика хворих**

В процесі виконання роботи нами було обстежено 105 хворих. Хворі знаходились на обстеженні та лікуванні у 1 терапевтичному відділенні з нефрологічними ліжками (20) Харківської міської клінічної лікарні швидкої та невідкладної медичної допомоги №4 ім. проф. О.І. Мещанінова. Критерії залучення пацієнтів у дослідження: наявність у хворих ХП, цукрового діабету 2 типу. Критерії вилучення пацієнтів із дослідження: цукровий діабет 1 типу, хворі з термінальною нирковою недостатністю (ШКФ ≤ 15 мл/хв/1,73 м2), тяжкі захворювання печінки, онкологічні захворювання, захворювання системи крові, вагітність.

У діагностичному процесі використовувалися стандартні методи опитування і обстеження хворих, з урахуванням скарг, анамнезу захворювання, даних об'єктивного обстеження, лабораторних і інструментальних методів дослідження. Визначення стадії, варіанту та клінічного перебігу ХП проводилося згідно рекомендацій адаптованої клінічної настанови з кращої діагностики, лікування та профілактики інфекцій сечової системи Української асоціації нефрологів (2012р.). Визначення типу, ступеня тяжкості, стану компенсації, наявності хронічних ускладнень цукрового діабету проводилося згідно рекомендацій Асоціації ендокринологів України (2012 р.). Визначення наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності проводилось методом полімеразної ланцюжкової реакції. Стадію ХХН визначали по рівню швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ) за формулою CKD-EPI (KDIGO 2012) [5].

У всіх 105 (100%) хворих було діагностовано хронічну хворобу нирок (ХХН), хронічний пієлонефрит (ХП), у 73 (69,5 %) – із супутнім цукровим діабетом (ЦД) 2 типу, з різними стадіями ХХН.

Серед обстежених було 91 (86,7 %) жінка і 14 (13,3 %) чоловіків. Вік обстежених коливався від 21 до 86 років, в середньому склав 56,9±1,7 років. Всіх хворих, окремо чоловіків і жінок, було розподілено на дві вікові групи: до 55 років (n=39) та старше 55 років (n=66), таблиця 2.1.

Згідно рекомендацій KDIGO 2012, хворі були розподілені за рівнем ШКФ: > 90 мл/мін/1,73м2 – 21 (20%) осіб; 60-89 мл/мін/1,73м2 – 28 (26,7%) особи; 30-59 мл/мін/1,73м2 – 27 (25,7%) осіб та 15-29 мл/мін/1,73м2 – 29 (27,6%) осіб (таблиця 2.1).

При лабораторному обстеженні, показники азотемії були підвищеними у 41 (39%) осіб, середній рівень креатиніну становив – 148,4±12,1 мкмоль/мл, сечовини – 9,32±0,56 ммоль/мл; в клінічному аналізі сечі відносна щільність в середньому склала 1013,5±0,6; при дослідженні сечового осаду лейкоцитурія мала місце у 85 (80,9%) пацієнтів, гематурія була виявлена у 35 (33,3%), альбумінурія зустрічалася у 32 (30,5%), протеїнурія у 23 (21,9%).

По стадії активності ХП, хворі були розподілені наступним чином: І ст. активності мали 20 (19%) пацієнта, ІІ ст. активності – 43 (40,9%), ІІІ ст. мала місце у 42 (40%) осіб.

За наявністю супутніх коморбідних станів, хворі були розподілені наступним чином: із супутньою АГ – 71 (67,6%) хворих; наявністю обструкції сечовивідних шляхів – 22 (20,9%) осіб; наявністю епізодів перенесеної ІСС в анамнезі – 11 (10,5%); ІХС – 56 (53,3%); ДН – 18 (17,1%).

Клінічна характеристика пацієнтів представлена у таблиці 2.1

Таблиця 2.1

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Ознаки |  | Кількість, n (%) |
| Групи хворих | І група (ХП+ЦД 2 типу) | 73 (69,5%) |
| ІІ група (ХП) | 32 (30,5%) |
| Стать | Чоловіки | 14 (13,3%) |
| Жінки | 91 (86,7%) |
| Вік | Чоловіки | 59,6±3,6 |
| Жінки | 56,6±1,9 |
| Активність ХП | І ст. активності | 20 (19%) |
| ІІ ст. активності | 43 (40,9%) |
| ІІІ ст. активності | 42 (40%) |
| Стадії ХХН | І ст. ХХН | 21 (20%) |
| ІІ ст. ХХН | 28 (26,7%) |
| ІІІ ст. ХХН | 27 (25,7%) |
| ІV ст. ХХН | 29 (27,6%) |
| Втрата білку з сечею | Альбумінурія | 38 (36,2%) |
| Протеїнурія | 27 (26,7%) |
| Коморбідна патологія | ДН | 18 (24,7%) |
| АГ | 83 (79%) |
| ІХС | 75 (71,4%) |

Лікування хворих на ХП проводилось згідно рекомендацій адаптованої клінічної настанови з кращої діагностики, лікування та профілактики інфекцій сечової системи Української асоціації нефрологів (2012р). В залежності від виду емпіричного АБП, хворі були розподілені на 3 групи: лікування 1 (40 осіб) – отримали фторхінолони (левофлоксацин) 500 мг у вигляді внутрішньовенно-крапельних інфузій; лікування 2 (42 осіб) – цефалоспорини (цефтріаксон, цефіпім) 2 грами на добу у вигляді внутрішньовенних ін’єкцій та лікування 3 (23 пацієнтів) – комбінацію зазначених препаратів.

Дизайн лікування хворих основної групи і групи порівняння зображено на малюнку 2.1.

Мал. 2.1 Дизайн емпіричної АБТ у хворих на ХП.

В першу групу увійшло 73 хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу. Серед обстежених було 64 (87,7%) жінки та 9 (12,3%) чоловіків. Вік обстежених коливався у межах від 21 до 86 років, в середньому становив: для жінок 52,45±2,4, для чоловіків – 58,78±5,1 років. Всіх хворих, окремо чоловіків і жінок, було розподілено на дві вікові групи: до 55 років (n=34) та старше 55 років (n=39), таблиця 2.1.

При надходженні до стаціонару хворі пред’являли скарги на: підвищення температури тіла – 41 (56,2%) особа, середня температура тіла по групі – 37,4±0,8; інтоксикаційний синдром спостерігався у 100 % хворих, больовий синдром – мала 71 (97,3%) особа, дизурія спостерігалася у 37 (50,7%) пацієнтів, зміна кольору сечі – мала місце у 11 (15,1%) обстежених хворих.

З анамнезу захворювання відомо, що тривалість хронічного пієлонефриту у даній групі склала: до 5 років – 37 (50,7%) осіб, до 10 років – 12 (22,6%) осіб і більше 10 років – 24 (32,9%) пацієнта. Лікування у стаціонарі у поточному році проводили 11 (15,1%) пацієнтів, прийом антибіотиків мав місце у 30 пацієнтів, з них β-лактамні АБП приймали 28 чоловік, фторхінолони – 27 осіб.

При об'єктивному дослідженні виявлено: блідість шкірних покровів – 47 (64,4%) чоловік, набряки обличчя та кінцівок – 16 (21,9%) осіб, біль при пальпації у косто-вертебральному куті – 43 (58,9%) особи. Середній артеріальний тиск становив – САТ 139,45±3,2 мм рт.ст., ДАТ – 87,12±1,5 мм рт.ст.. Середній рівень пульсу склав 81,79±1,3 ударів у хвилину.

При вивченні клінічного аналізу крові, лейкоцитоз мав місце у 23 (31,5%) осіб, підвищення ШОЕ – у 54 (73,9%), анемія зустрічалася у 18 (24,7%) пацієнтів.

В загальному клінічному аналізі сечі відносна щільність у середньому складала 1014±6,1, альбумінурія була виявлена у 21 особи, протеїнурія – у 15 (50,7%) пацієнтів, з них у 4 (10,8%) складала вище 1 г/л. При дослідженні сечового осаду лейкоцитурія мала місце у 61 (83,6%) пацієнта, з них у 28 (45,9%) – на все поле зору, гематурія була виявлена у 26 (35,6%) пацієнтів, з них у 4 (15,4%) – на все поле зору (макрогематурія). У 16 (21,9%) хворих були виявлені циліндри - гіалінові, зернисті і еритроцитарні.

При дослідженні функції нирок шляхом розрахунку швидкості клубочкової фільтрації за формулою CKD-EPI, у 7 (9,6%) хворих вона була дещо підвищена (від 122 до 158 мл/хв/1,73м2), у 54 (73,9%) – знижена (від 16 до 88 мл/хв/1,73м2), у 12 (16,4%) – не перевищувала фізіологічну норму. У середньому рівень клубочкової фільтрації становив 42,33±4,4 мл/хв/1,73м2. Показники азотемії були підвищені у 23 (31,5%) пацієнтів. Рівень креатиніну становив в середньому 187,3±22,8 мкмоль/л, рівень сечовини – 12,6±1,2 ммоль/л (таблиця 2.2).

Таблиця 2.2

**Дані лабораторних обстежень у пацієнтів на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Показники | І група  (n=73) | ІІ група  (n=32) |
| ШКФ, мл/хв/1,73м2 | 42,3±4,8 | 69,4±4,4\* |
| Креатинін крові, мкмоль/л | 187,3±22,8 | 131,4±13,9\*# |
| Сечовина крові, ммоль/л | 12,6±1,2 | 7,8±0,54\* |
| Загальний білок крові (г/л) | 72±2,2 | 73,1±1,1 |
| Альбумінурія (г/л) | 0,07±0,01 | 0,04±0,01\* |
| Протеїнурія  (г/л) | 0,98±0,3 | 0,94±0,3 |

Примітка: \* р≤0,05 при порівнянні І та ІІ груп.

Показники вуглеводного обміну натще складали 8,39±0,7; рівень глікозильованого гемоглобіну становив у середньому 7,1±0,2.

Вміст загального білка по групі в середньому складав 72±2,2.

При проведенні ехосоноскопії дифузні зміни паренхіми нирок у вигляді підвищення ехощільності, стоншення кортикального шару нирки, розширення мисок та мікроліти спостерігались у 100% хворих.

Друга група (порівняння) складалась із 32 хворих: 27 (84,4%) жінок та 5 (15,6%) чоловіків. Вік обстежених коливався у межах від 45 до 86 років, в середньому становив: для жінок 66,29±1,9, для чоловіків – 61,2±4,5 років. Всіх хворих, окремо чоловіків і жінок, було розподілено на дві вікові групи: до 55 років (n=5) та старше 55 років (n=27), таблиця 2.1.

При надходженні до стаціонару хворі пред’являли скарги на: підвищення температури тіла – 15 (46,9%) осіб, середня температура тіла по групі – 37,2±0,7; астенічні явища (слабкість, підвищена втомлюваність) спостерігалися у 100 % хворих, больовий синдром – мали 26 (81,3%) осіб, дизурія спостерігалася у 15 (46,9%) пацієнтів, зміна кольору сечі – мала місце у 4 (12,5%) обстежених хворих.

Тривалість ХП становила: до 5 років – 17 осіб, 6-10 років – 9 осіб та більше 10 років – 6 пацієнтів. Лікування у стаціонарі у поточному році проводили 11 (18%) пацієнтів, прийом антибіотиків мав місце у 30 пацієнтів, з них β-лактамні АБП приймали 28 чоловік, фторхінолони – 27 осіб.

При об'єктивному дослідженні мали місце: блідість шкірних покривів – 20 (62,5%) чоловік, набряки обличчя та/або кінцівок мали 14 (43,8%) пацієнтів, біль при пальпації у косто-вертебральному куті зустрічалася у 13 (40,6%) хворих. Середній артеріальний тиск становив – САТ 142,18±4,1 мм рт.ст., ДАТ – 85,78±2,1 мм рт.ст. Середній рівень пульсу склав 85±2,3 ударів у хвилину.

При вивченні клінічного аналізу крові, лейкоцитоз мав місце у 11 (34,4%) осіб, підвищення ШОЕ – у 28 (87,5%), анемія зустрічалася у 12 (37,5%) пацієнтів.

В загальному клінічному аналізі сечі відносна щільність у середньому складала 1014±6,1, альбумінурія була виявлена у 17 осіб, протеїнурія – у 6 (18,7%) пацієнтів, з них у 2 (18,2%) складала вище 1 г/л. При дослідженні сечового осаду лейкоцитурія мала місце у 27 (84,4%) пацієнта, з них у 15 (55,6%) – на все поле зору, гематурія була виявлена у 11 (34,4%) пацієнтів, з них у 4 (13,6%) – на все поле зору (макрогематурія). У 7 (21,9%) хворих були виявлені циліндри - гіалінові, зернисті і еритроцитарні.

При дослідженні функції нирок шляхом розрахунку швидкості клубочкової фільтрації за формулою CKD-EPI, у 3 (9,4%) хворих вона була дещо підвищена (від 122 до 158 мл/хв/1,73м2), у 24 (75%) – знижена (від 16 до 88 мл/хв/1,73м2), у 5 (15,6%) – не перевищувала фізіологічну норму. У середньому рівень клубочкової фільтрації становив 69,4±4,4 мл/хв/1,73м2. Показники азотемії були підвищені у 10 (31,3%) пацієнтів. Рівень креатиніну становив в середньому 131,41±13,9 мкмоль/л, рівень сечовини – 7,87±0,5 ммоль/л (таблиця 2.2).

Вміст загального білку крові складав у середньому 73,12±1,1 г/л.

При проведенні ультразвукового дослідження нирок у 30 (93,8%) хворих спостерігалася нечіткість зовнішнього контуру нирок (втягнення, нерівномірне стоншення кортикального шару нирки до 8-12 мм), утиск контурів чашково-мискової системи (ЧМС), порушення кортико-медулярную диференціації, що свідчить про наявність хронічного запального процесу.

**2.2 Методи дослідження**

В процесі виконання роботи обстежено 105 хворих на хронічний пієлонефрит, з них 73 пацієнти – із супутнім цукровим діабетом 2-го типу. Хворі знаходились на обстеженні та лікуванні у 1 терапевтичному відділенні з нефрологічними ліжками (20) Харківської міської клінічної лікарні швидкої та невідкладної медичної допомоги №4 ім. проф. О.І. Мещанінова. Лабораторні дослідження були виконані в умовах клінічної лабораторії, інструментальні дослідження виконувалися в відділенні функціональної діагностики та в рентгенологічному відділенні лікарні швидкої та невідкладної медичної допомоги №4.

Діагноз ХП верифікували на підставі наступних методів:

1. Методи оцінки стану хворого і верифікації діагнозу: сбір анамнезу, загальний огляд, лабораторні дослідження включали клінічний аналіз крові та сечі, біохімічне дослідження крові – забір крові проводився всім пацієнтам із ліктьової вени у кількості 10 мл вранці натще (через 12 годин після останнього прийому їжі); і інструментальні методи – ультразвукове дослідження нирок проводилося на апараті …;

2. Методи оцінки ефективності антибіотико-терапії вивчалися в динаміці клінічних симптомів і лабораторних показників (клінічного аналізу крові та сечі, біохімічного аналізу крові з визначенням концентрацій креатиніну, сечовини, загального білку);

3. Методи оцінки резистентності in vitro – бактеріологічне дослідження сечі з визначенням чутливості виділених збудників. Матеріалом для мікробіологічного дослідження було 3-5 мл середньої порції вільно випущеної у стерильний посуд сечі. Сечу збирали до початку антибіотикотерапії після ретельного туалету зовнішніх статевих органів. Доставку матеріалу для бактеріологічного дослідження здійснювали не пізніше 2-х годин від моменту збирання. Мікробіологічні дослідження проводили у відповідності до діючих нормативних документів класичними бактеріологічними методами [Приказ № 535 ”Об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений” МЗ СССР от 22.04.1985 г. – 123 с.]. Кількісне визначення бактерій у 1 мл сечі (ступінь бактеріурії) проводили шляхом висіву матеріалу на 5 % кров’яний агар за методом Gould (1965). Також для висіву використовували хромогенний агар ChromID CPS (bioMerieux, Франція) для вилучення та прямої ідентифікації *Escerichia coli*, *Enterococcus spp*, бактерій групи KESC (*Klebsiella spp, Enterobacter spp, Serratia spp, Citrobacter spp*) та *Proteus spp*. Ідентифікацію інших видів бактерій здійснювали за морфологічними, культуральними, біохімічними ознаками згідно з „Визначником бактерій Берджі”, 1997. Для оцінки молекулярно-генетичних характеристик вилучених із сечі штамів використовували добові агарові культури. Для цього чисту бактеріальну культуру, вирощену 18-20 годин на поживному агарі, суспендували у буферному розчині рН 7,0-7,2 до оптичної щільності 3 одиниці за шкалою McFarland. Визначення оптичної щільності бактеріальних суспензій проводили за допомогою денситометру (DENSIMAT, bioMerieux, Франція).

Визначення чутливості вилучених із сечі культур мікроорганізмів до протимікробних препаратів проводили диско-дифузійним методом Bauer-Kirbi на середовищі Хінтон-Мюллера з використанням готових комерційних дисків відповідно до діючих нормативних документів. Облік результатів проводили шляхом виміру зон затримки росту мікроорганізмів навколо дисків, включаючи діаметр самого диска. Результати дослідження антибіотикочутливості мікроорганізмів інтерпретували у відповідності з Наказом МОЗ України №167 [Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів : Наказ. – [Чинний від 2007-04-05]. – К. : МОЗ України, 2007. – 78 с. – (Нормативний документ МОЗ України. Вказівки, Наказ).]. Оцінку результатів проводили за таблицями, що містять граничні значення діаметрів зон затримки росту для стійких, помірно-стійких і чутливих штамів. Отримані значення діаметрів зон затримки росту порівнювали з граничними значеннями таблиць і відносили досліджувані штами до однієї з трьох категорій чутливості.

Крім загальноприйнятих методів обстеження в процесі виконання роботи ми проводили діагностику плазмід-індукованих генних механізмів резистентності методом полімеразної ланцюжкової реакції в лабораторії Вірола.

**Визначення та ідентифікація плазмід-індукованих генних механізмів резистентності.**

Для отримання ДНК використовували наступний метод виділення ДНК (MolecularCloning: A Laboratory Manual, (1989) Second Edition, Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T., eds., ColdSpringHarborLaboratoryPress, ColdSpringHarbor, NY.):

1. Зразки інкубували при 95 ° С в 0,2 М NaOH 15

2. Додавали протеїназу К до концентрації 50 мкг / мл і SDS до 0,5%. Інкубували 12 годин при 37оС.

3. Доводили об'єм зразка до 5 мл розчином 10 мМтріс-ЕДТА, рН 8,0 і послідовно проводили екстракцію ДНК рівними обсягами фенолу, суміші фенол-хлороформ і хлороформом.

4. До зразку додавали 1/10 обсягу 5М ацетату натрію, рН 5,3, перемішували і облягали ДНК 2,5 обсягами холодного 96% етанолу, витримуючи зразок 30 хв. при температурі - 70оС.

5. Пробу центрифугірували 15 хв з прискоренням 12000g. Висушували осад ДНК на повітрі і розчиняли в 200 мкл10 мМтріс-ЕДТА, рН 8.0.

6. Якість виділеної ДНК перевіряли електрофорезом в 1,5% агарозному гелі з візуалізацією етидієм бромідом. Виділену ДНК зберігали при -20 ° С

ПЛР проводили за стандартною схемою за допомогою програмованого термоциклер «Терцик-2» фірми ДНК-технологія.

Використані праймери:

***blaTEM*** 5'-ATG AGT ATT CAA CAT TTC CG

5’-CCA ATG CTT AAT CAG TGA GG;

***blaSHV*** 5’-ATG CGT TAT ATT CGC CTG TG

5’-AGC GTT GCC AGT GCT CGA TC;

***blaCTX-M*** 5’-SCS ATG TGC AGY ACC AGT AA

5’-ACC AGA AYV AGC GGB GC;

***Qnr A*** qnrAF ATTTCTCACGCCAGGATTTG

qnrAR GATCGGCAAAGGTTAGGTCA;

***aac(6’)Ib*** aacIbF TTGCGATGCTCTATGAGTGGCTA

aacIbR CTCGAATGCCTGGCGTGTTT;

***gepA*** qepAF AACTGCTTGAGCCCGTAGAT

qepAR GTCTACGCCATGGACCTCAC

Розміри ампліфікованих фрагментів: - 858, 862, 585, 516, 482, 596 п.н. відповідно.

В реакційну суміш, яка містить 50мм KCl, 10мм трис-HCl pH 8,4, по 5 пМ праймерів, 2,5 мМ MgCl2, 200 мкМ dNTP, 10% DMSO, 5мм меркаптоетанол та 2 одиниці термофільної ДНК-полімерази. Потім додавали краплю вазелінової олії, прогрівали суміш при 95оС протягом 10 хв. і проводили 33 циклу з параметрами:

Денатурація: 95 ОС - 30 сек.

Відпал і елонгація: 50ОС - для праймерів blaTEM,

                                  58 ° С - для праймерів blaSHV і blaSHV,

                                55 ° С - для праймерів qnrA, aac (6 ') Ib і gepA, 30 сек.

Фінальну інкубацію проводили при 72оС протягом 10 хв.

Результати ПЛР оцінювали після проведення електрофорезу в 2% агарозному гелі з подальшим фарбуванням в розчині етидію бромиду з концентрацією 1 мг/мл, в якості маркера молекулярної ваги використовували ДНК плазміди puc19 гідролізовану ферментом HpaII.

**Визначення ІЛ-6 в плазмі крові**.

Для визначення рівня ІЛ-6 використовували імуноферментні тест-системи «ProCon» (ООО «Протеиновый контур», Санкт-Петербург, Росія).

*Принцип методу:* для вимірювання рівня ІЛ-6 використовується твердофазний імуноферментний метод з застосуванням пероксидази хрону у якості індикаторного ферменту. Один тип антитіл імобілізується на внутрішніх поверхнях лунок планшетів для мікротитрування. Другий тип моноклональних антитіл для незалежного епітопу молекули ІЛ-1β знаходиться в наборі у вигляді кон’югата з біотином. Індикаторним компонентом є кон’югат пероксидази хрону зі стрептовідином, що має дуже високу спорідненість до біотину. Після інкубацій і промивань в лунки вносять кон’югат пероксидази зі стрептовідином, знову інкубують, промивають, вносять субстрат і вимірюють активність зв’язаної пероксидази з використанням автоматичного фотометра.

*Об'єкт дослідженн*я - плазма крові. Набір матеріалу для дослідження вмісту ІЛ-6 у крові проводився в такий спосіб: в обстежуваних хворих ранком натще в пробірку, що містить стабілізатор (ЕДТА), забирали 5 мл венозної крові, що відразу центрифугували, відбирали зразки плазми й заморожували. Зразки плазми зберігалися при температурі мінус 20° С.

*Постановка імуноферментного аналізу:*

В усі лунки планшета набору для імуноферментного аналізу «ProCon» додавали 300мкл буфера для промивання й витримували протягом 5 хвилин, потім проводили повну аспірацію рідини. Готували набір стандартів ІЛ-1β, змішуючи стандартний зразок (1нг/мл) з буфером за наступною схемою:

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Концентрація ІЛ-6 | Об’єм стандарту (1нг/мл) | Об’єм буфера |
| 500 пг/мл | 100 мкл | 100 мкл |
| 250 пг/мл | 50 мкл | 150 мкл |
| 100 пг/мл | 20 мкл | 180 мкл |
| 50 пг/мл | 10 мкл | 190 мкл |

В усі лунки мікропланшета вносили по 100 мкл біотінільованих моноклональних антитіл, потім по 100 мкл досліджуваної плазми, инкубували протягом 1 години при температурі 37° С, після чого промивали їх буфером, вносили в лунки по 200 мкл розчину стрептовідину з пероксидазой хрону та інкубували 30 хвилин. Потім лунки тричі промивали буфером і вносили по 200 мкл розчину субстрату з барвником в усі лунки. Після інкубації протягом 15-25 хвилин додавали 50 мкл розчину сірчаної кислоти в кожну лунку для зупинки реакції.

Підрахунок результатів проводили з використанням фотометра-аналізатора імуноферментного Humareader, 2003 р., № 2106-1709, при довжині хвилі 492 нм.

**2.3 Статистичні методи дослідження.**

Статистичну обробку даних проводили за допомогою пакету статистичних програм Statistica 6.0. На першому етапі проводили візуальний аналіз даних, визначали характер кривих розподілів і вибирали відповідні методи аналізу. Для параметричного аналізу використовували блок базових статистик. Оцінку значимостей відмінностей середніх проводили за допомогою ANOVA. Для аналізу непараметричних даних використовував блок непараметричних статистик, методи обиралися у відповідності з характером аналізованих даних. При аналізі за допомогою чотирипольних таблиць результати оцінювали в залежності від вихідних даних за критерієм Хі квадрат (при необхідності з поправкою Йеті) або по точному критерію Фішера. При проведенні факторного аналізу на першому етапі оцінювалася кількість значущих чинників, а потім проводився сам аналіз, за ​​стандартною процедурою. Використовувався тип обертання - варімакс нормалізованності, як найбільш адекватний для характеру наявних даних.

**ГЛАВА 3**

**ВЛАСНІ СПОСТЕРЕЖЕННЯ**

**3.1 ПОШИРЕНІСТЬ ПЛАЗМІД-ІНДУКОВАНИХ МЕХАНІЗМІВ РЕЗИСТЕНТНОСТІ СЕРЕД ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПІЄЛОНЕФРИТ І СУПУТНІЙ ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ.**

Поширеність плазмід-індукованих механізмів резистентності серед хворих з ІСС варіює між країнами. Так, згідно опублікованих даних дослідження SENTRY, поширеність плазмідних механізмів стійкості до β-лактамів серед таких хворих складає 6,4% [29]. Щодо плазмід-індукованої резистентності до фторхінолонів, Longhi C та соавт. в своєму дослідженні демонструють такі рівні: 11% для амбулаторних пацієнтів з ІСС та 21% - для госпіталізованих [75]. Поширеність плазмід-індукованих механізмів резистентності серед збудників ІСС згідно даних дослідження SMART складає 11,6% для E. coli і 17,9% для K.pneumoniae [56]. А річний звіт європейської громади з епіднагляду за антимікробною резистентністю (EARS-Net) за 2012 рік, наголошує о 85-100% наявності плазмідних βЛРС серед уропатогенних штамів E. coli і K.pneumoniae, резистентних до 3-ї генерації цефалоспоринів [38]. Однак, в Україні, даних щодо розповсюдженості плазмід-індукованих механізмів резистентності серед пацієнтів з інфекціями сечової системи, зокрема ХП, нема.

Тому, завданням нашого дослідження було вивчити поширеність плазмід-індукованих механізмів резистентності серед хворих на хронічний пієлонефрит з і без супутнього ЦД 2 типу, та визначити основні види бактерій з наявністю плазмідних генів резистентності.

