

# Динамика частоты встречаемости уропатогенов и антимикробных детерминант резистентности при детской значимой бактериурии в 2017 и 2019 годах: моноцентровое исследование

Е. Д. ШЕДЬКО<sup>1</sup>, А. В. ЛАЗАРЕВА<sup>2</sup>, С. Н. ЗОРКИН<sup>2</sup>, И. Е. НОВИКОВА<sup>2</sup>, М. Г. ВЕРШИННИНА<sup>2</sup>,  
О. Ю. ТИМОШИНА<sup>1</sup>, Е. Н. ГОЛОВЕШКИНА<sup>1</sup>, А. П. ФИСЕНКО<sup>2</sup>, В. Г. АКИМКИН<sup>1</sup>

<sup>1</sup>ФБУН Центральный НИИ эпидемиологии Роспотребнадзора, г. Москва, РФ  
<sup>2</sup>ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский Центр Здоровья Детей»  
Министерства здравоохранения Российской Федерации, г. Москва

Инфекции мочевыводящих путей (ИМП) являются вторыми по частоте встречаемости инфекциями у детей, в то время как распространение среди уропатогенов антимикробной резистентности представляет в настоящее время высокую эпидемиологическую угрозу. Цель. Провести анализ видового состава и наличия генетических детерминант антибиотикорезистентности. Материалы и методы. В ходе исследования был проведен ретроспективный анализ 215 образцов средней порций мочи. Образцы были получены в течение 2017 и 2019 годов от пациентов в возрасте от 4 недель до 17 лет в ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский Центр Здоровья Детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации. Результаты. Видовая принадлежность патогенов была установлена в 93 образцах, в то время как бактериальный состав других образцов был классифицирован как «кишечная флора» (n = 17), «кокковая флора» (n = 16) или «смешанная флора» (n = 89). Наиболее распространенными видами уропатогенов при монопатогенных инфекциях в 2017 и 2019 являлась *Escherichia coli* (37,5% и 29,2%, соответственно). Среди инфекций, вызванных множественными патогенами, наиболее часто встречающимися этиологическими агентами являлись *Pseudomonas aeruginosa* и *Staphylococcus* spp. Среди всех исследованных образцов 31,9% содержали CTX-M-подобные гены, 5% гены VIM, 1,8% гены NDM, а также 3,0 % — OXA-48-подобные гены, а также 5,6% образцов содержали две и более генетические детерминанты, ассоциированные с резистентностью, при этом наиболее преобладающей комбинацией генов было сочетание CTX-M- и OXA-48-подобных генов. В 69 образцах с идентифицированными видами уропатогенов профиль устойчивости к противомикробным препаратам, определенный микробиологическими методами, соответствовал обнаруженным генам устойчивости. Выводы. Авторы полагают, что введение в общую клиническую практику тестирования на наличие генов, ассоциированных с антибактериальной резистентностью, предоставит не только возможность проведения эпидемиологического мониторинга за генетическими детерминантами антибиотикостойчивости, но также предоставит возможность подбирать корректное своевременное лечение детских бактериурий, вызванных антибиотикорезистентными инфекционными агентами. **Ключевые слова:** детерминанты антимикробной резистентности, инфекции мочевыводящих путей, уропатогены, детская бактериурия, гены β-лактамаз

## Prevalence dynamics of uropatogens and antimicrobial resistance determinants in children's significant bacteriuria in 2017 and 2019: a monocenter study

E. D. Shedko<sup>1</sup>, A. V. Lazareva<sup>2</sup>, S. N. Zorkin<sup>2</sup>, I. E. Novikova<sup>2</sup>, V. G. Vershinina<sup>2</sup>, O. Yu. Timoshina<sup>1</sup>, E. N. Goloveshkina<sup>1</sup>, A. P. Fisenko<sup>2</sup>, V. G. Akimkin<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Central Research Institute of Epidemiology of The Federal Service on Customers' Rights Protection and Human Well-being Surveillance, Moscow  
<sup>2</sup>National Medical Research Center for Children's Health Federal State Autonomous Institution of the Ministry of Health of the Russian Federation, Moscow