**3.1.1 Виявлення плазмід-індукованих механізмів антибіотико-резистентності у хворих на хронічний пієлонефрит.**

Серед обстежених 105 хворих на ХП, у 31 (29,5%) були виявлені плазмід-індуковані механізми резистентності, серед яких у 20 (19%) хворих виявлені βЛРС, у 9 (9%) – гени резистентності до фторхінолонів та у 2 (2%) хворих – комбінація βЛРС і генів резистентності до фторхінолонів (малюнок 3.1).

Мал. 3.1 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП.

Всього було виявлено 44 плазмідних генів резистентності: 30 (68,2%) βЛРС та 14 (31,8%) – генів стійкості до фторхінолонів. Серед 30 виявлених βЛРС було 11 (25%) генів blaTEM, 11 (25%) – blaCTX-M та 8 (18,2%) – blaSHV. Серед генів резистентності до фторхінолонів було виявлено 4 (9,1%) протеїна QnrА, 3 (6,8%) – аміноглікозид-ацетилтрансферази AAC(6')-Ib-cr, та 7 (15,9%) генів QepA (малюнок 3.2).

Мал. 3.2 Виявлення різних типів плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП.

Отже, виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності серед хворих на ХП складає 29,5%. Найпоширенішими генами визначені βЛРС (19%), розповсюдження генів резистентності до фторхінолонів складає 9%, у 2% хворих – виявилася комбінація βЛРС і генів стійкості до фторхінолонів. Серед βЛРС, по виявляємості, домінували гени blaTEM і blaCTX-M; серед генів резистентності до фторхінолонів – efflux pump QepA.

**3.1.2 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності в залежності від наявності супутнього цукрового діабету 2 типу.**

В залежності від наявності супутньої патології – ЦД 2 типу, хворі були розподілені на 2 групи: І група – хворі на ХП із ЦД 2 типу, ІІ група – пацієнти із ХП без ЦД 2 типу. У пацієнтів на ХП і ЦД 2 типу, виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності дещо вища і становить 31,5% (23/73), тоді як у пацієнтів із ХП без діабету – 25% (8/32), проте достовірних відмінностей між групами не виявлено.

В першій групі (n=73), всього було виявлено 28 (38,4%) плазмідних генів резистентності: 20 генів βЛРС та 8 генів стійкості до фторхінолонів. В другій групі (n=32), було виявлено 16 (50%) плазмідних генів резистентності: 10 генів βЛРС та 6 – генів стійкості до фторхінолонів (малюнок 3.3).

Мал. 3.3 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу.

По типам виявлених генів, в І групі серед βЛРС переважали типи blaTEM і blaCTX-M, серед генів стійкості до фторхінолонів – протеїн QnrА. В ІІ групі – серед βЛРС також переважали типи blaTEM і blaCTX-M, серед генів стійкості до фторхінолонів – efflux pump QepA (малюнок 3.4).

Мал. 3.4 Виявлення різних типів плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу.

Отже, виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП і супутнім ЦД 2 типу вище ніж у пацієнтів без діабету (31,5% vs. 25%), однак достовірних відмінностей між групами не виявлено. Серед генів стійкості до β-лактамів переважають β-лактамази типів blaTEM і blaCTX-M в обох групах, серед генів резистентності до фторхінолонів в І групі – протеїн QnrА, в ІІ групі – efflux pump QepA.

**3.1.3 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності серед збудників хронічного пієлонефриту.**

За результатами бактеріологічного дослідження сечі було виділено 120 патогенних збудників: 81 штам (67,5%) Грам-негативної флори, 34 (28,3%) – Грам-позитивні бактерії та 5 (4,2%) бактерій грибкової флори. Серед Г- бактерій домінуючим збудником виявилася E.coli (44%), серед Г+ флори – сімейство Enterococcus spp (14%). Типи виявлених збудників представлені на малюнку 3.5

Мал. 3.5 Виявлені збудники у хворих на ХП і ЦД 2 типу.

Серед 115 виділених штамів, 30 (26,1%) були продуцентами βЛРС. Максимум генів β-лактамаз було виділено у P.mirabilis - 4 (50%), виявлення βЛРС в штамах E.сoli склала 37,7%, K.pneumoniae – 22,2%. Серед Грам-позитивної флори, гени антибіотико-резистентності виявлені у 13,3% виділених бактерій. Найпоширенішими βЛРС були гени blaTEM і blaCTX-M з частотою виявлення 33.3% та 36.6% відповідно (таблиця 3.1).

Таблиця 3.1

**Виявляємість плазмідних βЛРС у збудників ХП**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Збудники** | **Загальна кількість n (%)** | **ESBLs гени n (%)** | | |
| **blaCTX-M** | **blaTEM** | **blaSHV** |
| **E. coli** | 20 (37.7) | 6 (30) | 10 (50) | 4 (20) |
| **K.pneumoniae** | 2 (22.2) | 2 (100) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| **P.mirabilis** | 4 (50) | 1 (25) | 1 (25) | 2 (50) |
| **Staphylococcus spp.** | 1 (8.3) | 1 (100) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| **Enterococcus spp.** | 2 (11.8) | 1 (50) | 0 (0.0) | 1 (50) |
| **Corynebacterium** | 1 (25) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (100) |

Виявляємість плазмідних генів резистентності до фторхінолонів серед збудників ХП склала 12,2% (14/115). Найбільше генів резистентності було виявлено в штамах P.aeruginosa (50%), E.coli (15,1%) та P.mirabilis (12,5%). Серед Грам-позитивної флори, питома вага генів стійкості склала 11,8%. Найпоширенішими генами були виявлені efflux pump QepA та протеїн QnrА з частотою виявлення 42,8% та 35,7% відповідно (таблиця 3.2).

Таблиця 3.2

**Виявляємість плазмідних генів резистентності до фторхінолонів у збудників ХП**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Збудники** | **Загальна кількість n (%)** | **гени резистентності до фторхінолонів n (%)** | | |
| **QnrА** | **AAC(6')-Ib-cr** | **QepA** |
| **E. coli** | 8 (15.1) | 2 (25) | 2 (25) | 4 (50) |
| **K.pneumoniae** | 1 (11.1) | 0 (0.0) | 0 (0.0) | 1 (100) |
| **P.mirabilis** | 1 (12.5) | 0 (0.0) | 1 (100) | 0 (0.0) |
| **P.aeruginosa** | 2 (50) | 2 (100) | 0 (0.0) | 0 (0.0) |
| **Enterococcus spp.** | 2 (11.8) | 1 (50) | 0 (0.0) | 1 (50) |

Із 30 βЛРС-продукуючих мікроорганізмів, у 6 (20%) виявлені різні комбінації генів. Патогенні бактерії E.coli мали: 2 штами – комбінацію QepA, blaTEM і blaCTX-M, 2 – blaTEM і blaCTX-M, і один штам мав комбінацію blaSHV і QnrА. В штамі P.mirabilis була виявлена комбінація 2 βЛРС: blaTEM і blaCTX-M (малюнок 3.6).

Мал. 3.6 Виявлені комбінації плазмід-індукованих механізмів резистентності серед збудників ХП.

Таким чином, виявлення плазмід-індукованих генних механізмів резистентності серед основних збудників ХП складає 38,3%. Виявляємість βЛРС складає 26,1%, генів резистентності до фторхінолонів – 12,2%. Максимум генів β-лактамаз було виділено в штамах P.mirabilis (50%), генів резистентності до фторхінолонів – в штамах P.aeruginosa (50%). В патогенних ізолятах E.coli було виявлено найбільшу кількість комбінацій генів стійкості.

Найпоширенішими βЛРС були виявлені типи blaTEM і blaCTX-M з частотою виявлення 33.3% та 36.6% відповідно. Серед генів резистентності до фторхінолонів домінували efflux pump QepA (42,8%) та протеїн QnrА (35,7%).

Поширеність плазмід-індукованих механізмів резистентності серед хворих на ХП складає 29,1%. Розповсюдження плазмідних βЛРС становило 19%, генів резистентності до фторхінолонів – 9%, у 2% хворих виявилася комбінація βЛРС і генів резистентності до фторхінолонів. Отже, спостерігається висока розповсюдженість плазмідних генів стійкості серед хворих на ХП, що, можливо, є однією із причин зниження ефективності лікування пієлонефриту, оскільки за даними офіційного реєстру хворих з ХХН в Україні за 2012 рік саме ХП в структурі причин ХХН V ст. займає провідну позицію [8]. Щодо даних світової статистики, ІСС є найбільш розповсюдженими інфекціями серед всіх бактеріальних інфекцій [40], і поширеність плазмідних механізмів стійкості серед таких хворих варіює від 6,4% згідно дослідження SENTRY [29] до 52% згідно даних Sharma M та співавт. [108]. Longhi C та співавт. в своєму дослідженні демонструють такі рівні плазмід-індукованої резистентності до фторхінолонів: 11% для амбулаторних пацієнтів з ІСС та 21% - для госпіталізованих [74]. Крім того, поширеність генів резистентності також щорічно зростає завдяки високій активності мобільних генетичних елементів – плазмід [38].

У хворих на ХП із супутнім ЦД 2 типу вивляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності дещо вища і становить 31,5%, тоді як у пацієнтів без діабету – 25%, проте достовірних відмінностей не виявлено. Лікування ХП, особливо на тлі ЦД 2 типу, є досить складними завданням для клініцистів, і, можливо, однією із причин, є саме вплив плазмід-індукованих механізмів резистентності. По виявляємості домінували βЛРС як у пацієнтів із ХП і супутнім ЦД 2 типу, так і без останнього, хоча розповсюдженість плазмідних генів стійкості до фторхінолонів теж була доволі висока (11% для І групи, 19% - для ІІ групи). По даним різних авторів, ЦД є незалежним фактором ризику, що сприяє колонізації сечової системи бактеріями з плазмідними механізмами резистентності [45, 65]. Проте, в нашому дослідженні, достовірних відмінностей по виявляємості плазмідних генів резистентності серед хворих на ХП в залежності від наявності супутнього ЦД 2 типу, виявлено не було. Тому, у зв’язку з суперечливими даними, цей факт потребує подальших досліджень з метою підвищення ефективності АБТ.

Щодо розповсюдженості плазмід-індукованих механізмів резистентності серед основних збудників ХП, в нашому дослідженні вона складала 38,3%: 26,1% генів, що кодують βЛРС та 12,3% генів – що опосередковують резистентність до фторхінолонів. Максимум генів β-лактамаз було виділено у P.mirabilis - 4 (50%), виявлення βЛРС в штамах E.сoli склала 37,7%, K.pneumoniae – 22,2%. Найбільш поширеними визнані типи blaTEM і blaCTX-M. Найбільше генів резистентності до фторхінолонів було виявлено в штамах P.aeruginosa (50%), E.coli (15,1%) та P.mirabilis (12,5%). Домінуючими генами були efflux pump QepA та протеїн QnrА. В Європейських країнах, згідно даних річного звіту європейської громади з епіднагляду за антимікробною резистентністю (EARS-Net) за 2013 рік, поширеність βЛРС серед клінічних штамів E. coli і K.pneumoniae, резистентних до 3-ї генерації цефалоспоринів, варіює від 85-100% [38]. Поширеність плазмід-індукованих генів резистентності до фторхінолонів серед клінічних штамів Escherichia coli і K.pneumoniae в Таїланді становить 22,3% і 65,3% відповідно. За виявленням гени розташувалися в наступному порядку: aac (6 ') - Ib-cr, qnrS, qnrB і qnrA [87].

При інфекціях, викликаних βЛРС-продукуючими бактеріями, визначається висока частота перехресної резистентності, що обмежує застосування як фторхінолонів, так і аміноглікозидів [32]. Згідно даних Ferjani S та соавт., виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності серед βЛРС-продукуючих бактерій склало 60% [39]. Дослідження GEIH-ESBL 2006 project демонструє виявлення протеїнів Qnr серед βЛРС-продукуючих мікроорганізмів, що склало 3,7%, а виявлення аміноглікозид-ацетилтрансферази (aac (6 ') - Ib-cr) – 16,2% [25]. В нашому дослідженні, виявлення плазмідних генів резистентності до фторхінолонів серед βЛРС-продукуючих мікроорганізмів становило 10%.

Висновки.

1. Поширеність плазмід-індукованих механізмів резистентності серед хворих на ХП становить 29,5%: 19% за рахунок βЛРС, 9% - складають гени резистентності до фторхінолонів та 2% хворих мають комбінацію βЛРС та генів стійкості до фторхінолонів. У пацієнтів на ХП і ЦД 2 типу, виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності дещо вища – 31,5% (23/73), у пацієнтів із ХП без діабету – виявляємість становить 25% (8/32), проте достовірних відмінностей між групами не виявлено.
2. Виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності серед збудників ХП становить 38,3%: 26,1% складають βЛРС, 12,2% - гени стійкості до фторхінолонів. Найбільш поширеними серед βЛРС були визначені типи blaTEM і blaCTX-M, серед генів стійкості до фторхінолонів - efflux pump QepA та протеїн QnrА.

**3.2 ОСНОВНІ ФАКТОРИ, ПОВ'ЯЗАНІ З НАЯВНІСТЮ ПЛАЗМІД-ІНДУКОВАНИХ МЕХАНІЗМІВ РЕЗИСТЕНТНОСТІ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПІЄЛОНЕФРИТ І СУПУТНІЙ ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ**

Фактори, що можуть бути пов’язані з наявністю у хворого на ХП і супутній ЦД 2 типу плазмід-індукованих механізмів резистентності, вивчені недостатньо. Так, згідно досліджень, достовірними факторами ризику інфекції, спричиненої мікроорганізмами з плазмідними генами резистентності, є: чоловіча стать; вік 65 років і вище; випадок не давньої госпіталізації; лікування в попередні 3 місяці цефалоспоринами, пеніцилінами та фторхінолонами; захворювання простати; деменція; діабет [18, 126]. Проте, можливі взаємозв’язки між тривалістю ХП, наявністю ХХН різних стадій, супутньої обструкції сечовивідних шляхів, артеріальної гіпертензії у таких хворих, залишаються нез’ясованими. Крім того, невизначеними є вплив плазмід-індукованих механізмів резистентності на клінічну картину захворювання, ступінь активності ХП, а також можливі взаємозв’язки між вираженістю лейкоцитурії, протеїнурії, тощо, тобто основних клінічних характеристик пієлонефриту.

Встановлення факторів, що можуть бути пов’язані з колонізацією сечової системи бактеріями з плазмідними генами стійкості, дозволить відокремити основні категорії хворих на ХП і ЦД 2 типу, яким доцільно в план обстеження включати дослідження експресії плазмід-індукованих механізмів резистентності.

**3.2.1** **Вплив** **плазмід-індукованих механізмів резистентності на клінічні характеристики ХП.**

Для аналізу взаємозв’язків плазмідних генів резистентності з вираженістю клінічних симптомів, хворі з ХП були розподілені на 2 групи: група А – пацієнти з наявністю плазмідних генів резистентності; група В – пацієнти без генів стійкості. У хворих, що не мають генів резистентності, скарги на підвищення температури тіла вище 37,2⁰, дизурію, больовий та інтоксикаційний синдроми, пред’являло 55%, 47%, 95% та 100% хворих відповідно. Щодо пацієнтів з виявленими генами резистентності, у більшої половини (52,9%) спостерігається відсутність лихоманки, у 47% та 15% - відсутність сечового та больового синдромів відповідно (малюнок 3.7).

Малюнок 3.7 Виразність клінічних симптомів ХП в залежності від наявності плазмідних генів резистентності.

При об’єктивному обстеженні: середня температура тіла склала 37,3±0,07; підвищення АТ було виявлено у 71 (67,6%) хворих з ХП, середні показники: САТ – 140,3±2,4 мм.рт.ст.; ДАТ – 86,7±1,2 мм.рт.ст.; середній рівень частоти серцевих скорочень та пульсу склав 83,3±1,1 та 82,8±1,1 ударів за хвилину відповідно. Дані об’єктивного обстеження по групах представлено у таблиці 3.3.

Таблиця 3.3

**Показники об’єктивного обстеження пацієнтів з ХП в залежності від наявності плазмідних генів стійкості**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **t⁰ тіла** | **САТ**  **(мм.рт.ст.)** | **ДАД**  **(мм.рт.ст.)** | **ЧСС**  **(уд/хв.)** | **PS**  **(уд/хв.)** |
| Група А | 37,2±0,1 | 143,2±4,7 | 87,8±2,2 | 82,8±2,1 | 82,5±2,1 |
| Група В | 37,3±0,2 | 139,3±2,9 | 86,4±1,4 | 83,6±1,4 | 83±1,3 |

При лабораторному обстеженні, показники азотемії були підвищеними у 41 (39%) осіб, середній рівень креатиніну становив – 148,4±12,1 мкмоль/мл, сечовини – 9,32±0,56 ммоль/мл; в клінічному аналізі сечі відносна щільність в середньому склала 1013,5±0,6; при дослідженні сечового осаду лейкоцитурія мала місце у 85 (80,9%) пацієнтів, гематурія була виявлена у 35 (33,3%), альбумінурія зустрічалася у 32 (30,5%), протеїнурія у 23 (21,9%). При подальшому аналізі встановлено, що у пацієнтів, які мають гени резистентності, виявлено достовірно більші показники азотемії, альбумінурії та протеїнурії і достовірно нижчу ШКФ (таблиця 3.4).

Таблиця 3.4

**Дані лабораторних обстежень пацієнтів з ХП в залежності від наявності плазмідних генів стійкості**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **ШКФ, мл/хв/1,73м2** | **Креатинін крові, мкмоль/л** | **Сечовина крові, ммоль/л** | **Загальний білок крові (г/л)** | **Альбумінурія (г/л)** | **Протеїнурія**  **(г/л)** |
| Група А | 54,3±6,03 | 168,5±25,02 | 11,1±1,1 | 70,8±1,5 | 0,07±0,01 | 1,45±0,61 |
| Група В | 74,7±4,4 | 139,8±13,2 | 8,6±0,6 | 73,7±1,2 | 0,06±0,01 | 0,75±0,17 |

При проведенні аналізу між наявністю генів резистентності і виразністю лейкоцитурії, виявлено, що у пацієнтів без генів резистентності, питома вага цього лабораторного показника дещо вище ніж у хворих з виявленими генами стійкості (85% vs. 71%, p≥0,05), малюнок 4.2.

Мал. 3.8 Виразність лейкоцитурії у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від наявності плазмідних генів резистентності.

При розподілі хворих за ступенем активності ХП, виявлено: І ст. активності мали 20 (19%) пацієнтів, ІІ ст. активності – 43 (40,9%), ІІІ ст. мала місце у 42 (40%) осіб. При наступному аналізі взаємозв'язків між наявністю генів стійкості і ступенем активності ХП встановлено, що у пацієнтів з І ст. активності ХП питома вага плазмідних генів достовірно вище (85%) порівняно з пацієнтами з ІІ ст. (18,6%, р<0,05) та ІІІ ст. (45,2%, р<0,05) активності. Виявлення різних типів плазмідних генів резистентності в залежності від ступеня активності пієлонефриту показано на малюнку 3.9.

Мал. 3.9 Виявлення плазмідних генів резистентності в залежності від ступеня активності ХП.

Примітка: **\* -** припорівнянні І та ІІ ст. активності; **\*\*** - при порівнянні ІІ та ІІІ ст. активності; **\*\*\* -** при порівнянніІ та ІІІ ст. активності.

Отже, у пацієнтів з плазмідними генами резистентності, у більшої половини (52,9%) спостерігається відсутність лихоманки, у 47% та 15% - відсутність сечового та больового синдромів відповідно. Щодо лабораторних даних, показники азотемії були достовірно вище у пацієнтів з виділеними генами резистентності; питома вага лейкоцитурії була вище у пацієнтів без генів резистентності, проте достовірних відмінностей не виявлено; середні показники загального білку крові достовірно не відрізнялися поміж груп; середні значення альбумінурії та протеїнурії були достовірно вище у хворих з виділеними плазмідними генами резистентності. Проте, по критеріям активності ХП, пацієнти, що не мають плазмідних генів стійкості, були віднесені до ІІ та ІІІ ступеня (80% та 55% пацієнтів відповідно), тоді як 85% хворих з виявленими генами резистентності, були віднесені до І ступеня активності ХП.

**3.2.3 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від стадії ХХН.**

При аналізі розповсюдженості плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих з різними стадіями ХХН, встановлено тенденцію до збільшення колонізації сечового тракту бактеріями с генами стійкості при прогресуванні ХХН. Так у хворих з ХХН І ст., частота виявлення генів резистентності склала 23,8%, з ХХН ІІ ст. – 28,6%, ХХН ІІІ ст. – 55,6% (р<0,05), а у пацієнтів з вираженою нирковою недостатністю ХХН ІV ст. – 55,2% (р<0,05). Виявлення різних типів плазмідних генів резистентності в залежності від стадії ХХН представлено на малюнку 3.10.

Мал. 3.10 Виявлення плазмідних генів резистентності у хворих на ХП в залежності від стадії ХХН.

Примітка: **\* -** р≤0,05припорівнянні ХХН І та ІІІ ст. активності; **\*\*** - р≤0,05 при порівнянні І та ІV ст. ХХН.

При аналізі розповсюдженості плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу в залежності від стадії ХХН, встановлено, що при ХХН І ст., виявлення генів стійкості переважає у пацієнтів І групи (26% vs 0%), при ХХН ІІ ст. – у пацієнтів ІІ групи (40% vs 26%), проте найвища питома вага плазмідних генів резистентності спостерігається при ХХН ІІІ ст. та ХХН ІV ст. в обох групах (малюнок 3.11).

Мал. 3.11 Виявлення плазмідних генів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу в залежності від стадії ХХН.

При аналізі типів виявлених генів, встановлено, що серед хворих з ХХН І ст. переважають βЛРС типу blaSHV, та ефлюкс насос QepA; серед пацієнтів з ХХН ІІ ст. – гени blaTEM та blaCTX-M; з ХХН ІІІ ст. – βЛРС blaTEM та ефлюкс насос QepA; з ХХН ІVст. – βЛРС blaCTX-M та протеїн QnrА (таблиця 3.5).

Таблиця 3.5

**Типи виявлених генів у хворих з різними стадіями ХХН**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| **Гени** | **Стадії ХХН** | | | |
| ***ХХН І ст..*** | ***ХХН ІІ ст..*** | ***ХХН ІІІ ст..*** | ***ХХН ІV ст..*** |
| blaCTX-M | 0 (0,0%) | 2 (7,1%) | 4 (14,8%) | 5 (17,2%) |
| blaTEM | 0 (0,0%) | 2 (7,1%) | 5 (18,5%) | 4 (13,8%) |
| blaSHV | 2 (9,5%) | 1 (3,6%) | 3 (11,1%) | 2 (6,9%) |
| QnrА | 1 (4,8%) | 1 (3,6%) | 0 (0,0%) | 2 (6,9%) |
| QepA | 2 (9,5%) | 1 (3,6%) | 2 (7,4%) | 2 (6,9%) |
| AAC(6 ')-Ib-cr | 0 (0,0%) | 1 (3,6%) | 1 (3,7%) | 1 (3,4%) |

Отже, колонізація уропатогенів з плазмідними генами найвища у пацієнтів з начальною та вираженою нирковою недостатністю (ХХН ІІІ та ІV ст.), що простежується в усіх групах обстежених хворих. β-лактамази розширеного спектру дії були визначені як найбільш поширені плазмід-індуковані механізми резистентності.

**3.2.4 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП в залежності від наявності обструкції сечовивідних шляхів.**

Серед обстежених пацієнтів із ХП, обструкція сечовивідних шляхів була виявлена у 22 осіб. При аналізі розповсюдженості плазмід-індукованих механізмів резистентності в залежності від наявності обструкції, встановлено, що у пацієнтів з обструктивним пієлонефритом питома вага генів резистентності була дещо вище (45,5% vs 40,9%), проте достовірних відмінностей між групами не виявлено (малюнок 3.12).

Мал. 3.12 Виявлення плазмідних генів резистентності в залежності від наявності обструкції сечових шляхів.

У хворих на ХП з із без супутнього ЦД 2 типу, обструкція сечових шляхів була виявлена у 3 та 19 осіб відповідно. У пацієнтів із ХП без супутнього ЦД 2 типу, виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності склало 52,6%, проте, у хворих, що страждають ХП на тлі ЦД 2 типу, плазмідних генів стійкості виявлено не було. У пацієнтів з необструктивним пієлонефритом, виявлення генів стійкості в І групі склало 33,3%, в ІІ групі – 55,2% (малюнок 3.13)

Мал. 3.13 Виявлення плазмідних генів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу в залежності від наявності обструкції сечових шляхів.

При аналізі типів виявлених генів, встановлено, що серед хворих з обструктивним пієлонефритом переважають βЛРС типів blaTEM і blaCTX-M, серед генів резистентності до фторхінолонів – протеїн QnrА. У пацієнтів з необструктивним пієлонефритом, виявляємість 3-х типів βЛРС була однаковою, серед механізмів резистентності до фторхінолонів переважав ефлюкс насос QepA (таблиця 3.6).

Таблиця 3.6

**Типи виявлених генів в залежності від наявності обструкції сечових шляхів**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Гени** | **Обструктивний ПН** | **Необструктивний ПН** |
| blaCTX-M | 3 (13,6%) | 8 (9,6%) |
| blaTEM | 3 (13,6%) | 8 (9,6%) |
| blaSHV | 0 (0,0%) | 8 (9,6%) |
| QnrА | 2 (9,1%) | 2 (2,4%) |
| QepA | 1 (4,5%) | 6 (7,2%) |
| AAC(6 ')-Ib-cr | 1 (4,5%) | 2 (2,4%) |

Таким чином, у пацієнтів із ХП без супутнього ЦД 2 типу, проте з наявністю обструкції сечових шляхів, колонізація бактеріями з плазмідними генами резистентності вище ніж у пацієнтів з необструктивним пієлонефритом. Однак, у хворих, що страждають ХП на тлі ЦД 2 типу, виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності вище у пацієнтів з необструктивним пієлонефритом.

**3.2.5** **Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від наявності епізодів перенесеної інфекції сечової системи (ІСС).**

Серед обстежених пацієнтів, наявність епізоду перенесеної ІСС було відмічено у 11 осіб. Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності серед цих хворих склало (63,6%). Серед чоловіків, наявність простатиту була відмічена у 4 осіб, серед яких у 3 (75%) були виявлені плазмідні гени стійкості. Серед жінок, епізод перенесеного циститу мав місце у 7 осіб, серед яких гени антибіотикорезистентності були виявлені у 4 (57,1%), малюнок 3.14.

Мал. 3.14 Виявлення плазмідних генів резистентності в залежності від наявності перенесеного епізоду ІСС.

У хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу, епізод перенесеної ІСС мав місце у 3-х та 8 осіб відповідно. Виявлення плазмід-індукованих механізмів у пацієнтів І групи склало 62,5%, найпоширенішими типами були виявлені βЛРС типу blaCTX-M та ефлюкс насос QepA. У пацієнтів ІІ групи питома вага плазмідних генів резистентності склала 66,7%, переважно за рахунок генів стійкості до фторхінолонів (малюнок 3.15).

Мал. 3.15 Виявлення плазмідних генів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу в залежності від наявності перенесеного епізоду ІСС.

При аналізі типів виявлених генів, встановлено, що серед чоловіків із хронічним простатитом, переважають βЛРС типу blaCTX-M, серед жінок із епізодом перенесеного циститу – гени резистентності до фторхінолонів (таблиця 3.7).

Таблиця 3.7

**Типи виявлених генів в залежності від наявності епізоду перенесеної ІСС**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Гени** | **Простатит** | **Цистит** |
| blaCTX-M | 2 (50%) | 0 (0,0%) |
| blaTEM | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) |
| blaSHV | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) |
| QnrА | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) |
| QepA | 1 (25%) | 2 (28,6%) |
| AAC(6 ')-Ib-cr | 0 (0,0%) | 2 (28,6%) |

Отже, у пацієнтів на ХП при наявності епізоду перенесеної ІСС, виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності достовірно вище як у хворих із супутнім ЦД 2 типу, так і без останнього. У чоловіків, епізод перенесеного простатиту, достовірно пов’язаний з виявленням плазмідних генів стійкості, серед жінок – епізод циститу.

**3.2.6 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від наявності артеріальної гіпертензії.**

При аналізі розповсюдженості плазмід-індукованих механізмів стійкості у хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу в залежності від наявності артеріальної гіпертензії (АГ) встановлено достовірно вищу частоту виявлення генів антибіотикорезистентності серед пацієнтів із АГ (50,7% vs 23,5%, p≤0,05), малюнок 3.16.

Мал. 3.16 Виявлення плазмідних генів резистентності в залежності від наявності артеріальної гіпертензії.

У хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу, артеріальна гіпертензія була виявлена у 43 (58,9%) та 28 (87,5%) пацієнтів відповідно. При подальшому аналізі встановлено, що у пацієнтів І групи з АГ, виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності складає 46,4%, ІІ групи з АГ – 53,5%. Виявлення плазмідних генів резистентності у хворих без АГ склало: в І групі – 75%, в ІІ групі – 16,7% (малюнок 3.17).

Мал. 3.17 Виявлення плазмідних генів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу в залежності від наявності артеріальної гіпертензії.

При аналізі типів виявлених генів встановлено, що у пацієнтів без артеріальної гіпертензії, по виявляємості домінували гени резистентності до фторхінолонів, тоді як у хворих із АГ, переважали β-лактамази розширеного спектру дії (таблиця 3.8).

Таблиця 3.8

**Типи виявлених генів в залежності від наявності АГ**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| **Гени** | **З АГ** | **Без АГ** |
| blaCTX-M | 10 (14,1%) | 1 (2,9%) |
| blaTEM | 11 (15,5%) | 0 (0,0%) |
| blaSHV | 8 (11,3%) | 0 (0,0%) |
| QnrА | 2 (2,8%) | 2 (5,9%) |
| QepA | 3 (4,2%) | 4 (11,8%) |
| AAC(6 ')-Ib-cr | 2 (2,8%) | 1 (2,9%) |

Таким чином, виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності достовірно вище у пацієнтів із артеріальною гіпертензією (51% vs 24%, р≤0,05). Проте, у хворих, що страждають ХП і ЦД 2 типу, питома вага генів стійкості була високою як у пацієнтів із АГ, так і без останньої (46% та 75% відповідно).

Отже, у пацієнтів, що страждають ХП і ЦД 2 типу на тлі ХХН ІІІ та ІV стадій; або із супутніми: обструкцією сечовивідних шляхів; артеріальною гіпертензією; наявністю епізодів перенесеного простатиту або циститу, можливість колонізації сечової системи бактеріями з плазмідними генами резистентності достовірно вище. Тому, в план обстеження таких пацієнтів доцільно включати дослідження експресії плазмід-індукованих механізмів резистентності з метою раціонального підбору АБП.

**3.2.7 Фактори, що можуть бути пов’язані з наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП і ЦД 2 типу.**

З метою підвищення ефективності антибактеріальної терапії та запобігання поширення мульти-резистентності серед уропатогенів, по всьому світі проводиться пошук факторів, що можуть сприяти колонізації сечового тракту бактеріями з плазмідними генами стійкості. Ми проаналізували взаємозв’язки між наявністю генів резистентності у хворих на ХП і ЦД 2 типу та статтю, віком, тривалістю хронічного пієлонефриту, факту стаціонарного лікування протягом року та прийомом антибіотиків з різних причин.

**3.2.7.1 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності в залежності від статі.**

Частота виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності серед чоловіків склала 35,7%, переважно за рахунок генів стійкості до фторхінолонів, серед жінок виявляємість склала 42,9%, переважали βЛРС. Поширення генів резистентності по групах представлено на малюнку 3.18

Мал. 3.18 Виявлення плазмідних генів резистентності в залежності від статі.

При аналізі виявляємості плазмідних генів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу, питома вага генів резистентності серед жінок в І групі склала 55,6%, в ІІ групі – 35,9%; серед чоловіків – І групі генів не виділено, в ІІ групі – виявлення склало 55,6% (малюнок 3.19).

Мал. 3.19 Виявлення плазмідних генів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу в залежності від статі.

По типам виявлених плазмідних механізмів резистентності, серед чоловіків домінували гени стійкості до фторхінолонів, серед жінок – β-лактамази розширеного спектру дії (таблиця 3.9).

Таблиця 3.9

**Типи виявлених генів в залежності від статі**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
| Гени | І група | | ІІ група | |
| Чоловіки (n=9) | Жінки  (n=64) | Чоловіки (n=5) | Жінки  (n=27) |
| blaCTX-M | 2 (22,2%) | 5 (7,8%) | 0 (0,0%) | 4 (14,8%) |
| blaTEM | 0 (0,0%) | 7 (10,9%) | 0 (0,0%) | 4 (14,8%) |
| blaSHV | 0 (0,0%) | 6 (9,4%) | 0 (0,0%) | 2 (7,4%) |
| QnrА | 2 (22,2%) | 2 (3,1%) | 0 (0,0%) | 0 (0,0%) |
| QepA | 1 (11,1%) | 2 (3,1%) | 0 (0,0%) | 3 (11,1%) |
| AAC(6 ')-Ib-cr | 0 (0,0%) | 1 (1,6%) | 0 (0,0%) | 2 (7,4%) |

Отже, у пацієнтів, що страждають ХП і ЦД 2 типу, виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності вище серед жінок (56% vs 0%), проте у хворих без ЦД 2 типу, виявляємість генів вище серед чоловіків (56% vs 36%, р=0,04). За поширеністю, серед жінок домінують βЛРС, серед чоловіків – гени резистентності до фторхінолонів.

**3.2.7.2 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності в залежності від віку.**

При розподілі хворих на дві вікові групи (до 55 років, старше 55 років), встановлено, що у віковому діапазоні старше 55 років, частота колонізації сечового тракту бактеріями з плазмідними генами достовірно вища (53% vs 23,1%, р<0,05). Плазмід-індуковані βЛРС визначені як найбільш поширені механізми резистентності серед обох вікових когорт хворих (малюнок 3.20).

Мал. 3.20 Виявлення плазмідних генів резистентності в залежності від віку.

У хворих на ХП з і без ЦД 2 типу, у віковому діапазоні до 55 років, виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності складає: для І групи – 27%, для ІІ групи – 0%. Проте, у віці старше 55 років, колонізація сечового тракту бактеріями з плазмідними генами стійкості достовірно зростає в обох групах (малюнок 3.21).

Мал. 3.21 Виявлення плазмідних генів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу в залежності від віку.

Отже, у віковому діапазоні старше 55 років, виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності достовірно вище (53% vs 23,1%, р<0,05), і спостерігається у всіх групах обстежених хворих. β-лактамази розширеного спектру дії були домінуючими механізмами в обох вікових когортах хворих.

**3.2.7.3 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності в залежності від тривалості ХП.**

При аналізі виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності в залежності від тривалості ХП встановлено, що у хворих з виявленими генами резистентності середня тривалість ХП склала 12,3±2,4 років, тоді як у пацієнтів без генів стійкості, середня тривалість ХП була достовірно нижче – 8,3±1,05 років (р=0,07). Для подальшого аналізу виявляємості різних типів плазмід-індукованих механізмів резистентності в залежності від тривалості ХП, хворі були поділені на 3 групи: група А – до 5 років (n=54), група В – 6-10 років (n=21) та група С – більше 10 років (n=30). У хворих тривалістю ХП більше 10 років відмічено більшу частоту колонізації сечового тракту бактеріями с плазмідними генами стійкості (50%), проте достовірних відмінностей між групами виявлено не було. У пацієнтів з тривалістю ХП до 5 років виявлено більшу частоту колонізації бактеріями з плазмідними генами резистентності до фторхінолонів, а βЛРС-продукуючі мікроорганізми частіше зустрічаються у пацієнтів з тривалістю захворювання більше 10 років (малюнок 3.22).

Мал. 3.22 Виявлення плазмідних генів резистентності в залежності від тривалості ХП.

У хворих на ХП і супутнім ЦД 2 типу, виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності було достовірно вище при тривалості ХП до 10 років (65% vs. 32% у хворих групи А, та 44% vs. 17% - у хворих групи В), тоді як у пацієнтів на ХП без ЦД 2 типу, питома вага плазмідних генів стійкості була вище при тривалості ХП більше 10 років (58,3% vs. 17%), малюнок 3.23.

Мал. 3.23 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу в залежності від тривалості ХП.

**3.2.7.4 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності в залежності від факту стаціонарного лікування упродовж останнього року.**

Згідно анамнестичних даних, стаціонарне лікування у поточному році проводили 24 обстежених пацієнтів. При подальшому аналізі встановлено, що питома вага генів резистентності у цієї когорти хворих достовірно вища, ніж у пацієнтів, що не перебували у стаціонарі протягом року (79,2% проти 30,9%, р<0,05). Слід зазначити, що частота колонізації сечової системи βЛРС-продукуючими мікроорганізмами була достовірно вище у пацієнтів котрі проводили стаціонарне лікування протягом року (70,8% проти 16%, р<0,05), проте у хворих, що не перебували у стаціонарі – частіше виявлялися гени резистентності до фторхінолонів (14,8% проти 8,3%, р=0,09), малюнок 3.24.

Мал. 3.24 Виявлення плазмідних генів резистентності в залежності від наявності випадку госпіталізації.

У хворих ХП з і без ЦД 2 типу, лікування у стаціонарі проводили 13 та 11 пацієнтів відповідно. При аналізі розповсюдженості плазмід-індукованих механізмів резистентності в залежності від випадку госпіталізації, встановлено, що у пацієнтів І групи, виявляємість склала 72,7%, в ІІ групі – 84,6% (малюнок 3.25).

Мал. 3.25 Виявлення плазмідних генів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу в залежності від наявності випадку госпіталізації.

Примітка: **\* -** р≤0,05 при порівнянні наявності/відсутності випадку госпіталізації в групах.

**3.2.7.5 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності в залежності від факту прийому антибактеріальних препаратів у поточному році.**

Згідно анамнестичних даних, факт прийому антибіотиків з різних причин упродовж останнього року мав місце у 38 (36,2%) хворих: 6 (15,8%) з них приймали β-лактами, 2 (5,3%) – фторхінолони і 30 (78,9%) приймали обидва класу АБП. При наступному аналізі, питома вага генів резистентності до β-лактамів серед пацієнтів, що приймали антибіотики, була достовірна вища (44,7% проти 19,4%, р<0,05). Щодо генів стійкості до фторхінолонів, виявлення останніх було достовірно вище в групі хворих, що не приймали АБП (19,4% проти 2,6%, р≤0,05), малюнок 3.26.

Мал. 3.26 Виявлення плазмідних генів резистентності в залежності від факту прийому АБП.

У хворих ХП з і без супутнього ЦД 2 типу, факт прийому антибіотиків мав місце у 30 та 8 осіб відповідно. Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у пацієнтів І групи склало 63%, ІІ групи – 40%, малюнок 3.27.

Мал. 3.27 Виявлення плазмідних генів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу в залежності від факту прийому АБП.

Був проведений факторний аналіз з метою встановлення взаємопов'язаних факторів у хворих на ХП з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності. Було виявлено 3 фактори з власними значеннями більше 0,7. Ці фактори піддалися обертанню за методом варімакс. Перший фактор, що містив тривалість ХП, систолічний та діастолічний тиск, протеїнурію, можна інтерпретувати як загально-клінічний, у зв’язку з найвищим навантаженням по цим показникам. Другий фактор можна інтерпретувати як імунологічний, так як змінні, пов'язані з цим явищем (СРБ, IgA, IgM, IgG) мають по ньому найвищі навантаження. Третій фактор можна інтерпретувати як функціональний, тому що включає рівень креатиніну, сечовини, ШКФ, та має власні значення більше 0,7 (таблиця 3.10).

Таблиця 3.10

**Кореляційна матриця змінних у хворих на ХП з виявленими генами резистентності**



Таким чином, в результаті обертання за методом варімакс, було визначено три взаємопов'язаних фактора (загально-клінічний, імунологічний та функціональний), у хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності, що демонструють наявність взаємозв’язків та узагальнюючої складової між цими показниками у даної категорії хворих. Перший фактор (загально-клінічний), що включає тривалість захворювання, САТ і ДАД, протеїнурію підтверджує значимість отриманих результатів і демонструє необхідність дослідження плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих, що страждають ХП більше 10 років, мають АГ і протеїнурію більше 0,15 г/л за добу. Другий фактор (імунологічний) свідчить о наявності взаємозв’язків між показниками системного запалення та їх значенням у хворих на ХП з виявленими генами резистентності, та підтверджує необхідність визначення експресії плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих з порушеннями імунного статусу. Третій фактор, функціональний, з одного боку демонструє вплив порушення функції нирок на колонізацію сечової системи бактеріями з плазмідними генами резистентності, а з іншого – вказує на необхідність дослідження індукованих плазмідами механізмів резистентності у хворих з начальною та вираженою нирковою недостатністю (ХХН ІІІ та ІV стадій).

Отже, у жінок питома вага генів резистентності вища ніж у чоловіків (42,9% проти 35,7%), і достовірно зростає з віком.

У пацієнтів з тривалістю ХП до 5 років виявлено більшу частоту колонізації бактеріями з плазмідними генами резистентності до фторхінолонів, а βЛРС-продукуючі мікроорганізми частіше зустрічаються у пацієнтів з тривалістю захворювання більше 10 років.

При прогресування ХХН, частота колонізації сечового тракту бактеріями с плазмідними генами стійкості достовірно зростає у всіх хворих.

До факторів, що достовірно пов’язані з виявленням плазмід-індукованих генів резистентності можна віднести: вік 55 років і вище, факт стаціонарного лікування упродовж останнього року, прийом β-лактамів та фторхінолонів з різних причин у поточному році.

За результатами факторного аналізу було встановлено три взаємопов’язаних фактора у хворих на ХП і ЦД 2 типу з виявленими генами стійкості: загально-клінічний, що включає тривалість ХП, систолічний та діастолічний тиск, протеїнурію; імунологічний, до якого відносяться СРБ, IgA, IgM, IgG; та функціональний – містить креатинін, сечовину, ШКФ, IL-6.

Таким чином, пацієнтам у віці старше 55 років, що страждають ХП більше 10 років, мають АГ, ХХН ІІІ і ІV стадій, виявлені зміни в імунологічному статусі, доцільно в план обстеження включати дослідження експресії плазмід-індукованих механізмів резистентності з метою раціонального підбору АБТ.

Визначення факторів, що пов’язані з виявленням плазмідних генів резистентності у хворих на ХП, дозволяє відокремити основні категорії хворих, яким доцільно в план обстеження включати дослідження експресії плазмід-індукованих механізмів резистентності. В нашому дослідженні було визначено, що у пацієнтів, які страждають ХП на тлі ХХН ІІІ та ІV стадій; або із супутніми: обструкцією сечовивідних шляхів; артеріальною гіпертензією; наявністю епізодів перенесеного простатиту або циститу, можливість колонізації сечової системи бактеріями з плазмідними генами резистентності достовірно вище. Отримані нами результати узгоджуються з даними Freeman JT та співавт., що продемонстрували високу питому вагу плазмідних генів резистентності серед хворих із ЦД (23,9%), хронічним захворюванням легень (15,2%), у хворих лейкозом (13%) і у пацієнтів, що мають солідні новоутворення (18,5%), та рецидивуючим перебігом ІСС (43%) [45]. В іншому дослідженні, проведеному в Кореї, висока частота колонізації сечової системи бактеріями з плазмідними генами резистентності була виявлена у хворих із термінальною нирковою недостатністю (13%), цукровим діабетом (25,9%), захворюванням простати (54%), та солідними новоутвореннями (22,2%) [65].

Крім того, було визначено фактори ризику, достовірно пов’язані з виявленням плазмід-індукованих βЛРС: вік 55 років і вище (53%, р≤0,05), факт стаціонарного лікування упродовж останнього року (70,8%, р≤0,05), прийом β-лактамів та фторхінолонів з різних причин у поточному році (44,7%, р≤0,05). Отримані нами результати підтверджуються даними ряду досліджень, згідно яких до факторів ризику колонізації або інфекції, спричинених βЛРС-продукуючими організмами, відносять: чоловічу стать (65,2%, р≤0,05); вік 65 років і вище (51,9%, р≤0,05); випадок не давньої госпіталізації (95%, р≤0,001); лікування в попередні 3 місяці цефалоспоринами, пеніцилінами та фторхінолонами (95%, р≤0,001); захворювання простати (95%, р≤0,05) [18, 65, 55, 122].

До факторів ризику, що були пов’язані з виявленням плазмід-індукованих механізмів резистентності до фторхінолонів, можна віднести: чоловічу стать, вік старше 55 років, та тривалість ХП до 5 років. Проте, згідно з даними Verónica Seija і співавт. та Smithson A і співавт., факторами ризику колонізації сечової системи уропатогенами з плазмідними механізмами резистентності до фторхінолонів, були визначені: вік старше 60 років (OR 2,52), наявність обструкції сечових шляхів (OR 2,09), епізод рецидиву ІСС у минулому (OR 2,98), та прийом фторхінолонів у попередні 3 місяця (OR 4,27) [126, 112].

Висновки.

1. Достовірними факторами, що сприяли колонізації сечового тракту бактеріями с плазмідними генами стійкості виявлені: чоловіча стать, вік старше 55 років, тривалість ХП більше 10 років, факт стаціонарного лікування упродовж останнього року, прийом β-лактамів та фторхінолонів з різних причин у поточному році.
2. Хворим із ХП і ЦД 2 типу на тлі ХХН ІІІ та ІV стадій; або із супутніми: обструкцією сечовивідних шляхів; артеріальною гіпертензією; наявністю епізодів перенесеного простатиту або циститу, а також наявністю факторів ризику доцільно в план обстеження включати дослідження експресії плазмід-індукованих механізмів резистентності.

**3.3 ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК РЕЗИСТЕНТНОСТІ IN VITRO ДО β-ЛАКТАМІВ ТА ФТОРХІНОЛОНІВ З НАЯВНІСТЮ ПЛАЗМІД-ІНДУКОВАНИХ МЕХАНІЗМІВ РЕЗИСТЕНТНОСТІ**

Дані щодо взаємозв’язків між резистентністю in vitro до β-лактамів та фторхінолонів з наявністю плазмідних генів стійкості, дуже відрізняються між країнами. Так, згідно опублікованого річного звіту європейської громади з епіднагляду за антимікробною резистентністю (EARS-Net) за 2013 рік, поширеність плазмід-індукованих βЛРС серед клінічних штамів E.coli та K.pneumoniae, резистентних до 3-ї генерації цефалоспоринів, варіює від 85-100% [38]. Проте, дослідження SENTRY Surveillance program, що включало 26 лікарень із 20 штатів США, демонструє рівень плазмід-індукованої резистентності до цефалоспоринів серед штамів сімейства Enterobacteriaceae, що складає 6,4% [29]. Збільшення рівнів резистентності до фторхінолонів серед бактеріальних штамів внаслідок трансфера плазмідних генів резистентності було продемонстровано в дослідженні ECO·SENS ІІ: для налідиксової кислоти рівень стійкості збільшився з 4.3% до 10.2%; для ципрофлоксацину – з 1.1% до 3.9%, для триметоприм-сульфаметоксазолу – з 13.3% до 16.7% [64]. В Україні, даних щодо плазмід-індукованої резистентності серед уропатогенних штамів, нема. Крім того, дуже мало відомостей о розповсюдженості плазмід-індукованих механізмів стійкості серед інших уропатогенів, зокрема штамів P.mirabilis, P.aeruginosa, сімейства Enterococcus spp. та Staphylococcus spp.

Тому, встановлення взаємозв’язків між чутливістю/резистентністю in vitro до АБП та наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності серед збудників ХП з одного боку дозволить визначити необхідність дослідження експресії плазмідних генів стійкості у бактерій з резистентністю до АБП in vitro, а з іншого – встановити найбільш ефективні препарати проти мікроорганізмів з плазмідними генами резистентності та підвищити ефективність емпіричної АБТ.

**3.3.1 Чутливість виділених збудників ХП до АБП in vitro.**

Була проаналізована чутливість виділених збудників до 15 антибактеріальних препаратів. Встановлено, що найбільшу інгібуючу активність проти уропатогенних штамів in vitro проявляють: меропенем (94,7%), нитроксолін (80,8%), фосфоміцин (72,2%), амікацин (64,3%), цефіпім (60%) та левофлоксацин (59,1%). Найвищі рівні резистентності були виявлені до ампіцилліну (72,2%), амоксициллін/клавуланату (57,4%), ципрофлоксацину (46,9%), гентаміцину (43,5%), цефотаксіму (41,7%), малюнок 3.28.

Мал. 3.28 Чутливість виділених збудників до АБП.

У хворих на ХП без супутнього ЦД 2 типу, чутливість виділених збудників була вище ніж у пацієнтів із ЦД 2 типу до: амінопеніциллінів (46% vs. 36%), цефалоспоринів (64% vs. 54%), аміноглікозидів (64% vs. 54%), нітрофурантоїну (76% vs. 62%), фурамагу (78% vs. 59%), нітроксоліну (83% vs. 77%). Чутливість до меропенему та фосфоміцину не відрізнялась поміж груп і складала 95% та 72% відповідно. Чутливість до ко-трімоксазолу була вище у пацієнтів із ХП і ЦД 2 типу (67% vs. 55%), малюнок 3.29.

Мал. 3.29 Чутливість виділених збудників у хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу.

Отже, спостерігається зниження чутливості виділених збудників ХП до найбільш рекомендованих АБП. Так, найвищі рівні резистентності були визначені до ампіцилліну (72,2%), амоксициллін/клавуланату (57,4%), ципрофлоксацину (46,9%), гентаміцину (43,5%), цефотаксіму (41,7%). У хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу, чутливість виділених збудників до АБП була нижче ніж у пацієнтів без ЦД 2 типу. Встановлено, що у пацієнтів І групи найбільшу інгібуючу активність проявили: меропенем (95%), нітроксолін (83%), фурамаг (78%), нітрофурантоїн (76%), фосфоміцин (72%), цефтріаксон (67%) та левофлоксацин (61%); в ІІ групі – найвищі рівні чутливості були визначені до меропенему (95%), нітроксоліну (77%), фосфоміцину (72%), ко-трімоксазолу (67%), цефтріаксону (56%) та левофлоксацину (56%).

**3.3.2 Чутливість виділених збудників ХП до АБП in vitro залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності.**

При аналізі чутливості виділених бактерій з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності встановлено, що найбільшу інгібуючу активність проявляють: меропенем (97%), нітроксолін (77%), фосфоміцин (75%), ко-трімоксазол (64%), амікацин (67%) та цефіпім (61%). Рівні резистентності були наступними: ампіциллін (90%), амоксіциллін/клавуланат – 58%, ципрофлоксацин (53%), левофлоксацин (50%), гентаміцин (42%). 26,9% штамів з плазмідними генами були резистентні до 3-ї генерації цефалоспоринів (малюнок 3.30).

Мал. 3.30 Чутливість збудників з плазмідними генами резистентності

При аналізі взаємозв’язків між резистентністю in vitro та наявністю/відсутністю плазмідних генів стійкості встановлено достовірно вищі рівні резистентності до ампіцилліну (р=0,07), фурамагу (р=0,03), левофлоксацину (р=0,3), 3-ї генерації цефалоспоринів (р≤0,05) серед бактерій з виділеними плазмідними генами стійкості. Рівні резистентності уропатогенів без виявлених плазмідних генів стійкості були дещо вищі до аміноглікозидів (41% vs. 37,5%), ко-трімоксазолу (44% vs. 36%), фосфоміцину (29% vs. 25%), цефіпіму (44% vs. 39%) та амоксициллін/клавуланату (60% vs. 58%), однак достовірно не відрізнялись поміж груп (малюнок 3.40).

Мал. 3.40 Резистентність in vitro виділених збудників в залежності від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності.

При аналізі чутливості/резистентності in vitro до АБП штамів з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності залежно від типів виявлених генів встановлено, що найбільшу інгібуючу активність проти штамів з виявленими βЛРС проявляють меропенем (95%), нітроксолін (80%), фосфоміцин (75%), нітрофурантоїн (70%), амікацин (70%). Тоді як, рівні чутливості до АБП серед штамів з плазмідними генами резистентності до фторхінолонів були наступними: меропенем (99%), нітроксолін (74%), цефотаксім (71%), фосфоміцин (75%), цефіпім (66%). Найбільші рівні резистентності серед βЛРС-продукуючих організмів були винайдені до ампіцилліну (96%), амоксіциллін/клавуланату (77%), 3-ї генерації цефалоспоринів (74%). Щодо штамів з виявленими плазмідними генами стійкості до фторхінолонів, рівні резистентності були наступними: ампіциллін (86%), ципрофлоксацин (75%), левофлоксацин (60%), аміноглікозиди (41%), малюнок 3.41

Мал. 3.41 Чутливість уропатогенів з плазмід-індукованими механізмами резистентності залежно від типів виявлених генів.

Була проаналізована чутливість виділених збудників ХП до АБП в залежності від типів виявлених βЛРС: blaCTX-M, blaTEM, blaSHV. Встановлено, що найбільшу інгібуючу активність проти бактерій з геном blaCTX-M проявляють меропенем (100%), фосфоміцин (100%), нітроксолін (70%) та ко-трімоксазол (60%). Найвищі рівні резистентності були отримано до ампіцилліну (80%), амоксициллін/клавуланату (80%), фторхінолонам (70%), цефалоспоринам (60%) та аміноглікозидам (60%). Щодо рівнів резистентності бактерій з геном blaTEM встановлено найвищі рівні до ампіцилліну (100%), амоксициллін/клавуланату (50%) та цефотаксіму (50%). Найбільшу інгібуючу активність проявили: амікацин (100%), фосфоміцин (100%), нітроксолін (100%), меропенем (100%), цефіпім (83%) та гентаміцин (83%). Бактерії з виділеним геном blaSHV мали наступні рівні резистентності: ампіциллін (100%), амоксициллін/клавуланат (86%), фурамаг (71%), цефотаксім (57%), фторхінолони (57%). Рівні чутливості становили: меропенем (86%), амікацин (86%), нітроксолін (71%), цефтріаксон (71%), фосфоміцин (57%), малюнок 3.42.