Urinary tract infections are the second most common infections in children with spreading of antimicrobial resistance among uropathogens currently poses a high epidemiological threat. Purpose. Analysis of species prevalence and the presence of genetic determinants of antibiotic resistance. Materials and methods. In the study 215 midstream urine samples were retrospectively analyzed. Samples were obtained during 2017 and 2019 from patients aged 4 weeks to 17 years at the National Medical Research Center for Children's Health Federal State Autonomous Institution of the Ministry of Health of the Russian Federation. Results. Species of pathogen were identified in 93 samples, while the bacterial composition of other samples was classified as «intestinal flora» (n = 17), «coccus flora» (n = 16) or «mixed flora» (n = 89). The most common types of uropathogens in monopathogenic infections in 2017 and 2019 were *Escherichia coli* (37.5% and 29.2%, respectively). Among infections caused by multiple pathogens, the most common etiological agents were *Pseudomonas aeruginosa* and *Staphylococcus* spp. Among all studied samples, 31.9% contained CTX-M-like genes, 5% VIM genes, 1.8% NDM genes, and 3.0% — OXA-48-like genes, and 5.6% of samples contained two and more genetic determinants associated with resistance, with the most prevalent gene combination being the combination of CTX-M- and OXA-48-like genes. In 69 samples with identified species of uropathogens, resistance profile to antimicrobials, determined by microbiological methods, correlated with detected resistance genetic determinants. Conclusion. Authors suggest that introduction of testing for the presence of genes associated with antibacterial resistance to general clinical practice would not only provide an opportunity to conduct epidemiological monitoring of the genetic determinants of antibiotic resistance, but also provide an opportunity to select the correct timely treatment of childhood bacteriuria caused by antibiotic-resistant infectious agents. **Keywords:** genetic determinants of antimicrobial resistance, urinary tract infections, uropathogens, children's bacteriuria, β-lactamase genes

**Для цитирования:** Е. Д. Шедько, А. В. Лазарева, С. Н. Зоркин, И. Е. Новикова, М. Г. Вершинина, О. Ю. Тимошина, Е. Н. Головешкина, А. П. Фисенко, В. Г. Акимкин. Динамика частоты встречаемости уропатогенов и антимикробных детерминант резистентности при детской значимой бактериурии в 2017 и 2019 годах: моноцентровое исследование. Детские инфекции. 2021; 20(3):11-17. doi.org/10.22627/2072-8107-2021-20-3-11-17

**For citation:** E. D. Shedko, A. V. Lazareva, S. N. Zorkin, I. E. Novikova, V. G. Vershinina, O. Yu. Timoshina, E. N. Goloveshkina, A. P. Fisenko, V. G. Akimkin. Prevalence dynamics of uropatogens and antimicrobial resistance determinants in children's significant bacteriuria in 2017 and 2019: a monocenter study. *Detskie Infektsii=Children's Infections*. 2021; 20(3):11-17. doi.org/10.22627/2072-8107-2021-20-3-11-17

#### Информация об авторах:

**Шедько Елизавета Дмитриевна (Elizaveta Shedko)**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной диагностики и эпидемиологии инфекций органов репродукции ФБУН ЦНИИ эпидемиологии Роспотребнадзора; shedko@cmd.su; <http://orcid.org/0000-0003-4556-7513>

**Лазарева Анна Валерьевна (Anna Lazareva)**, заведующая лабораторией микробиологии, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей», Москва; lazarevaav@nczd.ru; <http://orcid.org/0000-0003-3896-2590>

**Зоркин Сергей Николаевич (Sergey Zorkin)**, заведующий урологическим отделением с группами репродуктологии и трансплантации, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей», Москва; <http://orcid.org/0000-0002-4038-1472>

**Новикова Ирина Евгеньевна (Irina Novikova)**, младший научный сотрудник лаборатории молекулярной микробиологии, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей», Москва; <http://orcid.org/0000-0003-4234-0209>

**Вершинина Марина Германовна (Marina Vershinina)**, руководитель лабораторного отдела, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей», Москва; <http://orcid.org/0000-0001-6051-5231>