Мал. 3.42 Чутливість виділених збудників ХП залежно від типу виявлених плазмідних βЛРС.

Була проаналізована чутливість виділених збудників ХП до АБП в залежності від типів виділених генів резистентності до фторхінолонів: QnrА, QepA та AAC(6 ')-Ib-cr. Найвищі рівні резистентності серед бактерій з геном QnrА були виявлені до ампіцилліну (100%), амоксициллін/клавуланату (100%), фосфоміцину (100%), нітрофурантоїну (100%), нітроксоліну (100%), цефалоспоринам (80%), фторхінолонам (80%), аміноглікозидам (80%). Тільки меропенем проявив 100% інгібуючу активність проти бактерій з геном QnrА. Щодо рівнів резистентності серед бактерій з геном QepA, встановлено найвищі рівні до ампіцилліну (100%), амоксициллін/клавуланату (60%) та амікацину (60%). Найбільшу інгібуючу активність проявили меропенем (100%), нітроксолін (100%), фуромаг (100%), нітрофурантоїн (100%), ко-трімоксазол (100%) та фосфоміцин (80%). Рівні резистентності серед бактерії з геном AAC(6 ')-Ib-cr були наступними: ампіциллін (100%), ципрофлоксацин (100%), фуромаг (100%), цефтріаксон (67%), левофлоксацин (67%). Рівні чутливості становили: меропенем (100%), фосфоміцин (67%), ко-трімоксазол (67%), аміноглікозиди (67%), малюнок 3.42.

Мал. 3.42 Чутливість виділених збудників ХП залежно від типу виявлених плазмідних генів резистентності до фторхінолонів.

При аналізі чутливості виділених збудників ХП, що мають комбінації плазмідних генів стійкості встановлено найвищі рівні резистентності серед бактерій з комбінацією генів blaCTX-M і blaTEM до ампіцилліну (67%), амоксициллін/клавуланату (67%) та фурамагу (70%). Найбільшу інгібуючу активність проявили меропенем (100%), нітроксолін (100%), фторхінолони (70%), цефалоспорини (67%). Рівні резистентності бактерій з комбінацією βЛРС і генів резистентності до фторхінолонів були наступними: ампіциллін (100%), цефалоспорини (50%), фторхфнолони (49%), аміноглікозиди (50%). Рівні чутливості становили: меропенем (100%), нітроксолін (100%), фуромаг (100%), нітрофурантоїн (100%), фосфоміцин (100%), малюнок 3.43.

Мал. 3.43 Чутливість виділених збудників ХП залежно від типів виявлених комбінацій плазмідних генів резистентності.

При аналізі взаємозв’язків між чутливістю/резистентністю in vitro та наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу, встановлено достовірно вищі рівні чутливості до цефтріаксону (65% vs. 40%, р=0,01), цефіпіму (69% vs. 40%, р=0,005), ципрофлоксацину (58% vs. 20%, р≤0,05), левофлоксацину (58% vs. 30%, р=0,002), та нітрофурантоїну (73% vs. 40%, р=0,001) у хворих, що страждають ХП без ЦД 2 типу. Рівні чутливості до інших АБП достовірно не відрізнялись поміж груп (малюнок 3.44).

Мал. 3.44 Чутливість збудників з плазмідними генами резистентності у хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу.

Отже, бактерії з плазмід-індукованими механізмами резистентності мають достовірно нижчі рівні чутливості до β-лактамів, 3-ї генерації цефалоспоринів та фторхінолонів, ніж мікроорганізми, що не мають генів стійкості. Найбільшу інгібуючу активність проти уропатогенів з виявленими плазмідними механізмами резистентності проявляють: меропенем (97%), нітроксолін (77%), фосфоміцин (75%), ко-трімоксазол (64%), амікацин (67%) та цефіпім (61%).

Проти бактерій з βЛРС типу blaCTX-M найбільшу інгібуючу активність проявляють меропенем (100%), фосфоміцин (100%), нітроксолін (70%) та ко-трімоксазол (60%). Проти бактерій з βЛРС типу blaТЕМ найбільшу інгібуючу активність проявили: амікацин (100%), фосфоміцин (100%), нітроксолін (100%), меропенем (100%), цефіпім (83%) та гентаміцин (83%). Проти бактерій з βЛРС типу blaSHV найбільшу інгібуючу активність проявили меропенем (86%), амікацин (86%), нітроксолін (71%), цефтріаксон (71%), фосфоміцин (57%).

Проти бактерій з геном QnrА тільки меропенем проявив 100% інгібуючу активність. Проти бактерій з геном QepA, найбільшу інгібуючу активність проявили меропенем (100%), нітроксолін (100%), фуромаг (100%), нітрофурантоїн (100%), ко-трімоксазол (100%) та фосфоміцин (80%). Проти бактерій з геном AAC(6 ')-Ib-cr найбільшу інгібуючу активність проявили меропенем (100%), фосфоміцин (67%), ко-трімоксазол (67%), аміноглікозиди (67%).

У хворих, що страждають ХП і ЦД 2 типу, виявлено достовірно вищі рівні резистентності до амінопеніциллінів, 3-ї генерації цефалоспоринів, та фторхінолонів, особливо у пацієнтів з виявленими механізмами стійкості, що робить неможливим застосування цих препаратів у якості емпіричної терапії подолання цієї категорії хворих.

Встановлення взаємозв’язків між резистентністю in vitro та наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності дозволить визначити найбільш ефективні АБП у хворих на ХП з виявленими плазмідними генами стійкості. В нашому дослідженні, рівні резистентності штамів з плазмідними генами стійкості складали: ампіциллін (90%), амоксіциллін/клавуланат – 58%, ципрофлоксацин (53%), левофлоксацин (50%), гентаміцин (42%), амікацин (33%), 26,9% штамів були резистентні до 3-ї генерації цефалоспоринів. Найбільшу інгібуючу активність проти бактерій з плазмідними механізмами резистентності проявили: меропенем (97%), нітроксолін (77%), фосфоміцин (75%), ко-трімоксазол (64%), амікацин (67%) та цефіпім (61%). Отримані нами результати узгоджуються з даними ретроспективного аналізу, проведеного Miranda E. та соавт., де рівні резистентності бактерій з плазмідними механізмами резистентності були наступними: цефотаксім (100%), цефтазідім (100%), ампіциллін (69,5%), ципрофлоксацин (55,5%), цефіпім (32%), ко-трімоксазол (25%), налідиксовая кислота (23,4%), нітрофурантоїн (16,4%), амікацин (12,5%). Всі штами (100%) були чутливі до карбапенемів [80].

Бактерії з виділеними βЛРС типу blaCTX-M мали найвищі рівні резистентності до ампіцилліну (80%), амоксициллін/клавуланату (80%), фторхінолонам (70%), цефалоспоринам (60%) та аміноглікозидам (60%), тоді як найбільшу інгібуючу активність проявили меропенем (100%), фосфоміцин (100%), нітроксолін (70%) та ко-трімоксазол (60%). Отримані нами результати узгоджуються з даними Kresken M та співавт. о високих рівнях резистентності штамів з плазмідними генами blaCTX-M до ампіцилліну (42,9%), амоксициллін/клавуланату (32,7%), тріметопрім/сульфометоксазолу (30,9%), ципрофлоксацину (19,8%). Фосфоміцин і карбапенеми мали 100% активність проти бактерій з плазмідними генами blaCTX-M, що також було продемонстровано в нашому дослідженні [68].

Бактерії з виділеними βЛРС типу blaTEM встановлено найвищі рівні резистентності до ампіцилліну (100%), амоксициллін/клавуланату (50%) та цефотаксіму (50%). Найбільшу інгібуючу активність проявили: амікацин (100%), фосфоміцин (100%), нітроксолін (100%), меропенем (100%), цефіпім (83%) та гентаміцин (83%). Отримані нами результати узгоджуються з даними Eftekhar F та співавт., що продемонстрували високі рівні резистентності штамів з плазмідними генами blaTEM до амоксицилліну (96%), нітрофурантоїну (78%), амікацину (49%), цефтріаксону (41%). Меропенем та фосфоміцин проявили 100% інгібуючу активність in vitro. [35].

Бактерії з виділеними βЛРС типу blaSHV мали найвищі рівні резистентності до ампіцилліну (100%), амоксициллін/клавуланату (86%), фурамагу (71%), цефотаксіму (57%), фторхінолонам (57%). Рівні чутливості становили: меропенем (86%), амікацин (86%), нітроксолін (71%), цефтріаксон (71%), фосфоміцин (57%). Отримані нами результати узгоджуються з даними Hammami S та співавт., що демонструють високі рівні резистентності штамів з плазмідними генами blaSHV до амоксицилліну, 2-ї генерації цефалоспоринів та ципрофлоксацину. Найбільш ефективними виявлені карбапенеми, амікацин та фосфоміцин [51].

Бактерії з виділеними плазмідними генами резистентності до фторхінолонів (QnrА, AAC(6 ')-Ib-cr, QepA) встановлено найвищі рівні резистентності до ампіцилліну (86%), ципрофлоксацину (75%), левофлоксацину (60%), аміноглікозидам (41%). Однак, рівні чутливості/резистентності до препаратів відрізнялись в залежності від типів виділених генів. Так, бактерії з геном QnrА мали найвищі рівні резистентності до ампіцилліну (100%), амоксициллін/клавуланату (100%), фосфоміцину (100%), нітрофурантоїну (100%), нітроксоліну (100%), цефалоспоринам (80%), фторхінолонам (80%), аміноглікозидам (80%). Тільки меропенем проявив 100% інгібуючу активність проти бактерій з геном QnrА. Бактерії з геном QepA мали найвищі рівні резистентності до ампіцилліну (100%), амоксициллін/клавуланату (60%) та амікацину (60%). Найбільшу інгібуючу активність проявили меропенем (100%), нітроксолін (100%), фуромаг (100%), нітрофурантоїн (100%), ко-трімоксазол (100%) та фосфоміцин (80%). Бактерії з геном AAC(6 ')-Ib-cr мали найвищі рівні резистентності до ампіцилліну (100%), ципрофлоксацину (100%), фуромагу (100%), цефтріаксону (67%), левофлоксацину (67%). Рівні чутливості становили: меропенем (100%), фосфоміцин (67%), ко-трімоксазол (67%), аміноглікозиди (67%). Отримані нами результати узгоджуються з даними Jlili Nel-H та співавт., Pasom W та співавт., Longhi C та співавт., о високих рівнях резистентності не тільки до фторхінолонів, а і до β-лактамів та аміноглікозидів [61, 88, 74].

У хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу, рівні резистентності штамів з виявленими плазмідними генами резистентності були достовірно вище ніж у пацієнтів без діабету. Так, встановлено достовірно вищі рівні чутливості до цефтріаксону (65% vs. 40%, р=0,01), цефіпіму (69% vs. 40%, р=0,005), ципрофлоксацину (58% vs. 20%, р≤0,05), левофлоксацину (58% vs. 30%, р=0,002), та нітрофурантоїну (73% vs. 40%, р=0,001) у хворих, що страждають ХП без ЦД 2 типу. Рівні чутливості до інших АБП достовірно не відрізнялись поміж груп. Aswani SM і співавт. також демонструють високі рівні резистентності у хворих на ХП і ЦД 2 типу з виявленими плазмідними механізмами резистентності до: ампіцилліну (84%), фторхінолонів (75%), ко-трімоксазолу (61%), 3-ї генерації цефалоспоринів (50%). Найбільшу інгібуючу активність проявили: меропенем (93%), цефоперазон/сульбактам (85%), амікацин (80,7%) [16]. В нашому дослідженні, найвищі рівні чутливості серед бактерій з плазмідними механізмами резистентності, у хворих на ХП і ЦД 2 типу, визначені до меропенему (100%), фосфоміцину (90%), нітроксоліну (80%), ко-трімоксазолу (60%), тому ці препарати можна рекомендувати у якості емпіричної терапії ХП у цієї категорії хворих.

Висновки.

1. Резистентність in vitro до амінопеніциллінів, цефалоспоринів та фторхінолонів достовірно пов’язана з наявністю в уропатогенних штамах плазмідних βЛРС типу blaCTX-M, blaTEM, blaSHV. Резистентність до аміноглікозидів була достовірно пов’язана з виявленням blaCTX-M. Найбільшу інгібуючу активність проти βЛРС-продукуючих мікроорганізмів проявили меропенем, фосфоміцин, нітроксолін. Також високу чутливість проти штамів з геном blaCTX-M проявили ко-трімоксазол; проти штамів з геном blaTEM – амікацин, цефіпім та гентаміцин; проти штамів з геном blaSHV – амікацин та цефтріаксон.
2. Резистентність in vitro до амінопеніциллінів, фторхінолонів та аміноглікозидів достовірно взаємопов’язана з наявністю в штамах плазмід-індукованих механізмів резистентності до фторхінолонів. Резистентність до цефалоспоринів була достовірно пов’язана з геном QnrА, а резистентність до цефтріаксону – з геном AAC(6 ')-Ib-cr. Найбільшу інгібуючу активність проти штамів з генами стійкості до фторхінолонів проявили меропенем, фосфоміцин, ко-трімоксазол. Також високу чутливість проти штамів з геном QepA проявили нітроксолін, фуромаг, нітрофурантоїн; проти штамів з геном AAC(6 ')-Ib-cr – аміноглікозиди.
3. У хворих, що страждають ХП і ЦД 2 типу, виявлено достовірно вищі рівні резистентності до амінопеніциллінів, 3-ї генерації цефалоспоринів, та фторхінолонів, особливо у пацієнтів з виявленими механізмами стійкості, що робить неможливим застосування цих препаратів у якості емпіричної терапії подолання.

**3.4 ВПЛИВ ПЛАЗМІД-ІНДУКОВАНИХ МЕХАНІЗМІВ РЕЗИСТЕНТНОСТІ НА КЛІНІЧНУ І БАКТЕРІОЛОГІЧНУ ЕФЕКТИВНІСТЬ АНТИБІОТИКО-ТЕРАПІЇ ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПІЄЛОНЕФРИТ І СУПУТНІЙ ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ**

Вплив плазмід-індукованих механізмів резистентності на клінічну і бактеріологічну ефективність АБТ вивчено недостатньо. Так, дослідження Beyond Susceptible and Resistant, Part II демонструє зниження клінічної та бактеріологічної ефективності АБТ у разі лікування ІСС, спричиненої бактеріями з плазмідними механізмами резистентності, цефалоспоринами та піпераціллин/тазобактамом, проте ефективність карбапенемів була високою [30]. Проте, Jansaker F та співавт. демонструють сприятливий клінічний та бактеріологічний ефекти при лікуванні ІСС, викликаної бактеріями з плазмідними механізмами резистентності, β-лактамним АБП з розширеним спектром активності – півмеціллінамом, однак ефективність фторхінолонів та аміноглікозидів досліджено не було [60].

Отже, завданням нашого дослідження було вивчити клінічну і бактеріологічну ефективність АБТ у хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності.

**3.4.1 Оцінка клінічної ефективності АБТ у хворих на ХП і ЦД 2 типу.**

Для оцінки клінічної ефективності АБТ в залежності від виду емпіричного АБП пацієнти були розподілені на 4 групи: група А – хворі, що отримували фторхінолони, група В – цефалоспорини, група С – комбінацію фторхінолонів і цефалоспоринів. Клінічна ефективність АБТ оцінювалась на 3-тю, 5-ту, 7-му добу лікування та при виписці. На 3-тю добу лікування було виявлено достовірне зниження температури тіла у всіх групах обстежених хворих. Больовий синдром зберігався до 5-ї доби у більшої половини хворих груп В, С, синдром інтоксикації – до 7-го дня. Дизурію найкраще купіровали в групі А та С (малюнок 3.45). Отже, найкращий клінічний ефект проявили фторхінолони та комбінація фторхінолонів з цефалоспоринами.

Мал. 3.45 Регрес клінічних симптомів у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від виду емпіричного АБП.

При вивченні динаміки лабораторних показників крові відмічено найбільше зниження показників лейкоцитозу та ШОЕ (25% та 18% відповідно) після лікування в групі С. В групі А встановлено деяке підвищення лейкоцитозу та ШОЕ (18% відповідно) після лікування, що було передумовою для подовження АБТ (малюнок 3.46). Тобто, найкращий клінічний ефект був виявлений в групі С.

Мал. 3.46 Динаміка лабораторних показників крові до та після лікування.

При вивчені динаміки лабораторних показників сечі встановлено кращий регрес гематурії в групах А, В, та лейцоцитурії – в групах А і С. Показники альбумінурії знизились в групі А; протеїнурії – в групах А, В та С (малюнок 3.47).

Мал. 3.47 Регрес лабораторних показників сечі у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від виду емпіричного АБТ.

При аналізі впливу проведеної АБТ на функціональну здатність нирок, встановлено достовірне зниження креатиніну та сечовини крові та підвищення ШКФ в групах А, В, С, що може свідчити о відсутності впливу самих АБП на функціональну здатність нирок, а покращення показників пояснюється купіруванням загострення ХП і відповідно поліпшенням функціональної здатності нирок (малюнок 3.48).

Мал. 3.48 Вплив проведеної АБТ на функціональну здатність нирок.

При вивченні тривалості АБТ у хворих на ХП в залежності від виду емпіричного АБТ встановлено найбільшу тривалість лікування в групі D (10,5±3,6), найменшу (7,9±1,2) – в групі С (малюнок 3.49).

Мал. 3.49 Тривалість АБТ у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від виду емпіричного АБП.

При аналізі клінічної ефективності АБТ хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу, встановлено достовірне зниження температури тіла в обох групах обстежених хворих на 3-ю добу лікування. Проте, у хворих на ХП і ЦД 2 типу, регрес клінічних симптомів в динаміці АБТ проходив менш сприятливо ніж у пацієнтів без діабету (малюнок 3.50), що свідчить о необхідності раціонального призначення АБТ у цієї категорії хворих.

Мал. 3.50 Регрес клінічних симптомів в динаміці АБТ у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу.

При вивченні динаміки лабораторних показників встановлено, що у пацієнтів на ХП і супутній ЦД 2 типу після лікування, лейкоцитоз та підвищення ШОЕ спостерігалось у 15% та 80% хворих відповідно. Щодо динаміки лабораторних показників сечі, у пацієнтів із ХП без діабету спостерігається більш сприятливий регрес гематурії та протеїнурії ніж у хворих на ХП і ЦД 2 типу, що також підтверджує необхідність раціонального призначення АБТ у цієї категорії пацієнтів (малюнок 3.51).

Мал. 3.51 Регрес лабораторних показників в динаміці АБТ у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу.

Після лікування встановлено достовірне зниження показників креатиніну, сечовини та збільшення ШКФ в обох групах обстежених хворих, що свідчить о поліпшенні функції нирок після купірування загострення ХП як у пацієнтів із супутнім ЦД 2 типу, так і без останнього. Дані лабораторних обстежень до та після лікування представлено у таблиці 3.11.

Таблиця 3.11

**Дані лабораторних обстежень до та після лікування хворих на ХП з і без ЦД 2 типу**

|  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- |
|  | І група  (до лікування) | І група  (після лікування) | ІІ група  (до лікування) | ІІ група  (після лікування) |
| **ШКФ, мл/хв/1,73м2** | 69,4±4,4\* | 70,5±3,9\* | 42,3±4,8 | 44,4±4,2 |
| **Креатинін крові, мкмоль/л** | 131,4±13,9\*# | 121,5±11,3\* | 187,3±22,8# | 165,5±17,6# |
| **Сечовина крові, ммоль/л** | 7,8±0,54\* | 7,86±0,5\* | 12,6±1,2 | 11,6±1,1 |
| **Загальний білок крові (г/л)** | 73,1±1,1 | 73,9±0,8 | 72±2,2 | 74,3±1,5 |
| **Альбумінурія (г/л)** | 0,07±0,01 | 0,03±0,01 | 0,04±0,01 | 0,04±0,02 |
| **Протеїнурія**  **(г/л)** | 0,98±0,3 | 0,6±0,2# | 0,94±0,3 | 0,8±0,3 |

Примітка: \* р≤0,05 при порівнянні І та ІІ груп; # р≤0,05 при порівнянні до та після лікування.

Тривалість АБТ у хворих ХП і ЦД 2 типу була достовірно вище 10,6±3,2 (р≤0,05) ніж у пацієнтів без діабету (8,8±2,3), що свідчить про складність лікування ХП на тлі ЦД 2 типу та необхідність розробки диференційованого призначення АБТ у цієї категорії хворих (малюнок 3.52).

Мал. 3.52 Середня тривалість АБТ у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу.

Отже, спостерігається зниження клінічної ефективності АБТ у хворих на ХП як із супутнім ЦД 2 типу, так і без останнього, що проявляється повільним регресом клінічних симптомів і лабораторних показників в динаміці АБТ і подовженням строків госпіталізації. Найкращий клінічний результат було визначено в групі А, що отримували фторхінолони і в групі С – що лікувалися комбінацією фторхінолонів і цефалоспоринів. Призначення аміноглікозидів не рекомендується у зв’язку з підвищенням протеїнурії і негативним впливом на функціональну здатність нирок.

При аналізі впливу плазмід-індукованих механізмів резистентності на клінічну ефективність АБТ, встановлено достовірне зниження температури тіла на 3-тю добу лікування як у хворих з виявленими генами стійкості, так і без останніх. Проте, більш сприятливий регрес клінічних симптомів спостерігається в групі пацієнтів, що не мають плазмідних генів резистентності (малюнок 3.53).

Мал. 3.53 Регрес клінічних симптомів у хворих на ХП в залежності від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності.

При вивченні динаміки лабораторних показників в ході АБТ встановлено достовірне зниження лейкоцитозу на 17%, ШОЕ – на 9% у хворих без генів резистентності. Щодо пацієнтів з виявленими генами стійкості – спостерігається зниження лейкоцитозу на 28%, ШОЕ – на 7%. Регрес гематурії та лейкоцитурії у хворих з виявленими генами резистентності проходив повільніше ніж у пацієнтів без генів, проте навіть при виписці не досягав фізіологічних значень в жодній з груп (малюнок 3.54).

Мал. 3.54 Регрес лабораторних показників у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності.

Була проаналізована клінічна ефективність АБТ у хворих на ХП з виявленими плазмідними механізмами резистентності залежно від типів виявлених генів. Встановлено, що на 3-тю добу лікування температури тіла достовірно знизилась у всіх групах обстежених хворих. В динаміці АБТ інтоксикаційний синдром зберігався до 5 дня в обох групах, і навіть при виписці мав місце у 42% хворих з виявленими βЛРС і 46% - з генами резистентності до фторхінолонів. Регрес больового синдрому та дизурії в динаміці АБТ краще проходив в групі хворих з виявленими βЛРС. Так, на 5-ту добу, біль у косто-вертебральному куті спостерігалась у 82% хворих з генами резистентності до фторхінолонів і у 58% (р=0,07) пацієнтів з виявленими βЛРС. При виписці больовий синдром мав місце у 4% хворих з βЛРС і 9% - з генами стійкості до фторхінолонів. Дизурія, на 5-ту добу АБТ мала місце у 25% пацієнтів з виявленими βЛРС, на 7-му добу – у 4%, тоді як у пацієнтів з генами резистентності до фторхінолонів дизурічні явища на 5-ту та 7-му добу лікування мали місце у 36% та 18% хворих відповідно. При виписці скарг на дизурію не було виявлено в жодній з груп (малюнок 3.55).

Мал. 3.55 Регрес клінічних симптомів у хворих на ХП і ЦД 2 типу з виявленими плазмідними механізмами резистентності залежно від типу виявлених генів.

При аналізі регресу лабораторних показників у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від типів виявлених плазмідних генів резистентності встановлено кращу динаміку показників лейкоцитозу, лейкоцитурії та гематурії у пацієнтів з генами резистентності до фторхінолонів. Так, на 3-тю добу лікування, лейкоцитоз зберігався у 8% хворих з генами резистентності до фторхінолонів і 29% - з виявленими βЛРС. При виписці, показники лейкоцитозу були підвищені у 8% та 9% хворих з виявленими βЛРС та генами резистентності до фторхінолонів відповідно. При надходженні, підвищення ШОЕ спостерігалося у 79% хворих з виявленими βЛРС і 91% пацієнтів з генами резистентності до фторхінолонів. В динаміці АБТ, регрес цього лабораторного маркера проходив без достовірних відмінностей поміж груп і при виписці спостерігався у 71% та 100% хворих з виявленими βЛРС та генами резистентності до фторхінолонів відповідно. Показники лейкоцитурії при надходженні були підвищені у 71% хворих з виявленими βЛРС та 64% пацієнтів з генами резистентності до фторхінолонів. Достовірне зниження лейкоцитурії було виявлено на 7-му добу лікування в обох групах: до 58% - в групі з виявленими βЛРС та до 54% - у пацієнтів з генами резистентності до фторхінолонів. При виписці, показники лейкоцитурії були підвищені у 45,8% та 36,4% хворих з виявленими βЛРС та генами резистентності до фторхінолонів відповідно. Гематурія при надходженні була виявлена у 17% хворих з виявленими βЛРС та 45% пацієнтів з генами резистентності до фторхінолонів. На 3-тю добу лікування показники гематурії знизились у хворих з генами резистентності до фторхінолонів до 9%, тоді як у пацієнтів з виявленими βЛРС підвищилися до 29%. У подальшому, регрес гематурії проходив без достовірних відмінностей поміж груп та при виписці спостерігався у 12,5% та 18% хворих з виявленими βЛРС та генами резистентності до фторхінолонів відповідно (малюнок 3.56).

Мал. 3.56 Регрес лабораторних показників у хворих на ХП і ЦД 2 типу з виявленими плазмідними механізмами резистентності залежно від типу виявлених генів.

При аналізі клінічної ефективності АБТ у хворих з виявленими плазмідними генами резистентності залежно від виду АБП, у пацієнтів з виявленими β-лактамазами розширеного спектру дії, найкращий клінічний ефект на 3-тю добу лікування продемонстрували аміноглікозиди (регрес клінічних симптомів у 50% пацієнтів) та β-лактами (регрес клінічних симптомів у 25% пацієнтів). На 5-ту добу, клінічні прояви захворювання зберігалися в групі А у 59% пацієнтів, групі В – у 45%, групі С – у 55%. На 7-му добу АБТ, клінічні прояви захворювання зустрічалися в групі А у 38% пацієнтів, групі В – у 10%, групі С – у 35% хворих. При виписці, сприятливий клінічний результат у хворих з виявленими плазмідними βЛРС мав місце в групах А, В, С, у 87%, 95%, та 85% пацієнтів відповідно, що було передумовою для подовження лікування амбулаторно (малюнок 3.57).

У хворих на ХП і ЦД 2 типу з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності до фторхінолонів, найкращий клінічний ефект на 3-тю добу лікування продемонстрували фторхінолони (регрес клінічних симптомів у 17% пацієнтів) та комбінація фторхінолонів та β-лактамів (регрес клінічних симптомів у 8% пацієнтів). На 5-ту добу, клінічні прояви захворювання зберігалися в групі А у 50% пацієнтів, групі В – у 55%, групі С – у 44%. На 7-му добу АБТ, клінічні прояви захворювання зустрічалися в групі А у 50% пацієнтів, групі В – у 35%, групі С – у 28% хворих. При виписці, сприятливий клінічний результат у хворих з виявленими плазмідними генами резистентності до фторхінолонів мав місце в групах А, В, С у 83%, 85%, 86% пацієнтів відповідно (малюнок 3.58).

Мал. 3.58 Регрес клінічних симптомів у хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності в залежності від виду емпіричної АБТ.

При вивченні регресу лабораторних показників у хворих з виявленими генами стійкості залежно від виду емпіричного АБП продемонстровано на малюнку 6.13. У пацієнтів з виявленими βЛРС, в динаміці АБТ, регрес лабораторних маркерів мав місце в групі В у 20% хворих, в групі С – у 30% пацієнтів. Тоді як у хворих з виявленими плазмідними генами резистентності до фторхінолонів, найкращий клінічний результат в динаміці АБТ продемонструвала комбінація фторхінолонів та β-лактамів (регрес лабораторних маркерів був виявлен у 42% пацієнтів), малюнок 3.59.

Мал. 3.59 Регрес лабораторних показників у хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності в залежності від виду емпіричної АБТ.

У пацієнтів з виявленими плазмідними генами стійкості, тривалість АБТ була достовірно вище (р≤0,05) ніж у пацієнтів без генів резистентності, що демонструє необхідність раціонального підбору АБТ у хворих з наявністю факторів ризику та/або інфекцією, спричиненою бактеріями з плазмідними механізмами резистентності (малюнок 3.60).

Мал. 3.60 Тривалість АБТ у хворих на ХП і ЦД 2 типу залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності.

Отже, у хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності спостерігається зниження клінічної ефективності АБТ, що проявляється повільним регресом клінічних симптомів і лабораторних показників та подовженням строків госпіталізації. Найкращий клінічний ефект у хворих з виявленими плазмідними βЛРС продемонстрували аміноглікозиди, β-лактами та фторхінолони, тоді як у пацієнтів з виявленими генами стійкості до фторхінолонів – найефективнішою визнана комбінація цефалоспоринів/фторхінолонів. Таким чином, ці препарати можна рекомендувати в якості емпіричної АБТ у хворих з наявністю факторів ризику інфекції, спричиненої бактеріями з плазмідними механізмами резистентності.

**3.4.2 Оцінка бактеріологічної ефективності АБТ у хворих на ХП і ЦД 2 типу.**

Бактеріологічна ефективність АБТ оцінювалася в ідентифікації збудника до і після лікування. До лікування, за результатами бактеріологічного дослідження сечі, було виділено 92 патогенних збудників: 60 штамів (65,2%) Грам-негативної флори, 28 (30,4%) – Грам-позитивні бактерії та 4 (4,3%) бактерій грибкової флори. Після лікування, повна ерадикація збудника мала місце у 80 (76,2%) пацієнтів (малюнок 3.61), тоді як у 25 (23,8%) пацієнтів виявилося 21 штам Грам-негативної флори та 7 штамів – Грам-позитивної флори.

Мал. 3.61 Бактеріологічна ефективність АБТ у хворих (%) на ХП.

У хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу спостерігається зниження бактеріологічної ефективності АБТ і повна ерадикація збудника після лікування мала місце тільки у 21 (65,6%) хворого. Тоді як у пацієнтів без діабету – бактеріологічна ефективність АБТ була достовірно вище і повна ерадикація збудника була виявлена у 59 (80,8%) пацієнтів (малюнок 3.62).

Мал. 3.62 Бактеріологічна ефективність АБТ у хворих (%) на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу.

При аналізі бактеріологічної ефективності АБТ в залежності від виду отриманого емпіричного АБП, встановлено, що найкращу інгібуючу активність проти уропатогенів in vivo проявили фторхінолони та цефалоспорини. Повна ерадикація збудника після лікування в групі хворих, що получали аміноглікозиди, мала місце тільки у 20% осіб (малюнок 3.63).

Мал. 3.63 Бактеріологічна ефективність АБТ у хворих (%) на ХП і ЦД 2 типу в залежності від виду емпіричного АБТ.

Отже, спостерігається зниження бактеріологічної ефективності емпіричної АБТ у хворих на ХП, особливо на тлі ЦД 2 типу, що проявляється відсутністю ерадикації збудника ХП в динаміці АБТ. Зниження ефективності лікування призводить до необхідності подовження строків АБТ і, в деяких випадках, заміни АБП. Найкращий бактеріологічний ефекти in vivo проявили фторхінолони та цефалоспорини, тому ці препарати можна рекомендувати у якості емпіричної АБТ хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу.

При аналізі впливу плазмід-індукованих механізмів резистентності на бактеріологічну ефективність АБТ хворих на ХП встановлено, що у пацієнтів з виявленими генами резистентності, повна ерадикація збудника після лікування мала місце у 16 (51,6%) хворого, тоді як у пацієнтів без генів стійкості – бактеріологічна ефективність була достовірно вище і повна ерадикація збудника була виявлена у 54 (72,9%), малюнок 3.64.

Мал. 3.64 Бактеріологічна ефективність АБТ у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності.

У пацієнтів з виявленими плазмідними генами резистентності спостерігається зниження бактеріологічної ефективності АБТ як у хворих із супутнім ЦД 2 типу, так і без останнього. Повна ерадикація збудника у хворих з виявленими генами резистентності становила 61% для хворих без діабету і тільки 25% - для пацієнтів на ХП і супутній ЦД 2 типу. Тоді як у пацієнтів без генів резистентності, повна ерадикація збудника була достовірно вище і мала місце у 90% хворих на ХП без діабету і у 79% - із ХП і ЦД 2 типу (малюнок 3.65).

Мал. 3.65 Бактеріологічна ефективність АБТ хворих (%) на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу в залежності від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності.

При аналізі бактеріологічної ефективності АБТ у хворих з виявленими плазмідними генами резистентності залежно від виду АБП, встановлено найбільший інгібуючий ефект в групі С та В. У пацієнти, що отримували аміноглікозиди, спостерігається відсутність бактеріологічної ефективності, що було підставою для подовження АБТ та/або заміни АБП (малюнок 3.66).

Мал. 3.66 Бактеріологічна ефективність АБТ у хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності залежно від виду емпіричного АБП.

Отже, спостерігається зниження бактеріологічної ефективності АБТ у хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності. Це явище було характерно як для пацієнтів із ХП і супутнім ЦД 2 типу, так і без останнього. Найвищу бактеріологічну ефективність у пацієнтів з виявленими плазмідними генами стійкості проявили цефалоспорини та комбінація фторхінолонів та цефалоспоринів, тому ці препарати можна рекомендувати у якості емпіричної АБТ у хворих з наявністю факторів ризику та/або інфекцією, спричиненою бактеріями з плазмідними механізмами резистентності.

В нашому дослідженні спостерігається зниження клінічної та бактеріологічної ефективності АБТ у хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності, що проявляється повільним регресом клінічних симптомів і лабораторних показників у таких хворих та відсутністю повної ерадикації збудника після лікування, що є передумовою для подовження лікування та, в деяких випадках, заміни АБП. Отримані нами дані узгоджуються з результатами Curello J. та співавт., що демонструють несприятливий клінічний результат емпіричної терапії ІСС, спричиненої бактеріями з плазмідними механізмами резистентності [30]. Встановлено, що у пацієнтів з виявленими плазмідними механізмами резистентності до β-лактамів, найбільшу інгібуючу активність in vivo проявляють фторхінолони, β-лактами та аміноглікозиди, однак останні негативно впливають на базальну мембрану клубочків та функціональну здатність нирок. Отримані результати підтверджуються даними Frakking FN. і співавт., даними Arne Søraas та співвавт. [114, 42, ]. Щодо пацієнтів з виявленими плазмідними механізмами резистентності до фторхінолонів, найбільшу інгібуючу активність in vivo продемонструвала комбінація фторхінолони/цефалоспорини. Отримані результати підтверджуються даними Longhi C. та соавт. про високу ефективність β-лактамів у лікуванні ІСС, спричиненої бактеріями з плазмідними механізмами резистентності до фторхінолонів [74]. Проте даних щодо високої ефективності комбінованого застосування β-лактамів/фторхінолонів проти бактерій з плазмідними механізмами резистентності до фторхінолонів, в світовій літературі нема. Щодо тривалості АБТ, у хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності, середня тривалість АБТ була достовірно вище (10,5 проти 8,4; р≤0,05). Одержані результати узгоджуються з даними дослідження Beyond Susceptible and Resistant, Part II, що демонструє достовірно вищу тривалість лікування у хворих з виявленими плазмідними механізмами стійкості (10,8 versus 7,1; p≤0,01)

У пацієнтів на ХП і супутній ЦД 2 типу спостерігається зниження клінічної і бактеріологічної ефективності АБТ у порівнянні із пацієнтами без діабету, що проявляється подовженням строків АБТ (10,6 проти 8,8; р≤0,05), більш повільним регресом клінічних симптомів і лабораторних маркерів, а також відсутністю бактеріологічної ефективності терапії у 34% хворих (у хворих на ХП без ЦД 2 типу, відсутність ерадикації збудника після лікування була констатована у 19% пацієнтів). Отримані нами результати узгоджуються з даними Shengsheng Yu та співавт., даними Aswani Srinivas M. та співавт., що підтверджують складність лікування ІСС на тлі ЦД 2 типу, відсутність сприятливої клінічної відповіді на АБТ та необхідність подовження строків АБТ у таких пацієнтів у порівнянні з особами без діабету [109, 16]. Найкращу ефективність in vivo у хворих на ХП і ЦД 2 типу продемонстрували фторхінолони та цефалоспорини, і, хоча ефективність фторхінолонів була вище ніж цефалоспоринів, необхідна розробка алгоритму раціонального призначення АБТ у цієї категорії пацієнтів, що у подальшому дозволить зменшити кількість ускладнень, витрати на лікування та строки госпіталізації.

Висновки:

1. У хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності спостерігається зниження як клінічної, так і бактеріологічної ефективності АБТ, що проявляється більш повільним регресом клінічних симптомів і лабораторних показників у таких пацієнтів, подовженням строків госпіталізації та відсутністю бактеріологічної ерадикації збудника у 34% хворих після лікування.
2. У пацієнтів з виявленими плазмідними βЛРС, найкращий клінічний результат продемонстрували аміноглікозиди, фторхінолони та β-лактами, тоді як у пацієнтів з генами резистентності до фторхінолонів, найефективнішою виявилася комбінація β-лактами/фторхінолони.

**3.5 ВЗАЄМОЗВ'ЯЗОК ПЛАЗМІД-ІНДУКОВАНИХ МЕХАНІЗМІВ РЕЗИСТЕНТНОСТІ З ІМУНОЛОГІЧНИМИ МАРКЕРАМИ СИСТЕМНОГО ЗАПАЛЕННЯ У ХВОРИХ НА ХРОНІЧНИЙ ПІЄЛОНЕФРИТ І СУПУТНІЙ ЦУКРОВИЙ ДІАБЕТ 2 ТИПУ**

Взаємозв’язок плазмід-індукованих механізмів резистентності з імунологічними маркерами системного запалення у хворих на ХП і ЦД 2 типу залишається маловивченим. Sundvall PD. et al. продемонстрували підвищення рівня ІЛ-6 у хворих похилого віку з наявністю клінічно значимої бактеріурії з або відсутністю клінічних симптомів пієлонефриту [117]. Narciso et al. встановили достовірний взаємозв’язок між наявністю плазмід-індукованих β-лактамаз і ІЛ-6, у хворих з ІСС [83]. Проте, дослідження проведене Tratselas A et al. демонструє відсутність достовірних зв’язків між концентрацією ІЛ-6 та плазмід-індукованими βЛРС у пацієнтів з ПН [120].

Отже, завданням нашого дослідження було встановити взаємозв’язки між наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності та імунологічними маркерами системного запалення у хворих, що страждають ХП і ЦД 2 типу.

**3.5.1 Виявлення імунологічних маркерів системного запалення у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній ЦД 2 типу.**

При дослідженні імунологічних маркерів системного запалення у хворих на ХП, встановлено підвищені рівні IL-6 (>4,1 пг/мл) у 38 пацієнтів, середній рівень склав – 9,24±0,85 пг/мл; середній рівень СРБ становив 19,92±4,3 мг/л; IgA – 3,3±0,1 мг/мл; IgG – 15,62±0,3 мг/мл; IgM – 1,9±0,07 мг/мл (малюнок 3.67).

Мал. 3.67 Виявлені імунологічні маркери у хворих на ХП і ЦД 2 типу.

При аналізі рівнів імунологічних маркерів у хворих в залежності від ступеня активності ХП, встановлено, що у хворих з ІІІ ст. активності ХП виявлені достовірно більші показники IL-6 (р≤0,05), СРБ (р≤0,05), та IgM (р≤0,05) (таблиця 3.12).

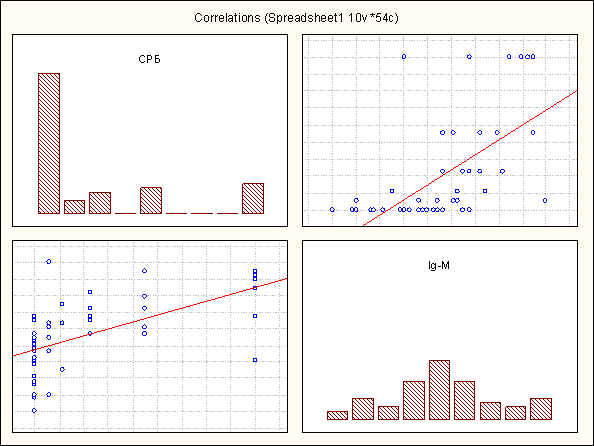
Таблиця 3.12

**Маркери імунологічного запалення у хворих в залежності від ступеня активності ХП**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **IL-6** | **IgA** | **IgG** | **IgM** | **СРБ** |
| Хворі з І ст. акт-ті | 8±5,8 | 2,8±0,2 | 14,78±0,7 | 1,6±0,1 | 8,8±5,8 |
| Хворі з ІІ ст. акт-ті | 8,1±1,3 | 3,5±0,2\*\* | 15,97±0,5 | 1,9±0,1\*\* | 23,75±7,4\*\* |
| Хворі з ІІІ ст. акт-ті | 10,65±1,3\* | 3,5±0,1\* | 15,94±0,3 | 2,1±0,1\* | 27±6,1\* |

Примітка: \* р≤0,05 при порівнянні ІІІ ст. та І ст. активності ХП; \*\* р≤0,05 при порівнянні ІІ ст. та І ст. активності ХП.

Виявлено достовірний кореляційний зв’язок між рівнем СРБ та IgM (r=0,67, р≤0,05) у хворих на ХП (малюнок 3.68).



Мал. 3.68 Взаємозв'язок СРБ та IgM у хворих на ХП і ЦД 2 типу.

У хворих на ХП з різними стадіями ХХН встановлено достовірно вищі рівні ІЛ-6 та IgM у пацієнтів з начальною та вираженою ХНН (р=0,07 для ХХН ІІІ ст., та р≤0,05 для ХХН ІV ст.). Проте, у осіб з ХХН І ст. встановлено достовірно більші значення СРБ (р≤0,05), таблиця 7.2.

Таблиця 3.13

**Маркери імунологічного запалення у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від стадії ХХН**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **IL6** | **IgA** | **IgG** | **IgM** | **СРБ** |
| ХХН І ст. | 8,2±2,4 | 3,04±0,1 | 15,43±0,7 | 1,7±0,2 | 32,25±10,2# |
| ХХН ІІ ст. | 7,89±1,8 | 3,2±0,3 | 15,44±0,9 | 1,7±0,2 | 15,52±7,6 |
| ХХН ІІІ ст. | 8,9±1,5 | 3,5±0,2\*\* | 15,71±0,6 | 2,1±0,1\*\* | 13,76±4,04 |
| ХХН ІV ст. | 11,12±1,4\* | 3,3±0,1 | 15,74±0,4 | 2,0±0,1\* | 24,78±7,7 |

Примітка: \* р≤0,05 при порівнянні ІV ст. та І ст. ХХН; \*\* р≤0,05 при порівнянні ІІІ та І ст. ХХН; # р≤0,05 при порівнянні І ст. та ІІІ ст. ХХН.

При подальшому аналізі кореляційних зв’язків встановлено прямий кореляційний зв’язок між рівнем ІЛ-6 та креатиніном крові (r=0,2) протеїнурією (r=0,1), лейкоцитурією (r=0,2) і негативний кореляційний зв'язок між рівнем IL-6 та ШКФ (r=-0,2) і САТ (r=-0,2), проте ці коефіцієнти не досягали достовірності (р≥0,05).

Отже, у хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу спостерігається підвищення імунологічних маркерів системного запалення, особливо це достовірно для пацієнтів з ІІІ ступенем активності захворювання. Встановлено достовірні кореляційні зв’язки між рівнем СРБ та IgM (r=0,67, р≤0,05). У хворих з ХХН ІІІ ст. та ХХН ІV ст. виявлено достовірно вищі рівні ІЛ-6 та IgM у пацієнтів з начальною та вираженою ХНН (р=0,07 для ХХН ІІІ ст., та р≤0,05 для ХХН ІV ст.).

**3.5.2** **Виявлення імунологічних маркерів системного запалення у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній ЦД 2 типу в залежності від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності.**

При дослідженні імунологічних маркерів системного запалення у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності, встановлено вищі показники ІЛ-6 (р=0,2), СРБ (р=0,5) та IgM (р=0,8) у пацієнтів з виявленими генами стійкості (група А), таблиця 7.3.

Таблиця 3.14

**Маркери системного запалення у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **IL-6** | **IgA** | **IgG** | **IgM** | **СРБ** |
| **Група А** | 10,65±1,7 | 3,3±0,2 | 15,9±0,6 | 1,9±0,2 | 25,56±7,5 |
| **Група В** | 8,52±0,9 | 3,3±0,1 | 15,5±0,3 | 1,8±0,1 | 19,92±4,5 |

У пацієнтів з плазмідними механізмами резистентності встановлено достовірний прямий кореляційний зв’язок між рівнем ІЛ-6 та рівнем СРБ (r=0,53; р≤0,05); рівнем ІЛ-6 та IgM (r=0,71; p≤0,05), та рівнем СРБ і IgM (r=0,65; р≤0,05), малюнок 3.69, 3.70.



Мал. 3.69 Взаємозв'язок ІЛ-6 і СРБ у хворих на ХП і ЦД 2 типу з виявленими плазмідними генами резистентності.



Мал. 3.70 Взаємозв'язок ІЛ-6 і IgM у хворих на ХП і ЦД 2 типу з виявленими плазмідними генами резистентності.

У хворих на ХП і ЦД 2 типу, встановлено достовірно вищі показники IL-6 (р=0,03), СРБ (р=0,7), проте у пацієнтів без діабету були виявлені вищі рівні IgM (р=0,7), таблиця 3.15.

Таблиця 3.15

**Маркери системного запалення у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу**

|  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- |
|  | **IL-6** | **IgA** | **IgG** | **IgM** | **СРБ** |
| **І група** | 12,2±1,1 | 3,4±0,1 | 15,69±0,5 | 2,0±0,1 | 23,8±6,2 |
| **ІІ група** | 6,9±1,4 | 3,3±0,1 | 15,72±0,5 | 1,8±0,1 | 20,6±5,01 |

Встановлено достовірні кореляційні взаємозв’язки в І групі між рівнем IL-6 та IgM (r=0,53, р≤0,05) і рівнем СРБ і IgM (r=0,72, р≤0,05).

Отже, у пацієнтів з виявленими плазмідними механізмами резистентності спостерігаються вищі показники ІЛ-6 (10,65 vs. 8,62, р≥0,05), СРБ (25,56 vs. 19,92 р≥0,05) та IgM (1,9 vs. 1,8 р≥0,05). Крім того, існує лінійний зв’язок на рівні значимості р≤0,05 між показниками системного запалення у хворих з наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності. У пацієнтів, що страждають ХП і ЦД 2 типу, виявлено достовірно вищий рівень маркерів системного запалення (IL-6, IgG та СРБ), ніж у хворих без супутнього ЦД 2 типу, що може свідчити про значну активацію гуморальної ланки неспецифічного імунітету у цієї категорії хворих.

Вивчення імунологічних маркерів системного запалення у хворих на ХП в залежності від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності дозволяє визначити рівень активації імунітету при колонізації сечової системи бактеріями з плазмідними генами стійкості та визначити можливі взаємозв’язки між показниками системного запалення у хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності. В нашому дослідженні було продемонстровано вищі рівні прозапального цитокіну ІЛ-6, імуноглобуліну М та С-реактивного протеїну у хворих з виявленими генами стійкості, однак достовірних відмінностей між групами не визначено. Отримані нами результати узгоджуються з даними Tratselas A et al. про відсутність достовірних зв’язків між концентрацією ІЛ-6 та плазмід-індукованими βЛРС у пацієнтів з ПН [120]. Проте, було встановлено лінійні зв’язки на рівні значимості р≤0,05 між показниками системного запалення (IL-6 та СРБ, r=0,53; IL-6 та IgM, r=0,71; СРБ і IgM, r=0,65) у хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності.

У пацієнтів, що страждають ХП на тлі ЦД 2 типу спостерігається достовірне підвищення маркерів системного запалення, а саме IL-6, IgG та СРБ, що може свідчити про значну активацію гуморальної ланки неспецифічного імунітету у цієї категорії хворих. Отримані нами результати підтверджуються даними Ю.С. Бусигіной і співавт. про наявність достовірно вищих рівнів імуноглобулінів та ІЛ-6 у хворих на ХП і ЦД 2 типу [1]. В іншому дослідженні, яке провели Imig JD. та співавтори, також виявлено підвищений рівень прозапальних цитокінів, що асоціюється з наявністю хронічного ураження нирок у хворих на цукровий діабет 2-го типу [57].

Висновки.

1. У хворих на ХП з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності існує достовірний кореляційний зв’язок між рівнями IL-6 та СРБ, r=0,53; IL-6 та IgM, r=0,71; СРБ і IgM, r=0,65.
2. У хворих на ХП і супутнім ЦД 2 типу, спостерігається достовірне підвищення маркерів системного запалення IL-6, IgG та СРБ ніж у пацієнтів без діабету.

**3.6 МЕТОДИ ДИФЕРЕНЦІЙОВАНОГО ПРИЗНАЧЕННЯ АНТИБІОТИКО-ТЕРАПІЇ ЗАЛЕЖНО ВІД НАЯВНОСТІ ПЛАЗМІД-ІНДУКОВАНИХ МЕХАНІЗМІВ РЕЗИСТЕНТНОСТІ У ХВОРИХ ХРОНІЧНИМ ПІЄЛОНЕФРИТОМ І СУПУТНІМ ЦУКРОВИМ ДІАБЕТОМ 2 ТИПУ.**

Раціональне призначення АБТ є головним завданням при лікуванні ХП. Проте, методи диференційованого призначення антибіотиків хворим на ХП з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності, повністю не розроблені. Так, згідно рекомендацій EAU 2015, емпіричними АБП при лікуванні ХП є парентерально фторхінолон (при наявності резистентності < 10%), 3-я генерація цефалоспоринів (при наявності резистентності < 10%), аміноглікозид/карбапенем у разі резистентності до фторхінолонів та цефалоспоринів > 10% [77]. Curello J. та співавт. в дослідженні Beyond Susceptible and Resistant, Part II демонструють несприятливий клінічний результат у разі лікування ІСС, спричиненої бактеріями з плазмідними механізмами резистентності, цефалоспоринами та піпераціллин/тазобактамом, проте ефективність карбапенемів була високою [30]. Тому, розробка алгоритму диференційного призначення АБТ хворим з наявністю факторів ризику та/або виявленими плазмідними механізмами резистентності є необхідним з метою підвищення ефективності емпіричної АБТ та зниження розвитку ускладнень. Крім того, підвищення ефективності лікування та раціональне застосування антибіотиків дозволить зменшити кількість рецидивів захворювання та нових випадків ХХН V ст., обумовлених ХП, зменшити витрати на лікування та строки госпіталізації, і, зрештою, запобігти поширенню індукованої плазмідами антибіотико-резистентності серед бактеріальних штамів.

Отже, завданням нашого дослідження було оптимізувати методи диференційованого призначення антибіотико-терапії залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу.

**3.6.1 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від виду емпіричної антибіотико-терапії.**

Для аналізу виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП в залежності від виду одержаної емпіричної АБТ, пацієнти були розподілені на 3 групи: група А – хворі, що отримували фторхінолони, група В – цефалоспорини, група С – комбінацію фторхінолонів і цефалоспоринів. Виявлення плазмідних генів стійкості в групах, що приймали фторхінолони, цефалоспорини та комбінацію вищезазначених препаратів становило 41,7%, 43,9% та 40% відповідно (малюнок 3.71).

Мал. 3.71 Виявлення плазмідних генів резистентності залежно від виду емпіричного АБП.

По типам виявлених генів, в групі А виявлення як плазмід-індукованих βЛРС, так і генів стійкості до фторхінолонів, не відрізнялось і складало 20,8%; в групі В – переважали β-лактамази розширеного спектру дії з частотою виявлення 29,3%; в групі С також переважали βЛРС з частотою виявлення 32,5% відповідно (таблиця 3.16).

Таблиця 3.16

|  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- |
| **Гени** | **Групи** | | |
| ***Група А*** | ***Група В*** | ***Група 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%) |
| QnrА | 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%) |

У хворих на ХП і супутнім ЦД 2 типу, виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності було найвищім в групі А (80% vs. 14,3%, p≤0,05). У пацієнтів із ХП без діабету, питома вага генів резистентності була найвища в групі В (48%), малюнок 3.72.

Мал. 3.72 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу залежно від виду емпіричного АБП.

Отже, виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих, що приймають фторхінолони, складає 42%, цефалоспорини – 44%, комбінацію фторхінолонів і цефалоспоринів – 40%. У хворих на ХП і супутнім ЦД 2 типу, виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності було найвищім в групі А (80%), у пацієнтів без діабету – в групі В (48%), що робить неможливим застосуванням цих препаратів в якості емпіричної АБТ у цієї категорії хворих.

**3.6.2 Вплив проведеної емпіричної АБТ на виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності.**

При аналізі впливу емпіричної АБТ на виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності встановлено, що виявляємість плазмідних генів стійкості в групах А, В, С становила 17%, 20% та 12% відповідно (малюнок 3.73). Отже, можна припустити, що існує певний вплив самих АБП на колонізацію сечової системи бактеріями з плазмідними генами стійкості.

Мал. 3.73 Виявлення плазмідних генів резистентності по групах до та після лікування.

Після лікування, у хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу була встановлена достовірно вища виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності ніж у пацієнтів без діабету (31,3% проти 12,3%, р≤0,05). При подальшому аналізі, у пацієнтів із ХП і ЦД 2 типу, найбільшу питому вагу генів резистентності було визначено в групі, що приймали фторхінолони, тоді як у пацієнтів без супутнього діабету, - в групі хворих, що приймали цефалоспорини (малюнок 3.74).