**Тимошина Ольга Юрьевна (Olga Timoshina)**, научный сотрудник ЛМДиЭ ИОР, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора; timoshina@cmd.su; <http://orcid.org/0000-0001-8727-9734>

**Головешкина Елена Николаевна (Elena Goloveshkina)**, заведующая лабораторией ЛМДиЭ ИОР, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора; goloveshkina@cmd.su; <http://orcid.org/0000-0002-0536-2874>

**Фисенко Андрей Петрович (Andrei Fisenko)**, директор, ФГАУ «НМИЦ здоровья детей», Москва; <http://orcid.org/0000-0001-8586-7946>

**Акимкин Василий Геннадьевич (Vasily Akimkin)**, директор, ФБУН ЦНИИ Эпидемиологии Роспотребнадзора; akimkin@pcr.ms; <http://orcid.org/0000-0003-4228-9044>

Среди детских инфекционных заболеваний инфекции мочевыводящих путей (ИМП) имеют распространенность 18 на 1000 случаев в Российской Федерации, в то время как по всему миру распространенность ИМП у детей может варьироваться до 8% [1]. Среди детей с фебрильной температурой общая распространенность ИМП достигает 7% [2].

Согласно ранее проведенным исследованиям, наиболее распространенными патогенами, вызывающими ИМП, являются *Escherichia coli* (79,7%) [3, 4], *Klebsiella* spp., *Serratia* spp., *Pseudomonas* spp., и *Streptococcus* spp. [5].

К тому же распространение антибиотикорезистентных бактерий, в настоящее время, является одной из самых быстрорастущих угроз [6]. Согласно исследованию Mahony с соавт. [7], процент уропатогенов, содержащих гены расширенного спектра  $\beta$ -лактамаз, среди этиологических агентов детских бактериурий может варьировать до 48,8%, в то время как превалирование *E. coli* с множественной антибиотикорезистентностью может достигать 90% в некоторых странах. Несмотря на то, что существуют исследования, посвященные исследованию уровня распространенности резистентности к наиболее часто используемым антибиотикам [8–12], в настоящее время существует крайне мало исследований, посвященных распространенности генных детерминант, ассоциированных с антибиотикорезистентностью.

Гены  $\beta$ -лактамаз расширенного спектра CTX-M являются широко распространенными по всему миру [13].  $\beta$ -лактамазы типа CTX-M вызывают резистентность к второму, третьему и четвертому поколению цефалоспоринов, пенициллинам и монобактамам [14]. Для генов  $\beta$ -лактамаз типа OXA была показана ассоциация с резистентностью к пенициллинам и цефалоспорином [15]. Другими широко распространенными генами карбапенемаз являются гены карбапенемаз *Klebsiella pneumoniae* (KPC), для которых показана связь с резистентностью к пенициллинам, цефалоспорином, азетроном и карбапенему [16], и металло- $\beta$ -лактамазы, которые ассоциированы с резистентностью к пенициллинам, цефалоспорином и карбапенему, при этом самыми распространенными семействами генов является IMP (англ.

inactivate imipenem — инактивирующие имипенем), VIM (англ. Verona Integron-encoded Metallo- $\beta$ -lactamase — металло- $\beta$ -лактамаза, кодируемая интегроном Verona), а также NDM (англ. New Delhi Metallo- $\beta$ -lactamase — металло- $\beta$ -лактамаза Нью-Дели) [17]. В исследовании Thäpelt с соавт. [18] было показано, что 79,8% уропатогенов при детской бактериурии несли гены расширенного спектра  $\beta$ -лактамаз, например, *bla*CTX-M-15 (45,9%) и *bla*OXA-1 (44%).

**Цель:** провести анализ видового состава уропатогенов и наличия генетических детерминант антибиотикорезистентности.

#### Материалы и методы исследования

В данном исследовании был проведен ретроспективный анализ 215 последовательно собранных образцов средней порций мочи от пациентов урологического отделения с группами репродуктологии и трансплантации, 52 образцов из которых было получено в 2017 г. и 163 — в 2019 г. в ФГАУ «Национальный медицинский исследовательский Центр Здоровья Детей» Министерства здравоохранения Российской Федерации.