Мал. 3.74 Виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності після АБТ у хворих на ХП з і без супутнього ЦД 2 типу.

При аналізі типів виявлених після лікування плазмід-індукованих механізмів резистентності, встановлено, що в групі А переважали гени стійкості до фторхінолонів, в групах В та С – β-лактамази розширеного спектру дії, малюнок 3.75.

Мал. 3.75 Типи виявлених плазмід-індукованих механізмів резистентності в залежності від виду проведеної АБТ.

Примітка: \* р≤0,05 при порівнянні виявлення βЛРС в групі D та групі А; \*\* р≤0,05 при порівнянні виявлення βЛРС в групі D та групі В; # р≤0,05 при порівнянні виявлення βЛРС в групі D та групі С.

Отже, існує певний вплив АБП на колонізацію сечової системи бактеріями з плазмідними генами стійкості. Так, при прийомі фторхінолонів, виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності складає 17%, цефалоспоринів – 20%, проте при комбінації вищезазначених препаратів, частота виявлення становить 12%. У хворих на ХП і ЦД 2 типу, виявляємість плазмідних генів резистентності достовірно вище після лікування, що вказує на необхідність раціонального застосування АБТ у цієї категорії хворих.

**3.6.3 Методи диференційованого призначення антибіотико-терапії хворим на ХП і ЦД 2 типу залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності.**

Пацієнтам, що страждають ХП і ЦД 2 типу та мають фактори ризику колонізації сечової системи бактеріями з плазмідними механізмами резистентності, доцільно використовувати в якості емпіричної АБТ, фторхінолони, цефалоспорини, та у разі необхідності – їх комбінувати. Проте, у пацієнтів на ХП і супутній ЦД 2 типу, доцільніше призначати цефалоспорини, тоді як пацієнтам без діабету – більшу ефективність проявляють фторхінолони. Група аміноглікозидів не рекомендується в якості емпіричної АБТ хронічного пієлонефриту, у зв’язку з високою вірогідністю контамінації сечового тракту бактеріями з плазмідними механізмами резистентності. У разі відсутності клінічної ефективності АБТ на третю добу лікування, подовжити парентеральне введення препарату до 5-ти днів. У разі необхідності – заміна АБП відбувається з урахуванням результатів бактеріологічного дослідження сечі. За відсутності ерадикації збудника, АБТ подовжити до 2-х тижнів з послідуючим повторним посівом сечі.

Крім того, згідно проведеного нами аналізу взаємозв’язків чутливості/резистентності in vitro уропатогенів з та без наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності, встановлено, що найбільшу інгібуючу активність проти бактерій з плазмідними генами стійкості проявляють: меропенем, нітроксолін, фосфоміцин, ко-трімоксазол, амікацин цефіпім та левофлоксацин. Проте, у хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу, найбільш чутливими препаратами були карбапенеми, цефалоспорини, нітроксолін, фосфоміцин, ко-трімоксазол. Тоді як у пацієнтів на ХП без діабету, препаратами з найбільшим інгібуючим ефектом були: карбапенеми, 3 та 4 генерація цефалоспоринів, фторхінолони, нітроксолін, нітрофурантоїн.

Отже, враховуючи результати клінічної та бактеріологічної ефективності АБТ, дані чутливості/резистентності in vitro та впливу АБП на колонізацію сечової системи бактеріями з плазмідними генами стійкості, був розроблений алгоритм диференційованого призначення антибіотико-терапії хворим на ХП і супутнім ЦД 2 типу залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності (малюнок 3.76).



**Через 72 години**

**Емпірична терапія**

Мал. 3.76 Алгоритм диференційованого призначення антибіотико-терапії хворим на ХП і супутнім ЦД 2 типу залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності.

Розробка методів диференційованого призначення АБТ залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності дозволить підвищити ефективність лікування ХП на тлі ЦД 2 типу та запобігти розвитку ускладнень. Крім того, підвищення ефективності лікування та раціональне застосування антибіотиків дозволить зменшити кількість рецидивів захворювання та нових випадків ХХН V ст., обумовлених ХП, зменшити витрати на лікування та строки госпіталізації, і, зрештою, запобігти поширенню індукованої плазмідами антибіотико-резистентності серед бактеріальних штамів. В нашому дослідженні було визначено найбільш ефективні АБП проти бактерій з плазмідними генами стійкості та розроблено алгоритм диференційованого призначення АБТ у хворих на ХП залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності. Встановлено, що у пацієнтів на ХП і супутній ЦД 2 типу, доцільніше призначати цефалоспорини, тоді як у пацієнтів без діабету – більшу ефективність проявляють фторхінолони. Група аміноглікозидів не рекомендується в якості емпіричної АБТ хронічного пієлонефриту, у зв’язку з високою вірогідністю контамінації сечового тракту бактеріями з плазмідними механізмами резистентності. Отримані нами результати узгоджуються з даними Arne Søraas та співавт., що демонструють сприятливий клінічний ісход при лікуванні фторхінолонами та цефалоспоринами, та негативний результат – при лікуванні меціллінамом, ІСС, викликаної бактеріями з плазмідними механізмами резистентності [114]. Інше дослідження, проведене Florine N. J. і співавт. демонструє високу ефективність β-лактамів/інгібіторів β-лактамаз та цефалоспоринів в якості емпіричної АБТ хворих з виявленими механізмами резистентності [43].

Висновки.

1. Виявлений вплив емпіричної АБТ на колонізацію сечової системи бактеріями з плазмідними механізмами стійкості: при прийомі фторхінолонів, виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності складає 17%, цефалоспоринів – 20%, проте при комбінації вищезазначених препаратів, частота виявлення становить 12%.
2. Був розроблений алгоритм диференційованого призначення антибіотико-терапії хворим на ХП і супутнім ЦД 2 типу залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності.

**АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕННЯ**

Інфекції сечової системи (ІСС) є найбільш поширеною групою інфекційних захворювань у всьому світі [40, 86]. В Україні щорічно збільшується поширеність ІСС, переважно за рахунок хронічного пієлонефриту (ХП), оскільки на його долю в структурі вказаної групи хвороб припадає більше 90% випадків [3]. Більш того, ХП в структурі причин ХХН V ст., за даними офіційного реєстру хворих з ХХН в Україні за 2012 рік, займає провідну позицію [8]. На тлі цукрового діабету, ХП діагностується практично у кожного четвертого хворого, що у 2-3 рази частіше, ніж в загальній популяції [7, 9]. Крім того, у пацієнтів із цукровим діабетом, ХП, в більшості випадків, протікає безсимптомно, що може призвести до серйозного пошкодження нирок з розвитком ниркової недостатності. Атипові та резистентні ІСС також частіше зустрічаються у пацієнтів із ЦД [17, 109]. Тому якісна діагностика та лікування ХП, особливо на тлі ЦД, є актуальним завданням сучасної медичної практики.

Ефективність лікування ХП значною мірою лімітується формуванням стійкості до АБП [4]. Резистентність до АБП збільшує захворюваність, смертність та витрати на лікування [48]. Проте, незважаючи на серйозність проблеми антибіотико-резистентності, і величезної кількості досліджень, проведених в цьому напрямку, маловивченою залишається резистентність, пов'язана з перенесенням генів стійкості між бактеріями мобільними ДНК - плазмідами. За даними EARS-Net в більшості європейських країн щороку збільшується кількість штамів Escherichia coli, зі зниженою чутливістю до фторхінолонів, 3-ї генерації цефалоспоринів та аміноглікозидів, внаслідок швидкого поширення генів резистентності за допомогою плазмід [38]. Останні являють собою дрібні генетичні елементи у вигляді зв’язаних у кільце ниток ДНК, здатні переносити від одного до декількох генів резистентності не тільки серед бактерій одного виду, але і мікробів різних видів [28]. Тому, дослідження експресії плазмід-індукованих генів резистентності серед уропатогенів є актуальним і перспективним напрямом, який дозволить поглибити розуміння механізмів формування резистентності і підійти з нової позиції до підвищення ефективності антибактеріальної терапії.

Отже, метою дослідження було підвищити ефективність терапії хворих на хронічний пієлонефрит із супутнім цукровим діабетом 2 типу, на підставі вивчення та розробки методів подолання генних механізмів антибіотико-резистентності індукованих плазмідами.

Для реалізації мети були поставлені наступні завдання:

1. Вивчити наявність плазмід-індукованих механізмів антибіотико-резистентності у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу.
2. Визначити основні фактори, що можуть бути пов’язані з наявністю плазмід-індукованих механізмів антибіотико-резистентності у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу.
3. Встановити взаємозв'язок резистентності in vitro до антибактеріальних препаратів з наявністю індукованих плазмідами генів антибіотико-резистентності у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу.
4. Вивчити вплив плазмід-індукованих механізмів резистентності на клінічну та бактеріологічну ефективність антибіотико-терапії хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу.
5. Визначити взаємозв’язок плазмід-індукованих механізмів антибіотико-резистентності з показниками неспецифічних запальних реакцій (IgA, IgM, Ig G та інтерлейкіну 6) у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу.
6. Оптимізувати методи диференційованого призначення антибіотико-терапії в залежності від наявності індукованих плазмідами механізмів антибіотико-резистентності, у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу.

Для досягнення мети і реалізації поставлених завдань, було обстежено 105 хворих на хронічний пієлонефрит. В залежності від наявності супутнього ЦД 2 типу, хворі були розподілені на 2 групи: І група (n=73) хворі на ХП із супутнім ЦД 2 типу, ІІ група (n=32) – пацієнти із ХП без ЦД 2 типу. Хворі знаходились на обстеженні та лікуванні у 1 терапевтичному відділенні з нефрологічними ліжками (20) Харківської міської клінічної лікарні швидкої та невідкладної медичної допомоги №4 ім. проф. О.І. Мещанінова. Серед обстежених було 91 (86,7 %) жінка і 14 (13,3 %) чоловіків, середній вік склав 56,9±1,7 років. Серед обстежених, у 21 (20%) хворих на ХП було діагностовано І стадію ХХН, у 28 (26,7%) – ІІ стадію, ІІІ стадію ХХН мали 27 (25,7%) пацієнтів, ІV – 29 (27,6%). Для визначення стадії ХХН ми використовували класифікацію хвороб для нефрологічної практики згідно з наказом МОЗ України № 65/462 від 30.09.03 та рішенням 4-го з'їзду Української асоціації нефрологів (2013) [5]. Ступінь порушення функції нирок оцінювали шляхом розрахунку швидкості клубочкової фільтрації (ШКФ), який здійснювали за формулою CKD-EPI (KDIGO 2012). Методи обстеження включали:

1. Методи оцінки стану хворого і верифікації діагнозу (сбір анамнезу, загальний огляд, лабораторні і інструментальні методи) проводилися згідно діючих рекомендацій [3];

2. Методи оцінки ефективності антибіотико-терапії вивчалися в динаміці клінічних симптомів і лабораторних показників (клінічного аналізу крові та сечі, біохімічного аналізу крові з визначенням концентрацій креатиніну, сечовини, загального білку);

3. Методи оцінки резистентності in vitro - чутливість виділених культур до АБП проводили диско-дифузійним методом Bauer-Kirbi на середовищі Хінтон-Мюллера з використанням комерційних дисків. Облік результатів проводили шляхом вимірювання зон затримки росту мікроорганізмів навколо дисків, включаючи діаметр самого диска [2];

4. Методи дослідження плазмід-індукованих механізмів резистентності полягали в діагностиці генів ТЕМ, SHV і СТХ-М, що кодують вироблення βЛРС та генів QnrА, AAC(6')-Ib-cr, QepA, що опосередковують стійкість до фторхінолонів, методом полімеразної ланцюжкової реакції (ПЛР). ПЛР проводили за стандартною схемою за допомогою програмованого термоциклера «Терцик-2» фірми ДНК-технологія [15].

5. Дослідження імунологічних маркерів системного запалення (ІЛ-6, IgA, IgG, IgM) проводилося методом імуноферментного аналізу.

6. Статистичні методи проводили за допомогою пакету статистичних програм Statistica 6.0., що включали параметричні (блок базових статистик, оцінку значимостей відмінностей середніх проводили за допомогою ANOVA) та непараметричні (Хі квадрат, при необхідності з поправкою Йеті, критерій Фішера) методи; при факторному аналізі використовувався тип обертання - варімакс нормалізований.

Лікування хворих на ХП проводилось згідно рекомендацій адаптованої клінічної настанови з кращої діагностики, лікування та профілактики інфекцій сечової системи Української асоціації нефрологів (2012р) [3]. В залежності від виду емпіричного АБП, хворі були розподілені на 4 групи: група А (40 осіб) – отримали фторхінолон II або III генерації, група В (42 особа) – цефалоспорин II, III або IV поколінь, група С (23 осіб) – комбінацію фторхінолон/цефалоспорин.

В першу чергу ми вивчили поширеність плазмід-індукованих механізмів резистентності серед хворих на хронічний пієлонефрит і супутній ЦД 2 типу та визначили основні види бактерій з наявністю плазмідних генів резистентності (глава 3, розділ 3.1).

Згідно отриманих нами даних, поширеність плазмід-індукованих механізмів резистентності серед хворих на ХП складає 29,5%. Розповсюдження плазмідних генів резистентності до β-лактамів, пов’язаних з виробленням β-лактамаз розширеного спектру дії (βЛРС) становило 19%, генів резистентності до фторхінолонів – 9%, у 2% хворих виявилася комбінація βЛРС і генів резистентності до фторхінолонів. У хворих на ХП із супутнім ЦД 2 типу частота виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності дещо вища і становить 31,5% (23/73), тоді як у пацієнтів без діабету – 25% (8/32), проте достовірних відмінностей між групами не виявлено. По виявляємості домінували βЛРС як у пацієнтів із ХП і супутнім ЦД 2 типу, так і без останнього, хоча розповсюдженість плазмідних генів стійкості до фторхінолонів теж була доволі висока (11% (8/73) – для І групи, 6/32 (19%) – для ІІ групи).

Отже, спостерігається висока розповсюдженість плазмідних генів стійкості серед хворих на ХП, особливо у пацієнтів із супутнім ЦД 2 типу, що, можливо, є однією із причин зниження ефективності лікування пієлонефриту, оскільки за даними офіційного реєстру хворих з ХХН в Україні за 2012 рік саме ХП в структурі причин ХХН V ст. займає провідну позицію [8]. У порівнянні з даними дослідження SENTRY [29], де виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності становила 6,4%, в нашому дослідженні спостерігається більш висока частота виявлення – 29,5%. Однак, Sharma M та соавт. звітують о 52% виявляємості плазмід-індукованих механізмів резистентності серед пацієнтів із ХП [108], що підтверджує варіабельність даних щодо поширеності плазмід-індукованих механізмів резистентності між країнами, можливо внаслідок активності плазмід, та необхідності подальших досліджень у цьому напрямку з метою запобігання поширенню резистентності.

Longhi C та соавт. у своєму дослідженні демонструють такі рівні плазмід-індукованої резистентності до фторхінолонів: 11% для амбулаторних пацієнтів з ІСС та 21% - для госпіталізованих [74]. Крім того, поширеність генів резистентності щорічно зростає завдяки високій активності мобільних генетичних елементів – плазмід [38].

Цукровий діабет, по даним різних авторів, є незалежним фактором ризику, що сприяє колонізації сечової системи бактеріями з плазмідними механізмами резистентності. Так, Freeman JT та співавт., продемонстрували високу питому вагу плазмідних генів резистентності саме серед хворих із ЦД (23,9%) [45]. Поширеність плазмідних генів резистентності серед хворих на ХП і ЦД, по даним Kang C.I. та соавт., становила 25,9% [65]. Проте, в нашому дослідженні, виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності серед пацієнтів із ХП та ЦД 2 типу достовірно не відрізнялась від пацієнтів без діабету, і становила 31,5% Тому, висока поширеність плазмід-індукованих механізмів резистентності серед хворих, що страждають ХП і ЦД 2 типу, з одного боку, підтверджує складність лікування ХП на тлі ЦД 2 типу та необхідність раціоналізації емпіричної АБТ у таких хворих, а з іншого – поглиблює розуміння механізмів формування резистентності і дозволяє підійти з нової позиції до підвищення ефективності антибактеріальної терапії.

Щодо розповсюдженості плазмід-індукованих механізмів резистентності серед основних збудників ХП, в нашому дослідженні вона складала 38,3%: 26,1% генів, що кодують βЛРС та 12,3% генів – що опосередковують резистентність до фторхінолонів. Максимум генів β-лактамаз було виділено у P.mirabilis - 4 (50%), виявлення βЛРС в штамах E.сoli склала 37,7%, K.pneumoniae – 22,2%. Найбільш поширеними визнані типи blaTEM і blaCTX-M. Найбільше генів резистентності до фторхінолонів було виявлено в штамах P.aeruginosa (50%), E.coli (15,1%) та P.mirabilis (12,5%). Домінуючими генами були efflux pump QepA та протеїн QnrА. В Європейських країнах, згідно даних річного звіту європейської громади з епіднагляду за антимікробною резистентністю (EARS-Net) за 2012 рік, поширеність βЛРС серед клінічних штамів E. coli і K.pneumoniae, резистентних до 3-ї генерації цефалоспоринів, варіює від 85-100% [38]. Поширеність плазмід-індукованих генів резистентності до фторхінолонів серед клінічних штамів Escherichia coli і K.pneumoniae в Таїланді становить 22,3% і 65,3% відповідно. За виявленням гени розташувалися в наступному порядку: aac (6 ') - Ib-cr, qnrS, qnrB і qnrA [87].

Отже, отримані нами результати свідчать о високій поширеності плазмід-індукованих механізмів резистентності серед хворих на ХП, особливо із супутнім ЦД 2 типу, що засвідчує про необхідність включення в план обстеження таких пацієнтів дослідження експресії плазмідних генів стійкості з метою підвищення ефективності емпіричної АБТ.

Наступним етапом нашого дослідження було визначення основних факторів, що можуть бути пов’язані з наявністю плазмід-індукованих механізмів антибіотико-резистентності у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу (глава 3, розділ 3.2), щоб відокремити основні категорії хворих, яким доцільно в план обстеження включати дослідження експресії плазмід-індукованих механізмів резистентності. Встановлено, що у пацієнтів, які страждають ХП і ЦД 2 типу на тлі ХХН ІІІ та ІV стадій; або із супутніми: обструкцією сечовивідних шляхів; артеріальною гіпертензією; наявністю епізодів перенесеного простатиту або циститу, можливість колонізації сечової системи бактеріями з плазмідними генами резистентності достовірно вище. Крім того, були визначені фактори ризику, що достовірно пов’язані з виявленням плазмід-індукованих βЛРС: вік 55 років і вище (53%, р≤0,05), факт стаціонарного лікування упродовж останнього року (70,8%, р≤0,05), прийом β-лактамів та фторхінолонів з різних причин у поточному році (44,7%, р≤0,05). До факторів ризику, що були пов’язані з виявленням плазмід-індукованих механізмів резистентності до фторхінолонів, ми віднесли: чоловічу стать, вік старше 55 років, та тривалість ХП до 5 років.

За результатами факторного аналізу було встановлено три взаємопов’язаних фактора у хворих на ХП і ЦД 2 типу з виявленими генами стійкості: загально-клінічний, що включає тривалість ХП, систолічний та діастолічний тиск, протеїнурію; імунологічний, до якого відносяться СРБ, IgA, IgM, IgG; та функціональний – містить креатинін, сечовину, ШКФ.

Таким чином, пацієнтам у віці старше 55 років, що страждають ХП більше 10 років, мають АГ, ХХН ІІІ і ІV стадій, обструкцію сечовивідних шляхів та/або наявність в анамнезі епізодів перенесеного простатиту або циститу, доцільно в план обстеження включати дослідження експресії плазмід-індукованих механізмів резистентності з метою раціонального підбору АБТ. Більш того, у пацієнтів з наявністю факту стаціонарного лікування упродовж останнього року, прийому β-лактамів та фторхінолонів з різних причин у поточному році – достовірно зростає виявлення βЛРС, а у пацієнтів чоловіків, з тривалістю захворювання до 5 років – зростає виявляємість генів стійкості до фторхінолонів. Останнє являє собою важливий диференційний критерій для вибору тактики емпіричної АБТ.

Щодо даних світової літератури, Freeman JT та співавт., також демонструють високу питому вагу плазмідних генів резистентності серед хворих із ЦД (23,9%), хронічним захворюванням легень (15,2%), у хворих лейкозом (13%) і у пацієнтів, що мають солідні новоутворення (18,5%), та рецидивуючим перебігом ІСС (43%) [45]. А Kang C.I. та співавт. у своєму дослідженні визначили високу частоту колонізації сечової системи бактеріями з плазмідними генами резистентності у хворих із термінальною нирковою недостатністю (13%), цукровим діабетом (25,9%), захворюванням простати (54%), та солідними новоутвореннями (22,2%) [65]. До факторів ризику колонізації або інфекції, спричинених βЛРС-продукуючими організмами, згідно даних ряду досліджень відносять: чоловічу стать (65,2%, р≤0,05); вік 65 років і вище (51,9%, р≤0,05); випадок не давньої госпіталізації (95%, р≤0,001); лікування в попередні 3 місяці цефалоспоринами, пеніцилінами та фторхінолонами (95%, р≤0,001); захворювання простати (95%, р≤0,05) [18, 54, 65, 122].

До факторів ризику колонізації сечової системи уропатогенами з плазмідними механізмами резистентності до фторхінолонів, згідно з даними **Verónica Seija** і співавт. та Smithson A і співавт., були віднесені: вік старше 60 років (OR 2,52), наявність обструкції сечових шляхів (OR 2,09), епізод рецидиву ІСС у минулому (OR 2,98), та прийом фторхінолонів у попередні 3 місяця (OR 4,27) [111, **126**].

Отже, визначення факторів, пов’язаних з наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП і супутній цукровий діабет 2 типу, дозволило відокремити основні категорії хворих, в план обстеження яких доцільно включати дослідження експресії плазмідних генів резистентності.

Наступним важливим кроком нашої роботи було встановлення взаємозв’язків між чутливістю/резистентністю in vitro до АБП та наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності серед збудників ХП (глава 3, розділ 3.3), що з одного боку дозволило визначити необхідність дослідження експресії плазмідних генів стійкості у бактерій з резистентністю до АБП in vitro, а з іншого – встановити найбільш ефективні препарати проти мікроорганізмів з плазмідними генами резистентності. Резистентність in vitro до амінопеніциллінів, цефалоспоринів та фторхінолонів була достовірно пов’язана з наявністю в уропатогенних штамах плазмідних βЛРС типу blaCTX-M, blaTEM, blaSHV. Резистентність до аміноглікозидів була достовірно пов’язана з виявленням blaCTX-M. Найбільшу інгібуючу активність проти βЛРС-продукуючих мікроорганізмів проявили меропенем, фосфоміцин, нітроксолін. Також високу активність проти штамів з геном blaCTX-M проявили ко-трімоксазол; проти штамів з геном blaTEM – амікацин, цефіпім та гентаміцин; проти штамів з геном blaSHV – амікацин та цефтріаксон. Резистентність in vitro до амінопеніциллінів, фторхінолонів та аміноглікозидів була достовірно взаємопов’язана з наявністю в штамах плазмід-індукованих механізмів резистентності до фторхінолонів. Крім того була виявлена перехресна резистентність до цефалоспоринів, достовірно пов’язана з генами QnrА та AAC(6 ')-Ib-cr. Найбільшу інгібуючу активність проти штамів з генами стійкості до фторхінолонів проявили меропенем, фосфоміцин, ко-трімоксазол. Також високу чутливість проти штамів з геном QepA проявили нітроксолін, фуромаг, нітрофурантоїн; проти штамів з геном AAC(6')-Ib-cr – аміноглікозиди. Рівні резистентності уропатогенів без виявлених плазмідних генів стійкості були дещо вищі до аміноглікозидів (41% vs. 37,5%), ко-трімоксазолу (44% vs. 36%), фосфоміцину (29% vs. 25%), цефіпіму (44% vs. 39%) та амоксициллін/клавуланату (60% vs. 58%), однак достовірно не відрізнялись поміж груп.

Отримані нами результати узгоджуються з даними світової літератури. Так, згідно опублікованого ретроспективного аналізу, рівні резистентності бактерій з плазмідними механізмами резистентності складали: цефотаксім (100%), цефтазідім (100%), ампіциллін (69,5%), ципрофлоксацин (55,5%), цефіпім (32%), ко-трімоксазол (25%), налідиксовая кислота (23,4%), нітрофурантоїн (16,4%), амікацин (12,5%). Всі штами (100%) були чутливі до карбапенемів [80]. Згідно з даними Kresken M та соавт., рівні резистентності штамів з плазмідними генами blaCTX-M були високими до: ампіцилліну (42,9%), амоксициллін/клавуланату (32,7%), тріметопрім/сульфометоксазолу (30,9%), ципрофлоксацину (19,8%). Тільки фосфоміцин і карбапенеми мали 100% активність проти бактерій з плазмідними генами blaCTX-M, що також було продемонстровано і в нашому дослідженні [68]. Eftekhar F та співавт., демонструють високі рівні резистентності штамів з плазмідними генами blaTEM до амоксицилліну (96%), нітрофурантоїну (78%), амікацину (49%), цефтріаксону (41%). Меропенем та фосфоміцин проявили 100% інгібуючу активність in vitro [36]. Hammami S та співавт. демонструють високі рівні резистентності штамів з плазмідними генами blaSHV до амоксицилліну, 2-ї генерації цефалоспоринів та ципрофлоксацину. Найбільш ефективними виявлені карбапенеми, амікацин та фосфоміцин [51]. Отже, найбільш ефективними препаратами проти βЛРС-продукуючих штамів є фосфоміцин, карбапенеми та аміноглікозиди.

Бактерії з виявленими плазмідними механізмами резистентності до фторхінолонів (QnrА, AAC(6 ')-Ib-cr, QepA), згідно даних Jlili Nel-H та співавт., Pasom W та співавт., Longhi C та співавт., мають високі рівні резистентності не тільки до фторхінолонів, а і до β-лактамів та аміноглікозидів. Найбільший інгібуючий ефект проявили карбапенеми, фосфоміцин, ко-трімоксазол [61, 75, 89].

Отже, встановлені взаємозв’язки між чутливістю/резистентністю in vitro та наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності серед уропатогенів підтвердили необхідність дослідження експресії плазмідних генів стійкості у бактерій з резистентністю до АБП in vitro. Крім того, були визначені найбільш ефективні антибіотики in vitro проти мікроорганізмів з плазмідними механізмами резистентності в залежності від типів виявлених генів.