Исследованные образцы отбирались случайным образом и включали среднюю порцию мочи, мочу из мочеочника или стом. Образцы мочи были получены от пациентов в возрасте от 4 недель до 17 лет.

Все образцы были протестированы для определения видового состава этиологических агентов бактериурий и наличия резистентности к наиболее широко используемым антимикробным препаратам с использованием микробиологических и молекулярных методов диагностики.

Бактериологическое исследование было проведено посевом биоматериала на среде URSELECT™ (Bio-Rad Laboratories, США) с последующей инкубацией при температуре 37°C в течение 24–48 ч. Посев осуществляли петлей 10 мкм несекторным методом. Титр бактерий определяли согласно клиническим рекомендациям. Идентификация видов уропатогенов проводили методом масс-спектрометрии по технологии MALDI-TOF MS (Bruker Daltonics, Германия), а также в бактериологическом анализаторе Vitek 2 (BioMérieux, Франция). Чувств-

вительность к противомикробным препаратам определяли с использованием диско-диффузионного метода (Bio-Rad, США) и Е-тестов (BioMérieux, Франция).

Образцы биоматериала передавали в молекулярно-биологическую лабораторию партиями по мере накопления со строгим соблюдением холодовой цепочки. В бактериологической и молекулярно-биологической лаборатории образцы хранились при температуре — 20°С.

Экстракция ДНК выполнялась с использованием набора реагентов «РИБО-преп» (ФБУН «ЦНИИ эпидемиологии», Москва). Анализ проводили методом мультиплексной ПЦР в реальном времени с применением разработанных ранее наборов реагентов «АмплиСенс® ИМП-скрин-титр-FL», «АмплиСенс® MDR MBL-FL», «АмплиСенс® MDR KPC-OXA-48-FL» и «АмплиСенс® ESBL CTX-M» (все ФБУН «ЦНИИ Эпидемиологии», Москва). Определяемые при помощи наборов реагентов при проведении мультиплексной ПЦР последовательности нуклеиновых кислот представлены в таблице 1.

Анализ проводился на амплификаторе Rotor-Gene 6000 согласно соответствующим инструкциями. При использовании набора реагентов «АмплиСенс® ИМП-скрин-титр-FL» количественное содержание бак-

териальной ДНК в образце оценивали в ГЭ (геномных эквивалентах) на 1 мл мочи.

Результаты и их обсуждение

Важно отметить, что в исследование были включены образцы мочи от пациентов со значимой бактериурией. Согласно как Европейским [19], так и Российским [20] клиническим рекомендациям, пороговым значением концентрации бактериальных агентов при бессимптомной бактериурии является 10<sup>5</sup> КОЕ/мл, в то время как для пациентов с симптоматической бактериурией пороговое значение определено как 10<sup>4</sup> КОЕ/мл. Так как в данном исследовании не учитывалось наличие или отсутствие симптомов бактериурии у пациентов, то пороговым значением было выбрано 10<sup>4</sup> КОЕ/мл.

Уропатогены были идентифицированы до видов бактериологическими методами в 93 образце, в то время как бактериальный состав других образцов был классифицирован как «кишечная флора» (n = 17), «кокковая флора» (n = 16) или «смешанная флора» (n = 89). Видовое разнообразие уропатогенов в исследованных образцах приведено в таблице 2. Во всех исследованных случаях виды, определенные микробиологическими методами, совпадали с видами, определёнными методом мультиплексной ПЦР в реальном времени.

Таблица 1. Генетические детерминанты, определяемые с помощью использованных наборов реагентов  
Table 1. Genetic determinants targets of applied reagent kits

Название набора реагентов / Reagent kit	Определяемые генетические детерминанты/ Genetic determinant targets
АмплиСенс® MDR MBL-FL/ AmpliSens® MDR MBL-FL	<i>blaVIM</i> , <i>blaIMP</i> , <i>blaNMD</i>
АмплиСенс® MDR KPC-OXA-48-FL/ AmpliSens® MDR KPC-OXA-48-FL	<i>blaOXA-48-like</i> , <i>blaKPC</i>
АмплиСенс® ESBL CTX-M/ AmpliSens® ESBL CTX-M	<i>blaCTX-M-1-like</i> , <i>blaCTX-M-2-like</i> , <i>blaCTX-M-8-like</i> , <i>blaCTX-M-9-like</i>
АмплиСенс® ИМП-скрин-титр-FL/ AmpliSens® IMP-screen-titer-FL	ДНК порядка <i>Enterobacterales</i> , в том числе семейство <i>Enterobacteriaceae</i> ; ДНК <i>P. mirabilis</i> ; ДНК бактерий рода <i>Enterococcus</i> ; ДНК <i>K. pneumoniae</i> ; ДНК бактерий рода <i>Staphylococcus</i> ; ДНК <i>E. coli</i> ; ДНК <i>P. aeruginosa</i> ; ДНК бактерий рода <i>Streptococcus</i> ; ДНК <i>S. saprophyticus</i> ; ДНК микроорганизмов домена Бактерии

Таблица 2. Распространенность наиболее часто встречающихся видов уропатогенов среди монопатогенных инфекций, определенных с помощью бактериологических методов  
Table 2. Prevalence of the most common uropathogen species of monopathogen infections, detected with bacteriological methods

Виды уропатогенов / Uropathogen species	Доля пациентов (%) / percentage of patients (%)	
	2017	2019
<i>E. coli</i>	37,5	29,2
<i>E. faecalis</i>	16,7	12,5
<i>K. pneumoniae</i>	12,5	20,8
<i>P. aeruginosa</i>	4,2	12,5
<i>E. faecium</i>	8,4	4,2
<i>Acinetobacter</i> spp.	4,2	4,2
<i>Enterobacter</i> spp.	—	2,1
<i>P. mirabilis</i>	—	6,3
<i>Staphylococcus</i> spp.	4,2	2,1
Другие виды бактерий / Other bacteria species	11,8	2,1

**Таблица 3.** Распространенность наиболее часто встречающихся видов уропатогенов среди инфекций с множественными этиологическими агентами, определенных с помощью «АмплиСенс® ИМП-скрин-титр-FL»  
**Table 3.** Prevalence of the most common uropathogen species of infections with multiple etiological agents, detected with AmpliSens® IMP-screen-titer-FL

Выявленные ДНК-мишени / DNA targets	Доля пациентов (%) / percentage of patients (%)	
	2017	2019
ДНК энтеробактерий / DNA Enterobacterales	25	55,8
ДНК <i>P. mirabilis</i> / DNA <i>P. mirabilis</i>	—	13,5
ДНК энтерококков / DNA Enterococcus	7,1	40,4
ДНК <i>K. pneumoniae</i> / DNA <i>K. pneumoniae</i>	3,6	23,1
ДНК стафилококков / DNA Staphylococcus	10,7	63,5
ДНК <i>E. coli</i> / DNA <i>E. coli</i>	14,3	42,3
ДНК <i>P. aeruginosa</i> / DNA <i>P. aeruginosa</i>	3,6	9,6
ДНК стрептококков / DNA Streptococcus	14,2	30,8
ДНК бактерий / Bacterial DNA	17,9	3,8
ДНК <i>S. saprophyticus</i> / DNA <i>S. saprophyticus</i>	—	19,2

Также, в 2019 году были обнаружены образцы, в которых с помощью микробиологических методов было определено два и более этиологических агентов значимой бактериурии. В 94,8% случаев этиологическими агентами являлись два основных патогена, в остальных случаях — три. Самыми распространенными уропатогенами в данной группе являлись *P. aeruginosa* (42,1%), *E. faecalis* (26,3%) и *E. coli* (15,8%).

Среди образцов с патогенами, которые не были определены до вида микробиологическими методами, также был проведен анализ методом мультиплексной ПЦР в реальном времени с использованием набора реагентов «АмплиСенс® ИМП-скрин-титр-FL» [21]. Так, во всех проанализированных образцах было подтверждено, что бактериурия вызвана двумя и более этиологическими агентами. В таблице 3 представлено распределение результатов ПЦР-анализа. Процентное соотношение представлено от общего числа образцов с неопределенным видовым составом уропатогенов.