Далі, ми проаналізували вплив плазмід-індукованих механізмів резистентності на клінічну та бактеріологічну ефективність АБТ у хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу (глава 3, розділ 3.4). У хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності спостерігається зниження клінічної ефективності АБТ у порівнянні з пацієнтами без генів резистентності, що проявляється більш повільним регресом клінічних симптомів: при виписці у хворих з виявленими βЛРС зберігались скарги на астенічний (42%) та больовий синдроми (4%), а у пацієнтів з виявленими генами резистентності до фторхінолонів, больовий та інтоксикаційний синдроми, в день виписки, мали місце у 46% та 9% хворих відповідно. Тоді як пацієнти без генів резистентності в день виписки скарг не пред’являли. Щодо динаміки лабораторних маркерів в ході АБТ встановлено достовірне зниження лейкоцитозу на 17%, ШОЕ – на 9% у хворих без генів резистентності. Тоді як у пацієнтів з виявленими генами стійкості – спостерігається зниження лейкоцитозу на 28%, ШОЕ – на 7%. Регрес гематурії та лейкоцитурії у хворих з виявленими генами резистентності проходив повільніше ніж у пацієнтів без генів, проте навіть при виписці не досягав фізіологічних значень в жодній з груп. Крім того, середня тривалість АБТ у пацієнтів з виявленими плазмідними генами стійкості була достовірно вище (10,5 vs. 8,4; р≤0,05) ніж у пацієнтів без генів резистентності.

Найкращий клінічний ефект у хворих з виявленими плазмідними βЛРС продемонстрували цефалоспорини та фторхінолони, тоді як у пацієнтів з виявленими генами стійкості до фторхінолонів – найефективнішою визначена комбінація цефалоспоринів/фторхінолонів.

При аналізі впливу плазмід-індукованих механізмів резистентності на бактеріологічну ефективність АБТ встановлено достовірне її зниження у хворих з виявленими генами резистентності, що проявилось у відсутності ерадикації збудника після АБТ у 48,4% пацієнтів. Однак у хворих без генів резистентності теж спостерігається зниження бактеріологічної ефективності АБТ і повна ерадикація збудника мала місце у 72,9% пацієнтів, тоді як 27% - потребували подовження АБТ. Найвищу бактеріологічну ефективність у пацієнтів з виявленими плазмідними генами стійкості проявили цефалоспорини та комбінація фторхінолонів/цефалоспоринів.

Отже, наявність плазмід-індукованих механізмів резистентності призвело до зниження як клінічної, так і бактеріологічної ефективності АБТ, та зумовило подовження строків госпіталізації і, в деяких випадках, заміни АБП. Curello J. та співавт., теж демонструють несприятливий клінічний результат емпіричної терапії ІСС, спричиненої бактеріями з плазмідними механізмами резистентності та подовженням строків АБТ у таких хворих (10,8 versus 7,1; p≤0,01) [30]. Проте, цей факт потребує подальших досліджень, тому що відомостей дуже мало. Щодо бактеріологічної ефективності, зниження останньої спостерігалось як у хворих з виявленими генами резистентності, так і без них, що свідчить о необхідності перегляду тактики емпіричної АБТ хворих на ХП. Відповідно до рекомендацій Європейської асоціації урологів (EAU 2015), препаратами емпіричної АБТ неускладненої ІСС є фторхінолони при рівні резистентності в даному географічному регіоні <10%, альтернативними антибіотиками вважаються третя генерація цефалоспоринів або аміноглікозиди (у разі резистентності до фторхінолонів або цефалоспоринів> 10%). У разі ускладненої ІСС, препаратами вибору є фторхінолони, захищені пеніциліни або цефалоспорини 3-го покоління, та аміноглікозиди, останні можуть призначатися в комбінації з вищевказаними антибіотиками [77]. В нашому дослідженні, найкращий клінічний і бактеріологічний ефекти продемонстрували цефалоспорини та комбінація фторхінолонів/цефалоспоринів, остання була найбільш ефективна у пацієнтів з виявленими генами резистентності до фторхінолонів, тоді як при лікуванні аміноглікозидами – у 100% хворих з виявленими плазмідними механізмами резистентності спостерігалась відсутність бактеріологічної ефективності, що робить неможливим застосування цих препаратів у пацієнтів з факторами ризику колонізації та/або інфекції, спричиненої бактеріями з наявністю плазмідних генів резистентності.

Отже, встановлення впливу плазмід-індукованих механізмів резистентності на клінічну та бактеріологічну ефективність ХП і ЦД 2 типу дозволило з одного боку визначити особливості клінічного перебігу ХП в динаміці АБТ в залежності від наявності плазмідних генів резистентності, а з іншого – оцінити ефективність рекомендованої емпіричної АБТ при лікуванні ХП у хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності.

Ще одним важливим етапом нашого дослідження було визначення впливу плазмід-індукованих механізмів резистентності на показники неспецифічних запальних реакцій (IgA, IgM, Ig G та інтерлейкіну 6) та пошук можливих взаємозв’язків між ними у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу (глава 3, розділ 3.5). У пацієнтів з виявленими плазмідними механізмами резистентності спостерігаються вищі показники ІЛ-6 (10,65 vs. 8,62), СРБ (25,56 vs. 19,92) та IgM (1,9 vs.1,8) у порівнянні з пацієнтами без генів, проте достовірних відмінностей не виявлено. Однак, був визначений лінійний кореляційний зв’язок на рівні значимості р≤0,05 між показниками системного запалення у хворих з наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності: між рівнем IL-6 та рівнем СРБ (r=0,53; р≤0,05); рівнем IL-6 та IgM (r=0,71; p≤0,05), та рівнем СРБ і IgM (r=0,65; р≤0,05). У пацієнтів, що страждають ХП і ЦД 2 типу, виявлено достовірно вищий рівень маркерів системного запалення: IL-6 (12,2 vs. 6,9; p≤0,05), IgM (2,0 vs. 1,8; p≤0,05) та СРБ (23,8 vs. 20,6), ніж у хворих без супутнього ЦД 2 типу, що може свідчити про значну активацію гуморальної ланки неспецифічного імунітету у цієї категорії хворих. Крім того, був проведений факторний аналіз у хворих з виявленими плазмідними механізмами резистентності, у результаті якого було встановлено три взаємопов’язаних фактори, один з яких імунологічний, що свідчить о наявності взаємозв’язків між показниками системного запалення та їх значенням у хворих на ХП з виявленими генами резистентності.

Однак, відомостей про вплив або можливі взаємозв’язки між плазмід-індукованими механізмами резистентності та показниками системного запалення, зокрема ІЛ-6, дуже мало в світовій літературі. Так, Tratselas A et al. демонструють відсутність достовірних зв’язків між концентрацією ІЛ-6 та наявністю плазмід-індукованих βЛРС у мишей заражених пієлонефритом [120]. Проте, Sundvall PD. et al. визначили достовірне підвищення рівня ІЛ-6 в сечі хворих похилого віку з наявністю клінічно значимої бактеріурії з або відсутністю клінічних симптомів ПН [117]. Отже, цей факт потребує подальшого вивчення.

Таким чином, вивчення імунологічних маркерів системного запалення у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності демонструє наявність певного впливу плазмідних механізмів резистентності на рівень активації імунітету, що також підтверджується наявністю достовірних взаємозв’язків між показниками системного запалення у хворих з виявленими генами резистентності, та вказує на необхідність подальших досліджень в цьому напрямку для підтвердження отриманих даних і розробці ефективних методів зменшення кількості рецидивів ХП у груп підвищеного ризику, можливо із застосуванням хіміо/вакцинопрофілактики.

Завершальним етапом нашої роботи була оптимізація методів диференційованого призначення антибіотико-терапії в залежності від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності, у хворих на хронічний пієлонефрит і супутній цукровий діабет 2 типу. Для вирішення цієї задачі ми проаналізували виявляємість плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП і ЦД 2 типу в залежності від виду емпіричного АБП. Встановлено, що у пацієнтів які отримували фторхінолони, виявлення генів резистентності становило 41,7% (25% генів виявлено до лікування, 17% - після АБТ); у пацієнтів, що отримували цефалоспорини – виявлення становило 43,9% (24% до лікування, 20% - після АБТ); пацієнти, що лікувалися комбінацією фторхінолони/цефалоспорини, виявлення склало 40% (28%/12%). Отже, існує певний вплив самих АБП на колонізацію сечової системи бактеріями з плазмідними генами стійкості. Однак, цей факт потребує подальших досліджень. По типам виявлених генів, в групі що приймали фторхінолони виявлення як плазмід-індукованих βЛРС, так і генів стійкості до фторхінолонів, не відрізнялось і складало 20,8%; в групі, що приймали цефалоспорини – переважали β-лактамази розширеного спектру дії з частотою виявлення 29,3%; в групі, що лікувалися комбінацією фторхінолони/цефалоспорини.

У хворих на ХП і супутнім ЦД 2 типу, виявлення плазмід-індукованих механізмів резистентності було найвищім в групі що приймали фторхінолони (80% vs. 14,3%, p≤0,05). У пацієнтів із ХП без діабету, питома вага генів резистентності була найвища в групі що лікувалися β-лактамами (48%). Отже, у хворих на ХП без діабету доцільніше призначати фторхінолони, тоді як пацієнтів із ХП на тлі ЦД 2 типу – краще лікувати цефалоспоринами для зменшення ризику появи штамів з наявністю генів стійкості. Група аміноглікозидів не рекомендується в якості емпіричної АБТ хронічного пієлонефриту, у зв’язку з високою вірогідністю контамінації сечового тракту бактеріями з плазмідними механізмами резистентності. Згідно офіційних рекомендації Європейської асоціації урологів, емпіричними АБП при лікуванні ХП є парентерально фторхінолон (при наявності резистентності < 10%), 3-я генерація цефалоспоринів (при наявності резистентності < 10%), аміноглікозид/карбапенем у разі резистентності до фторхінолонів та цефалоспоринів > 10% [77]. Curello J. та співавт. в дослідженні Beyond Susceptible and Resistant, Part II демонструють несприятливий клінічний результат у разі лікування ІСС, спричиненої бактеріями з плазмідними механізмами резистентності, цефалоспоринами та піпераціллин/тазобактамом, проте ефективність карбапенемів була високою [30]. Проте, Arne Søraas та співавт., виявили сприятливий клінічний ісход при лікуванні фторхінолонами та цефалоспоринами, та негативний результат – при лікуванні меціллінамом, ІСС, викликаної бактеріями з плазмідними механізмами резистентності [114]. Інше дослідження, проведене Florine N. J. і соавт. демонструє високу ефективність β-лактамів/інгібіторів β-лактамаз та цефалоспоринів в якості емпіричної АБТ хворих з виявленими механізмами резистентності [43].

Отже, враховуючи результати клінічної та бактеріологічної ефективності АБТ, дані чутливості/резистентності in vitro та впливу АБП на колонізацію сечової системи бактеріями з плазмідними генами стійкості, був розроблений алгоритм диференційованого призначення антибіотико-терапії хворим на ХПз і супутнім ЦД 2 типу залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності. Пацієнтам, що страждають ХП без ЦД 2 типу та мають фактори ризику, раціонально призначати 3-тє покоління фторхінолонів, нітрофурантоїн, нітроксолін, альтернативними препаратами є карбапенеми. Пацієнтам, що страждають ХП на тлі ЦД 2 типу та мають фактори ризику, доцільно призначати 3-тю генерацію цефалоспоринів, нітроксолін, фосфоміцин, ко-тримоксазол, альтернативними препаратами є карбапенеми. При відсутності факторів ризику, лікування хворих на ХП без ЦД 2 типу, проводити згідно діючих рекомендацій, препаратами вибору є фторхінолони II та III генерації, альтернативними препаратами є цефалоспорини II, III та IV поколінь, карбапенеми, за умов визначеного збудника – захищені пеніциліни. У разі відсутності клінічної ефективності АБТ на третю добу лікування, подовжити парентеральне введення препарату до 5-ти днів. У разі необхідності – заміна АБП відбувається з урахуванням результатів бактеріологічного дослідження сечі. За відсутності ерадикації збудника, АБТ подовжити до 2-х тижнів з послідуючим повторним посівом сечі.

Розробка методів диференційованого призначення АБТ залежно від наявності плазмід-індукованих механізмів резистентності дозволить підвищити ефективність лікування ХП та запобігти розвитку ускладнень. Крім того, підвищення ефективності лікування та раціональне застосування антибіотиків дозволить зменшити кількість рецидивів захворювання та нових випадків ХХН V ст., обумовлених ХП, зменшити витрати на лікування та строки госпіталізації, і, зрештою, запобігти поширенню індукованої плазмідами антибіотико-резистентності серед бактеріальних штамів.

ВИСНОВКИ

1. У роботі досягнуто вирішення актуальної задачі сучасної терапії щодо оптимізації лікування хворих із хронічним пієлонефритом у поєднанні з супутнім цукровим діабетом 2 типу на підставі вивчення плазмід-індукованих механізмів резистентності.
2. Наявність плазмід-індукованих механізмів резистентності серед хворих на ХП становить 29,5% (31/105). У пацієнтів на ХП і ЦД 2 типу, виявляємість плазмідних генів резистентності дещо вища і становить 31,5% (23/73), у пацієнтів із ХП без діабету – 25% (8/32), проте достовірних відмінностей між групами не виявлено.
3. Основні фактори, що були достовірно пов’язані з наявністю плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП і ЦД 2 типу: ХХН ІІІ (OR 2,03) та ІV стадій (OR 1,1); АГ (OR 2,57); наявність епізодів перенесеного простатиту або циститу в анамнезі, а також вік старше 55 років (OR 3,05), тривалість ХП більше 10 років (OR 1,97), факт стаціонарного лікування упродовж останнього року (OR 2,02), прийом β-лактамів та фторхінолонів з різних причин у поточному році (OR 1,41). Тому, в план обстеження пацієнтів із наявністю факторів ризику доцільно включати дослідження плазмід-індукованих механізмів резистентності для вибору тактики емпіричної АБТ.
4. Резистентність in vitro до амінопеніциллінів, цефалоспоринів та фторхінолонів пов’язана з наявністю в уропатогенних штамах плазмідних βЛРС типу blaCTX-M, blaTEM, blaSHV та генів резистентності до фторхінолонів – QnrА, AAC(6')-Ib-cr, QepA. Резистентність до аміноглікозидів була достовірно пов’язана з виявленням генів blaCTX-M, QnrА та QepA.
5. Наявність плазмід-індукованих механізмів резистентності у хворих на ХП і супутній ЦД 2 типу призводить до зниження як клінічної, так і бактеріологічної ефективності АБТ, що проявляється більш повільним регресом клінічних симптомів у таких хворих в динаміці лікування та відсутністю повної ерадикації збудника (48,4% vs. 27%, р≤0,05) на тлі АБТ, що було передумовою для подовження термінів лікування (10,5 vs. 8,4; р≤0,05) та, в деяких випадках, заміни АБП.
6. У хворих на ХП і ЦД 2 типу з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності спостерігаються вищі показники IЛ-6 (10,65 vs. 8,62), СРБ (25,56 vs. 19,92) та IgM (1,9 vs. 1,8), проте достовірної різниці не виявлено.
7. У хворих з виявленими плазмід-індукованими механізмами резистентності кращу ефективність та найвищу інгібуючу активність продемонстрували: 3-тя генерація цефалоспоринів, 3-тє покоління фторхінолонів, нітроксолін, фосфоміцин, ко-тримоксазол, нітрофурантоїн, карбапенеми.

ПРАКТИЧНІ РЕКОМЕНДАЦІЇ

1. Хворим із поєднанням ХП і ЦД 2 типу рекомендовано включати визначення плазмід-індукованих механізмів резистентності до АБП з метою підвищення ефективності емпіричної АБТ. Дослідження плазмід-індукованих механізмів резистентності проводити методом полімеразної ланцюжкової реакції з використанням праймерів для генів βЛРС (blaТЕМ, blaSHV і blaСТХ-М) та генів стійкості до фторхінолонів (QnrА, AAC(6')-Ib-cr, QepA).
2. Дослідження плазмід-індукованих механізмів резистентності рекомендовано проводити пацієнтам з наявністю: ХХН ІІІ та ІV стадій та/або обструкцією сечовивідних шляхів; артеріальною гіпертензією; наявністю епізодів перенесеного простатиту або циститу в анамнезі, а також наявністю факторів ризику (вік старше 55 років, тривалість ХП більше 10 років, факт стаціонарного лікування упродовж останнього року, прийом β-лактамів та фторхінолонів з різних причин у поточному році), у зв’язку з високою вірогідністю виявлення генів резистентності саме у цієї категорії хворих.
3. У хворих з наявністю бактеріальної резистентності in vitro до амінопеніциллінів, цефалоспоринів та фторхінолонів рекомендовано визначати експресію плазмід-індукованих βЛРС та генів резистентності до фторхінолонів – QnrА, AAC(6')-Ib-cr, QepA. При наявності резистентності до аміноглікозидів – генів blaCTX-M, QnrА та QepA. При наявності резистентності до цефалоспоринів – експресію βЛРС та генів QnrА та AAC(6')-Ib-cr.
4. Пацієнтам, що страждають ХП на тлі ЦД 2 типу та мають фактори ризику, пов’язані з виявленням плазмід-індукованих механізмів резистентності, в якості емпіричної АБТ рекомендовано призначати фторхінолони 2 або 3 покоління, 3-тю генерацію цефалоспоринів, альтернативними препаратами є карбапенеми, аміноглікозиди.
5. Пацієнтам, що страждають ХП без ЦД 2 типу та мають фактори ризику, пов’язані з виявленням плазмід-індукованих механізмів резистентності, в якості емпіричної АБТ рекомендовано призначати комбінацію цефалоспорини/фторхінолони, альтернативними препаратами є карбапенеми, аміноглікозиди.

**СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ**

1. Бусигіна Ю.С. Особливості імунітету хворих на цукровий діабет та хронічний пієлонефрит / Ю.С. Бусигіна, В.Є. Дрянська, Н.М. Степанова, Ф.З. Гайсенюк, Л.О. Лебідь та ін. // Український журнал нефрології та діалізу. – 2013. - №2(38).- с. 17-28.
2. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів : Наказ. – [Чинний від 2007-04-05]. – К. : МОЗ України, 2007. – 78 с. – (Нормативний документ МОЗ України. Вказівки, Наказ).
3. Колесник М.О. Адаптована клінічна настанова з кращої практики діагностики, лікування та профілактики інфекцій сечової системи у жінок / М.О. Колесник, Н.М.Степанова, Л.О. Лебідь [та ін.] // Український журнал нефрології та діалізу. – 2012.- №2(34). – С. 53-77.
4. Колесник М.О. Етіологічний спектр інфекцій сечової системи / М.О. Колесник, Н.М. Степанова // Український журнал нефрології та діалізу.– 2007.– №3(15).– С. 16-29.
5. Колесник М.О. Класифікація хвороб сечової системи для нефрологічної практики / М.О.Колесник, І. Дудар, Н. Степанова [та ін.] // Український журнал нефрології та діалізу. – 2013.- №4(40). – С. 3-7.
6. Колесник М.О. Уніфікований клінічний протокол медичної допомоги: діагностика, лікування та профілактика хронічного неускладненого та ускладненого пієлонефриту з рецидивуючим перебігом / М.О. Колесник, Н.М. Степанова, О.В. Худошина та ін. // Український журнал нефрології та діалізу.- 2012.-№4(36).- С. 63-69.
7. Колесник Н.А. Почки и диабет: от понимания проблемы к своевременной и адекватной терапии / Н.А.Колесник // Здоров’я України.– 2009.– №13-14.– С. 13-15.
8. М. О. Колеcник. Медико-профілактична допомога хворим нефрологічного профілю 2009-2012, що робити далі? / М. О. Колеcник, Н. О. Сайдакова, Н. І. Козлюк, С. С. Ніколаєнко // Український журнал нефрології та діалізу. – 2013. -№3(39). – С. 3-14.
9. Переверзев А.С. Особенности инфекций мочевых путей у пациентов с сахарным диабетом / А.С. Переверзев // Здоров'я України.- 2008.- №8.- С. 10-11.
10. A. Gallini. Influence of fluoroquinolone consumption in inpatients and outpatients on ciprofloxacin-resistant Escherichia coli in a university hospital / A. Gallini, E. Degris, M. Desplas // [Journal of Antimicrobial Chemotherapy](http://jac.oxfordjournals.org/).- 2010.- №65(12).- P. 2650-2657.
11. Ahmed NH. Comparison of etiological agents and resistance patterns of the pathogens causing community acquired and hospital acquired urinary tract infections / Ahmed NH, Hussain T, Biswal I // J Glob Infect Dis. 2014 Jul;6(3):135-6.
12. Akingbade O. Resistant plasmid profile analysis of multidrug resistant Escherichia coli isolated from urinary tract infections in Abeokuta, Nigeria / Akingbade O, Balogun S, Ojo D, Akinduti P, Okerentugba PO, Nwanze JC, Okonko IO// Afr Health Sci. 2014 Dec;14(4):821-8.
13. Alibi S. Molecular characterization of extended spectrum beta-lactamases produced by Klebsiella pneumoniae clinical strains from a Tunisian Hospital / Alibi S, Ferjani A, Boukadida J // Med Mal Infect. 2015 Apr;45(4):139-43.
14. Alvaro Hernández. Quinolone resistance: much more than predicted / Alvaro Hernández, María B. Sánchez, José L. Martínez // Frontiers in Microbiology. – 2011. - №22. – Р. 1–6.
15. ARNFINN SUNDSFJORD. Genetic methods for detection of antimicrobial resistance / ARNFINN SUNDSFJORD // DAHLAPMIS. – 2004. - №12. – Р. 815–837.
16. Aswani Srinivas M. Clinical profile of urinary tract infections in diabetics and non-diabeticsof urinary tract infections in diabetics and non-diabetic / Aswani Srinivas M, Chandrashekar UK, Shivashankara KN, Pruthvi BC // Australasian Medical Journal [AMJ 2014, 7, 1, 29-34.
17. Aswani Srinivas M. Clinical profile of urinary tract infections in diabetics and non-diabeticsof urinary tract infections in diabetics and non-diabetic / Aswani Srinivas M, Chandrashekar UK, Shivashankara KN, Pruthvi BC // Australasian Medical Journal [AMJ 2014, 7, 1, 29-34.
18. Azap OK. Risk factors for extended-spectrum beta-lactamase positivity in uropathogenic Escherichia coliisolated from community-acquired urinary tract infections / Azap OK, Arslan H, Serefhanoğlu K, Colakoğlu S, Erdoğan H, Timurkaynak F, Senger SS // Clin Microbiol Infect. 2010 Feb;16(2):147-51.
19. Baig MH. Homology modeling and virtual screening of inhibitors against TEM and SHV types resistant mutants: A multi-layer filtering approach / Baig MH, Balaramnavar VM, Wadhwa G, Choi I, Khan AU // Biotechnol Appl Biochem. 2015 Mar 16.
20. Baig MH. Homology modeling and virtual screening of inhibitors against TEM and SHV types resistant mutants: A multi-layer filtering approach / Baig MH, Balaramnavar VM, Wadhwa G, Choi I, Khan AU // Biotechnol Appl Biochem. 2015 Mar 16.
21. Baquirin M. H. C. Evolution and recombination of the plasmidic qnr alleles / M. H. C. Baquirin, M. Barlow // Journal of Molecular Evolution.- 2008.- №1.- Р. 103–110.
22. Bateman A. Structure and distribution of pentapeptide repeats in bacteria / A. Bateman, AG. Murzin, SA. Teichmann // Protein Sci.- 1998.- №7.- Р. 1477–1480.
23. Boucher HW. Bad bugs, no drugs: no ESKAPE! An update from the Infectious Diseases Society of America / Boucher HW, Talbot GH, Bradley JS // Clin Infect Dis.- 2009.- №48- Р.1–12.
24. Briales A. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnr and aac(6')-Ib-cr in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae producing extended-spectrum β-lactamases in Spain / Briales A, Rodríguez-Martínez JM, Velasco C, de Alba PD, Rodríguez-Baño J, Martínez-Martínez L, Pascual A // Int J Antimicrob Agents 2012 May;39(5):431-4.
25. Briales A. Prevalence of plasmid-mediated quinolone resistance determinants qnr and aac(6')-Ib-cr in Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae producing extended-spectrum β-lactamases in Spain / Briales A, Rodríguez-Martínez JM, Velasco C, de Alba PD, Rodríguez-Baño J, Martínez-Martínez L, Pascual A // Int J Antimicrob Agents 2012 May;39(5):431-4.
26. Brolund A. Overview of ESBL-producing Enterobacteriaceae from a Nordic perspective / Brolund A // Infect Ecol Epidemiol. 2014 Oct 1;4.
27. Carattoli A. Plasmids in Gram negatives: molecular typing of resistance plasmids / A. Carattoli // Int J Med Microbiol.- 2011.- № 301(8).- Р. 654-658.
28. Carattoli A. Plasmids in Gram negatives: molecular typing of resistance plasmids / A. Carattoli // Int J Med Microbiol.- 2011.- № 301(8).- Р. 654-658.
29. Castanheira M, Farrell SE, Deshpande LM, Mendes RE, Jones RN. Prevalence of beta-lactamase-encoding genes among Enterobacteriaceae bacteremia isolates collected in 26 U.S. hospitals: report from the SENTRY Antimicrobial Surveillance Program (2010). Antimicrob Agents Chemother 2013; 57.
30. Curello J. Beyond Susceptible and Resistant, Part II: Treatment of Infections Due to Gram-NegativeOrganisms Producing Extended-Spectrum β-Lactamases / Curello J, MacDougall C // J Pediatr Pharmacol Ther. 2014 Jul;19(3):156-64.
31. Dalhoff A. Resistance surveillance studies: a multifaceted problem--the fluoroquinolone example / A. Dalhoff // Infection.- 2012.- №40(3).- Р. 239-262.
32. Dalhoff A. Resistance surveillance studies: a multifaceted problem--the fluoroquinolone example / A. Dalhoff // Infection. – 2012. - №40(3). – Р. 239-262.
33. Dalhoff А. Global Fluoroquinolone Resistance Epidemiology and Implictions for Clinical Use / А. Dalhoff // Interdisciplinary Perspectives on Infectious Diseases. - 2012. - № ID 976273. - Р. 1-37.
34. Denys GA. Antimicrobial susceptibility among gram-negative isolates collected in the USA between 2005 and 2011 as part of the Tigecycline Evaluation and Surveillance Trial (T.E.S.T.) / Denys GA, Callister SM, Dowzicky MJ // Ann Clin Microbiol Antimicrob.- 2013.- № 5.- Р. 12-24.
35. Eftekhar F. Detection of Extended Spectrum B-Lactamases in Urinary Isolates of Klebsiella pneumoniae in Relation to *BlaSHV*, *BlaTEM* and *BlaCTX-M* Gene Carriage / Eftekhar F, Rastegar M, Golalipoor M, Mansoursamaei N // Iran J Public Health. 2012;41(3):127-32. Epub 2012 Mar 31.
36. Eftekhar F. Detection of Extended Spectrum B-Lactamases in Urinary Isolates of Klebsiella pneumoniae in Relation to *BlaSHV*, *BlaTEM* and *BlaCTX-M* Gene Carriage / Eftekhar F, Rastegar M, Golalipoor M, Mansoursamaei N // Iran J Public Health. 2012;41(3):127-32. Epub 2012 Mar 31.
37. Endimiani A. Bacteremia due to Klebsiella pneumoniae isolates producing the TEM-52 extended-spectrum β-lactamase: treatment outcome of patients receiving imipenem or ciprofloxacin / Endimiani A, Luzzaro F, Perilli M [et al.] // Clin Infect Dis.- 2004.- №38.- Р. 243-251.
38. European Centre for Disease Prevention and Control. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2012. Annual Report of the European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (EARS-Net). Stockholm: ECDC; 2013.
39. Ferjani S. Prevalence and Characterization of Plasmid-Mediated Quinolone Resistance Genes in Extended-Spectrum β-Lactamase-Producing Enterobacteriaceae in a Tunisian Hospital / Ferjani S, Saidani M, Amine FS, Boutiba Ben Boubaker // Microb Drug Resist. 2014 Sep 23.
40. Foxman B. Urinary tract infection syndromes: occurrence, recurrence, bacteriology, risk factors, and disease burden / Infect Dis Clin North Am. 2014 Mar;28(1):1-13.
41. FrakkingFN.Appropriateness of empirical treatment and outcome in bacteremia caused by extended-spectrum-β-lactamase-producing bacteria / Frakking FN, Rottier WC, Dorigo-Zetsma JW, van Hattem JM, van Hees BC, Kluytmans JA et al.// Antimicrob Agents Chemother. 2013 Jul;57(7):3092-9.
42. FrakkingFN.Appropriateness of empirical treatment and outcome in bacteremia caused by extended-spectrum-β-lactamase-producing bacteria / Frakking FN, Rottier WC, Dorigo-Zetsma JW, van Hattem JM, van Hees BC, Kluytmans JA et al.// Antimicrob Agents Chemother. 2013 Jul;57(7):3092-9.
43. FrakkingFN.Appropriateness of empirical treatment and outcome in bacteremia caused by extended-spectrum-β-lactamase-producing bacteria / Frakking FN, Rottier WC, Dorigo-Zetsma JW, van Hattem JM, van Hees BC, Kluytmans JA et al.// Antimicrob Agents Chemother. 2013 Jul;57(7):3092-9.
44. Frasson I. Prevalence of aac(6\_)-Ib-cr plasmid-mediated and chromosome-encoded fluoroquinolone resistance in Enterobacteriaceae in Italy / I. Frasson, A. Cavallaro, C. Bergo, S. N. [et al] // Gut Pathogens.- 2011.- №1.- Р. 1-12.
45. Freeman JT. Differences in risk-factor profiles between patients with ESBL-producing Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae: a multicentre case-case comparison study / Freeman JT, Rubin J, McAuliffe GN, Peirano G, Roberts SA, Drinković D, Pitout JD // Antimicrob Resist Infect Control. 2014 Sep 1;3:27.
46. Gardiner BJ. Is fosfomycin a potential treatment alternative for multidrug-resistant gram-negative prostatitis? / Gardiner BJ, Mahony AA, Ellis AG[et al.] // Clin Infect Dis.- 2014.- № 58(4).- Р. 101-105.
47. Goodarz Danaei. National, regional, and global trends in fasting plasma glucose and diabetes prevalence since 1980: systematic analysis of health examination surveys and epidemiological studies with 370 country-years and 2·7 million participants / Goodarz Danaei, Mariel M Finucane, Yuan Lu, Gitanjali M Singh, Melanie J Cowan et al. // The Lancet Volume 378, No. 9785, p31–40, 2 July 2011.
48. Gootz TD. The global problem of antibiotic resistance / Gootz TD // Crit Rev Immunol. – 2010.- №30(1). – Р.79-93.
49. Gootz TD. The global problem of antibiotic resistance / Gootz TD // Crit Rev Immunol. – 2010.- №30(1). – Р.79-93.
50. Görgeç S. Investigation of beta-lactamase genes and clonal relationship among the extended-spectrumbeta-lactamase producing nosocomial Escherichia coli isolates / Görgeç S, Kuzucu Ç, Otlu B, Yetkin F, Ersoy Y // Mikrobiyol Bul. 2015 Jan;49(1):15-25.
51. Hammami S. Characterization of extended spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli in community-acquired urinary tract infections in Tunisia / Hammami S, Saidani M, Ferjeni S, Aissa I, Slim A, Boutiba-Ben Boubaker I // Microb Drug Resist. 2013 Jun;19(3):231-6.
52. Hansen L. H. Substrate specificity of the OqxAB multidrug resistance pump in Escherichia coli and selected enteric bacteria / L. H. Hansen, L. B. Jensen, H. I. Sorensen [et al] // J. Antimicrob.Chemother. – 2007. - № 60. – Р. 145–147.
53. Huh K. Continuous increase of the antimicrobial resistance among gram-negative pathogens causing bacteremia: a nationwide surveillance study by the Korean Network for Study on Infectious Diseases (KONSID) / Huh K, Kim J, Cho SY [et al.] // Diagn Microbiol Infect Dis.- 2013.- № 76(4).- Р. 477-482.
54. Huijbers PM, Graat EA, Haenen AP, et al /  Extended-spectrum and AmpC β-lactamase-producing Escherichia coli in broilers and people living and/or working on broiler farms: prevalence, risk factors and molecular characteristics / J Antimicrob Chemother. -  2014. - Oct;№69(10):2669-75.
55. Huijbers PM, Graat EA, Haenen AP, et al /  Extended-spectrum and AmpC β-lactamase-producing Escherichia coli in broilers and people living and/or working on broiler farms: prevalence, risk factors and molecular characteristics / J Antimicrob Chemother. -  2014. - Oct;№69(10):2669-75. doi: 10.1093/jac/dku178. Epub 2014 May 30.
56. Ian Morrissey et al. A Review of Ten Years of the Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends (SMART) from 2002 to 2011. Pharmaceuticals 2013, 6, 1335-1346.
57. Imig JD. Immune and inflammatory role in renal disease / Imig JD, Ryan MJ // Compr Physiol. 2013 Apr;3(2):957-76.
58. Jacoby G. “qnr gene nomenclature” / G. Jacoby, V. Cattoir, D. Hooper [et al] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy.- 2008.- №7.- Р. 2297–2299.
59. Jamborova I. Plasmid-mediated resistance to cephalosporins and fluoroquinolones in various Escherichia coli sequence types in Europe / Jamborova I, Dolejska M, Vojtech J, Guenther S, Uricariu R, Drozdowska J // Appl Environ Microbiol. 2015 Jan;81(2):648-57.
60. Jansaker F. Clinical and bacteriological effects of pivmecillinam for ESBL-producing Escherichia coli or Klebsiella pneumoniae in urinary tract infections / Jansaker F, Frimodt-Møller N, Sjögren I, Dahl Knudsen J // J Antimicrob Chemother. 2014 Mar;69(3):769-72.
61. Jlili Nel-H. Trend of plasmid-mediated quinolone resistance genes at the Children's Hospital in Tunisia / Jlili Nel-H, Réjiba S, Smaoui H, Guillard T, Chau F, Kechrid A, Cambau E // J Med Microbiol. 2014 Feb;63(Pt 2):195-202.
62. Jlili Nel-H. Trend of plasmid-mediated quinolone resistance genes at the Children's Hospital in Tunisia / Jlili Nel-H, Réjiba S, Smaoui H, Guillard T, Chau F, Kechrid A, Cambau E // J Med Microbiol. 2014 Feb;63(Pt 2):195-202.
63. Johnson L. Emergence of fluoroquinolone-resistance in outpatient urinary Escherichia coliisolates / L. Johnson, A. Sabel, W. J. Burman [et al] // American Journal of Medicine. - 2010. - №10. - Р. 876–884.
64. Kahlmeter G. Antimicrobial susceptibility of Escherichia coli from community-acquired urinary tract infections in Europe: the ECO·SENS study revisited / Kahlmeter G, Poulsen HO // Int J Antimicrob Agents.- 2012 Jan;39(1):45-51.
65. Kang C.I. Epidemiology and Risk Factors of Community Onset Infections Caused by Extended-Spectrum β-Lactamase Producing Escherichia coliStrains / C.I. Kang, Y.M. Wi, M.Y. Lee, K.S. Ko, D.R. Chung // J Clin Microbiol.- 2012.- №50(2).- Р. 312-317.
66. Kanj SS. Current concepts in antimicrobial therapy against resistant gram-negative organisms: extended-spectrum beta-lactamase-producing Enterobacteriaceae, carbapenem-resistant Enterobacteriaceae, and multidrug-resistant Pseudomonas aeruginosa / Kanj SS, Kanafani ZA // Mayo Clin Proc.- 2011.- № 86(3).- Р. 250-259.
67. Khatri B. Etiology and antimicrobial susceptibility pattern of bacterial pathogens from urinary tract infection / Khatri B, Basnyat S, Karki A, Poudel A, Shrestha B // Nepal Med Coll J. 2012 Jun;14(2):129-32.
68. Kresken M. Occurrence of multidrug resistance to oral antibiotics among Escherichia coli urine isolates from outpatient departments in Germany: extended-spectrum β-lactamases and the role of fosfomycin / Kresken M, Pfeifer Y, Hafner D, Wresch R, Körber-Irrgang B // Int J Antimicrobial Agents. 2014 Oct;44(4):295-300.
69. Kresken M. Occurrence of multidrug resistance to oral antibiotics among Escherichia coli urine isolates from outpatient departments in Germany: extended-spectrum β-lactamases and the role of fosfomycin / Kresken M, Pfeifer Y, Hafner D, Wresch R, Körber-Irrgang B // Int J Antimicrobial Agents. 2014 Oct;44(4):295-300.
70. L. Martinez-Martinez. Quinolone resistance from a transferable plasmid / L. Martinez-Martinez, A. Pascual, G. A. Jacoby // The Lancet.- 1998.- №351(9105).- Р. 797–799.
71. Lee J. The impact of the increased use of piperacillin/tazobactam on the selection of antibiotic resistance among invasive Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae isolates / Lee J, Oh CE, Choi EH // Int J Infect Dis.- 2013.- № 17(8).- Р. 638-643.
72. Lim CL. Evaluation of Ertapenem use with impact assessment on extended-spectrum beta-lactamases (ESBL) production and gram-negative resistance in Singapore General Hospital (SGH) / Lim CL, Lee W, Lee AL [et al.] // BMC Infect Dis.- 2013.- № 6.- Р. 513-523.
73. Longhi C. Plasmid-mediated fluoroquinolone resistance determinants in Escherichia coli from community uncomplicated urinary tract infection in an area of high prevalence of quinolone resistance / Longhi C, Conte MP, Marazzato M, Iebba V, Totino V, Santangelo F, Gallinelli C, Pallecchi L, Riccobono E, Schippa S, Comanducci A // Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012 Aug;31(8):1917-21.
74. Longhi C. Plasmid-mediated fluoroquinolone resistance determinants in Escherichia coli from community in uncomplicated urinary tract infection in an area of high prevalence of quinolone resistance / Longhi C, Conte MP, Marazzato M, Iebba V, Totino V, Santangelo F // Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012 Aug;31(8):1917-21.
75. Longhi C. Plasmid-mediated fluoroquinolone resistance determinants in Escherichia coli from community in uncomplicated urinary tract infection in an area of high prevalence of quinolone resistance / Longhi C, Conte MP, Marazzato M, Iebba V, Totino V, Santangelo F // Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012 Aug;31(8):1917-21.
76. López-Cerero L. Comparative assessment of inoculum effects on the antimicrobial activity of amoxycillin-clavulanate and piperacillin-tazobactam with extended-spectrum beta-lactamase-producing and extended-spectrum beta-lactamase-non-producing Escherichia coli isolates / López-Cerero L, Picón E, Morillo C [et al.] // Clin Microbiol Infect.- 2010.- № 16(2).- Р. 132-136.
77. M. Grabe. Guidelines on Urological Infections // European Association of Urology 2015.
78. Macvane SH. Prolonging β-lactam infusion: A review of the rationale and evidence, and guidance for implementation / Macvane SH, Kuti JL, Nicolau DP // Int J Antimicrob Agents.- 2014.- № 43(2).- Р. 105-113.
79. Miranda E.Susceptibility to antibiotics in urinary tract infections in a secondary care setting from 2005-2006 and 2010-2011, in São Paulo, Brazil: data from 11,943 urine cultures / Miranda EJ, Oliveira GS, Roque FL, Santos SR, Olmos RD, Lotufo PA // Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2014 Jul-Aug;56(4):313-24.
80. Miranda E.Susceptibility to antibiotics in urinary tract infections in a secondary care setting from 2005-2006 and 2010-2011, in São Paulo, Brazil: data from 11,943 urine cultures / Miranda EJ, Oliveira GS, Roque FL, Santos SR, Olmos RD, Lotufo PA // Rev Inst Med Trop Sao Paulo. 2014 Jul-Aug;56(4):313-24.
81. Mohamed Bouchakour. Plasmid-mediated quinolone resistance in expanded spectrum beta lactamase producing enterobacteriaceae in Morocco / Mohamed Bouchakour, Khalid Zerouali // J Infect Dev Ctries. - 2010. - №4(12). - Р. 799-803.
82. MolecularCloning: A Laboratory Manual, (1989) Second Edition, Sambrook, J., Fritsch, E.F. and Maniatis, T., eds., ColdSpringHarborLaboratoryPress, ColdSpringHarbor, NY.
83. NarcisoA.Persistence of uropathogenic Escherichia coli strains inthe host for long periods of time:relationship between phylogenetic groups and virulence factors / Narciso A, Nunes F, Amores T, Lito L et al. // Eur J Clin Microbiol Infect Dis. 2012 Jun;31(6):1211-7.
84. Nikolaidis I. Resistance to antibiotics targeted to the bacterial cell wall / Nikolaidis I, Favini-Stabile S, Dessen A // Protein Sci. 2014 Mar;23(3):243-59.
85. Nordmann P. Emergence of plasmid-mediated resistance to quinolones in Enterobacteriaceae / P.Nordmann, L. Poirel // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. - 2005. - №3. - Р. 463–469.
86. Ole Heuer. Annual Epidemiological Report 2012. Annual epidemiological report Reporting on 2010 surveillance data and 2011 epidemic intelligence data Ole Heuer, Liselotte Diaz Högberg, Jolanta Griskeviciene, Carl Suetens, Klaus Weist, Dominique Monnet / European Centre for Disease Prevention and Control. P. 266.
87. Pasom W. Plasmid-mediated quinolone resistance genes, aac(6')-Ib-cr, qnrS, qnrB, and qnrA, in urinary isolates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae at a teaching hospital, Thailand / Pasom W, Chanawong A, Lulitanond A, Wilailuckana C, Kenprom S, Puang-Ngern P // Jpn J Infect Dis. 2013;66(5):428-32.
88. Pasom W. Plasmid-mediated quinolone resistance genes, aac(6')-Ib-cr, qnrS, qnrB, and qnrA, in urinary isolates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae at a teaching hospital, Thailand / Pasom W, Chanawong A, Lulitanond A, Wilailuckana C, Kenprom S, Puang-Ngern P // Jpn J Infect Dis. 2013;66(5):428-32.
89. Pasom W. Plasmid-mediated quinolone resistance genes, aac(6')-Ib-cr, qnrS, qnrB, and qnrA, in urinary isolates of Escherichia coli and Klebsiella pneumoniae at a teaching hospital, Thailand / Pasom W, Chanawong A, Lulitanond A, Wilailuckana C, Kenprom S, Puang-Ngern P // Jpn J Infect Dis. 2013;66(5):428-32.
90. Penesyan A. Antibiotic Discovery: Combatting Bacterial Resistance in Cells and in Biofilm Communities / Penesyan A, Gillings M, Paulsen IT // Molecules. 2015 Mar 24;20(4):5286-5298.
91. Peterson LR. Antibiotic policy and prescribing strategies for therapy of extended-spectrum β-lactamase-producing Enterobacteriaceae: the role of piperacillin-tazobactam / Peterson LR // Clin Microbiol Infect.- 2008.- № 14(suppl 1).- Р. 181-184.
92. Poirel L. Association of plasmid-mediated quinolone resistance with extended-spectrum β-lactamase VEB-1 / L. Poirel, M. Van De Loo, H. Mammeri [et al] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. - 2005. - №7. - Р. 3091–3094.
93. Poirel L. Origin of plasmid-mediated quinolone resistance determinant QnrA / L. Poirel,J. M. Rodriguez-Martinez, H. Mammeri [et al] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy. - 2005. - №8. - Р. 3523–3525.
94. Poirel L. Plasmid-mediated quinolone-resistance; interactions between human, animal and environmental ecologies / L. Poirel, V. Cattoir, P. Nordmann // Frontiers in Microbiology.- 2012.- №3(24).- Р. 1–7.
95. Pontikis K. Outcomes of critically ill intensive care unit patients treated with fosfomycin for infections due to pandrug-resistant and extensively drug-resistant carbapenemase-producing Gram-negative bacteria / Pontikis K, Karaiskos I, Bastani S [et al.] // Int J Antimicrob Agents.- 2014.- № 43(1).- Р. 52-59.
96. Rattanaumpawan P. A clinical prediction rule for fluoroquinolone resistance in healthcare-acquired gram-negative urinary tract infection / P. Rattanaumpawan, P.C. Tolomeo, W.B. Bilker // Infect Control Hosp Epidemiol.- 2011.- №32.- Р.1124–1126.
97. Rawat D, Nair D.// Extended-spectrum β-lactamases in Gram Negative Bacteria // J.Glob Infect Dis. 2010 Sep;2(3):263-74.
98. Robicsek A. Fluoroquinolone-modifying enzyme: a new adaptation of a common aminoglycoside acetyltransferase / A. Robicsek, J. Strahilevitz, GA Jacoby [et al] // Nat Med.- 2006.- №12.- Р. 83-88.
99. Robicsek A. The worldwide emergence of plasmid-mediated quinolone resistance / A. Robicsek, G. A. Jacoby, D. C. Hooper // The Lancet Infectious Diseases.- 2006.- №10.- Р. 629–640.
100. Rodr´ıguez-Mart´ınez J. Plasmid-mediated quinolone resistance: an update / J. M. Rodr´ıguez-Mart´ınez, M. E. Cano, C. Velasco, L. Martinez-Martinez, A. Pascual // Journal of Infection and Chemotherapy.- 2011.- №17(2).- Р. 149–182.
101. Rodriguez-Bano J. Community infections caused by extended-spectrum β-lactamase-producing Escherichia coli / Rodriguez-Bano J, Alcala JC, Cisneros JM [et al.] // Arch Intern Med.- 2008.- №168.- Р. 1897-1902.
102. Ruiz E. Changes in ciprofloxacin resistance levels in Enterobacter aerogenes isolates associated with variable expression of the aac(6\_)-Ibcr gene / E. Ruiz, A. A. Ocampo-Sosa, J. Alcoba-Fl ´ orez [et al] // Antimicrobial Agents and Chemotherapy.- 2012.- №2.- Р. 1097–1100.
103. Sanchez GV. In vitro antimicrobial resistance of urinary E. coli among U.S. outpatients from 2000 to 2010 / G.V. Sanchez, R.N. Master, J.A. Karlowsky // Antimicrob Agents Chemother. - 2012. - №56. – Р. 2181–2183.
104. Schito G. C. The ARESC study: an international survey on the antimicrobial resistance of pathogens involved in uncomplicated urinary tract infections / G. C. Schito, K. G. Naber, H. Botto [et al.] // International Journal of Antimicrobial Agents.- 2009.- №5.- Р. 407–413.
105. Schultsz C. Plasmid-mediated resistance in Enterobacteriaceae: changing landscape and implications for therapy / C. Schultsz, S. Geerlings // Drugs. – 2012.- №72(1). – Р. 1-16.
106. Shakya R. Spectrum of bacterial pathogens and their antibiogram from cases of urinary tract infection among renal disorder patients / Shakya R, Amatya R, Karki BM, Mandal PK, Shrestha KK // Nepal Med Coll J. 2014 Sep;16(1):75-9.
107. Sharma M. Prevalence and antibiogram of Extended Spectrum β-Lactamase (ESBL) producing Gram negative bacilli and further molecular characterization of ESBL producing Escherichia coli and Klebsiella spp. / Sharma M, Pathak S, Srivastava P // J Clin Diagn Res. 2014 Oct;7(10):2173-7.
108. Sharma M. Prevalence and antibiogram of Extended Spectrum β-Lactamase (ESBL) producing Gram negative bacilli and further molecular characterization of ESBL producing Escherichia coli and Klebsiella spp. / Sharma M, Pathak S, Srivastava P // J Clin Diagn Res. 2014 Oct;7(10):2173-7.
109. Shengsheng Yu. Disease burden of urinary tract infections among type 2 diabetes mellitus patients in the U.S. / Shengsheng Yu, Alex Z. Fu, Ying Qiu, Samuel S. Engel [et al.] // Journal of Diabetes and Its Complications 28 (2014) 621–626.
110. Shengsheng Yu. Disease burden of urinary tract infections among type 2 diabetes mellitus patients in the U.S. / Shengsheng Yu, Alex Z. Fu, Ying Qiu, Samuel S. Engel [et al.] // Journal of Diabetes and Its Complications 28 (2014) 621–626.
111. Smithson A. Prevalence and risk factors for quinolone resistance among Escherichia coli strains isolated from males with community febrile urinary tract infection / Smithson A, Chico C, Ramos J, Netto C, Sanchez M, Ruiz J //  Eur J Clin Microbiol Infect Dis – 2012. – Apr;№31(4). – Р.423-430.
112. Smithson A. Prevalence and risk factors for quinolone resistance among Escherichia coli strains isolated from males with community febrile urinary tract infection / Smithson A, Chico C, Ramos J, Netto C, Sanchez M, Ruiz J //  Eur J Clin Microbiol Infect Dis – 2012. – Apr;№31(4). – Р.423-430.
113. Smithson A. Prevalence and risk factors for quinolone resistance among Escherichia coli strains isolated from males with community febrile urinary tract infection / Smithson A, Chico C, Ramos J, Netto C, Sanchez M, Ruiz J //  Eur J Clin Microbiol Infect Dis – 2012. – Apr;№31(4). – Р.423-430.
114. Søraas A. High rate of per oral mecillinam treatment failure in community-acquired urinary tract infections caused by ESBL-producing Escherichia coli / Søraas A, Sundsfjord A, Jørgensen SB, Liestøl K, Jenum PA // PLoS One. 2014 Jan 15;9(1).
115. Strahilevitz J. Plasmid-mediated quinolone resistance: a multifaceted threat / J. Strahilevitz, G.A. Jacoby, D.C.Hooper, A. Robicsek // Clinical Microbiology Reviews.- 2009.- №22(4).- Р. 664–689.
116. Sundvall PD. Interleukin-6 concentrations in the urine and dipstick analyses were related to bacteriuria but not symptoms in the elderly: a cross sectional study of 421 nursing home residents // Sundvall PD, Elm M, Ulleryd P, Mölstad S, Rodhe N, Jonsson L, Andersson B, [Hahn-Zoric M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hahn-Zoric%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=25117748), [Gunnarsson R](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Gunnarsson%20R%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=25117748) // BMC Geriatr. 2014 Aug 12;14:88.
117. Sundvall PD. Interleukin-6 concentrations in the urine and dipstick analyses were related to bacteriuria but not symptoms in the elderly: a cross sectional study of 421 nursing home residents // Sundvall PD, Elm M, Ulleryd P, Mölstad S, Rodhe N, Jonsson L, Andersson B, [Hahn-Zoric M](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Hahn-Zoric%20M%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=25117748), [Gunnarsson R](http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pubmed/?term=Gunnarsson%20R%5BAuthor%5D&cauthor=true&cauthor_uid=25117748) // BMC Geriatr. 2014 Aug 12;14:88.
118. T. M. Coque. Increasing prevalence of ESBL – producing Enterobacteriaceae in Europe / T. M. Coque, F Baquero, R Canton // *EUROSURVEILLANCE*. – 2008.- №13(47). – Р. 1-11.
119. Tan TY. CTX-M and AmpC Beta-lactamases Contributing to Increased Prevalence of Ceftriaxone-resistant Escherichia coli in Changi General Hospital, Singapore / Tan TY, Ng LS, He J [et al.] // Diagn Microbiol Infect Dis.- 2010.- №13(2).- Р. 210–213.
120. Tratselas A. Effect of ceftriaxone on the outcome of murine pyelonephritis caused by extended-spectrum-β-lactamase-producing Escherichia coli / Tratselas A, Simitsopoulou M, Giannakopoulou A, Dori I, Saoulidis S // Antimicrob Agents Chemother 2014 Dec;58(12):7102-11.
121. Tzouvelekis L.S. Carbapenemases in Klebsiella pneumoniae and Other Enterobacteriaceae: an Evolving Crisis of Global Dimensions / Tzouvelekis L.S., Markogiannakis A., Psichogiou M. // Clin Microbiol Rev.- 2012.- №25(4).- Р. 682–707.
122. Valenza G, Nickel S, Pfeifer Y, et al / Extended-spectrum-β-lactamase-producing Escherichia coli as intestinal colonizers in the German community / Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(2):1228-30.
123. Valenza G, Nickel S, Pfeifer Y, et al / Extended-spectrum-β-lactamase-producing Escherichia coli as intestinal colonizers in the German community / Antimicrob Agents Chemother. 2014;58(2):1228-30. doi: 10.1128/AAC.01993-13. Epub 2013 Dec 2.
124. Veldman K. International collaborative study on the occurrence of plasmid-mediated quinolone resistance in Salmonella enterica and Escherichia coli isolated from animals, humans, food and the environment in 13 European countries / Veldman K, Cavaco LM, Mevius D [et al.] // J Antimicrob Chemother.- 2011.- № 66(6).- Р. 1278-1286.
125. Vellinga A. A multilevel analysis of trimethoprim and ciprofloxacin prescribing and resistance of uropathogenic Escherichia coli in general practice / A. Vellinga, A. W. Murphy, B. Hanahoe [et al] // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. - 2010. - №7. - Р. 1514–1520.
126. Verónica Seija.Risk factors for community-acquired urinary tract infection caused by fluoroquinolone resistant E. coli /Verónica Seija, Victoria Frantchez, Verónica Ventura, Marcos Pintos y Mariana González **//** Rev Chilena Infectol. –  2014. – Aug;№31(4). – Р.400-405.
127. Vetting M. W. Mechanistic and structural analysis of aminoglycoside N-acetyltransferase AAC(6\_)-Ib and its bifunctional, fluoroquinolone-active AAC(6\_)-Ib-cr variant / M. W. Vetting, H. P. Chi, S. S. Hegde [et al] // Biochemistry.- 2008.- №37.- Р. 9825–9835.
128. W. E. van der Starre. Risk factors for fluoroquinolone-resistant *Escherichia coli* in adults with community-onset febrile urinary tract infection / W. E. van der Starre, C. van Nieuwkoop, S. Paltansing [et al] // Journal of Antimicrobial Chemotherapy. – 2011. - №3. – Р. 650–656.
129. Wailan AM. The spread and acquisition of NDM-1: a multifactorial problem / Wailan AM, Paterson DL // Expert Rev Anti Infect Ther.- 2014.- № 12(1).- Р. 91-115.
130. Yavuz B. Determination of CTX-M beta-lactamase in Escherichia coli strains isolated from clinical samples / Yavuz B, Ozer B, Inci M, Duran N // Infez Med. 2015 Mar 1;23(1):23-30.