Важно отметить, что представленные в таблице 3 доли образцов с определенными методами мультиплексной ПЦР ДНК-маркерами патогенов были рассчитаны от общего количества образцов в выборке.

Таким образом, полученное распределение уропатогенов среди образцов с монопатогенными инфекциями соответствует ранее опубликованным данным [3–5]. Однако, для инфекций с несколькими основными этиологическими агентами наиболее распространенными, как среди определенных микробиологическими методами, так и среди определенных методом ПЦР в реальном времени, являлись *P. aeruginosa* и бактерии рода *Staphylococcus*. Авторы предполагают, что исследования ИМП у детей, вызванных множественными этиологическими агентами, в дальнейшем должны стать одним из приоритетных направлений исследовательской деятельности как в области медицины, так и в области молекулярной диагностики.

В 2017 гены CTX-M-подобной группы, включая *bla*CTX-M-1-, *bla*CTX-M-2-, *bla*CTX-M-8- и *bla*CTX-M-9-подобные гены, были определены в 30% образцов и *bla*OXA-48-подобных — в 3,3% исследованных образцов. Гены *bla*VIM, *bla*IMP, *bla*NMD, *bla*KPC не были идентифицированы. В 2019 году гены CTX-M-подобной группы были определены в 33%, *bla*VIM — в 6%, *bla*IMP — в 1%, *bla*NMD — в 4% и *bla*OXA-48-подобных — в 3% исследованных образцов. Гены *bla*KPC не были идентифицированы.

Среди всех исследованных образцов 31,9% содержали CTX-M-подобные гены, 5% — гены VIM, 1,8% — гены NDM, а также 3,0 % — OXA-48-подобные гены. Было показано, что 5,6% образцов содержали две и более генетические детерминанты, ассоциированные с резистентностью, при этом наиболее преобладающей комбинацией генов было сочетание CTX-M- и OXA-48-подобных генов.

Также, с помощью микробиологических методов был определен профиль резистентности для 69 образцов, полученных в 2019 году. Среди исследованных образцов наиболее широко были представлены штаммы *E. coli*, *K. pneumoniae* и *E. faecalis* — доля каждого составляла 18,2%. Результаты представлены в таблице 4.

Исследования, посвященные профилю резистентности уропатогенов детских ИМП, представлены достаточно узко. Так, в исследовании Vazouras с соавт. было показано, что у наиболее преобладающего уропатогена — *E. coli* (79,2%) — наблюдались высокие показатели резистентности к ампициллину (42,0%), триметаприму/сульфаметоксазолу (26,5%) и амоксициллину/клавулановой кислоте (12,2%) [11]. Интересно отметить, что в упомянутом выше исследовании, а также в работе Lutter [22] с соавт. было показано, что общий уровень резистентности к цефотаксиму и аминогликозиду значительно различался между детьми, не получающими профилактическое лечение антибиотиками (3% и 1% соответственно) и пациентами, получающими профилактические дозы соответствующих препаратов (27% и 5% соответственно). В исследовании Wang с соавт. [12] наиболее распространенными патогенами являлись



Таблица 4. Доля антибиотико-чувствительных штаммов среди протестированных образцов мочи  
Table 4. Percentage of antimicrobial susceptible strains amongst tested urine samples

Антимикробные препараты / Antimicrobials																							
Виды/ Species	имипенем / imipenem	меропенем / meropenem	ципрофлоксацин / ciprofloxacin	амикацин / amikacin	гентамицин / gentamycin	нетилицин / netilmicin	тобрамицин / tobramycin	триметоприм + сульфаметоксазол / trimethoprim + sulfamethoxazole	колистин / colistin	цефепим / ceftepime	ампициллин / ampicillin	нитрофурантоин / nitrofurantoin	цефтазидим / ceftazidime	амоксициллин + клавулановая кислота / amoxicillin + clavulanic acid	азтреонам / aztreonam	тигекцилин / tigecycline	линезолид / linezolid	ванкомицин / vancomycin	левофлоксацин / levofloxacin	триклозан / triclosan	пиперазин цитрат + тазобактам / piperazine citrate/tazobactam	оксациллин / oxacillin	клиндамицин / clindamycin
Acinetobacter spp.	100	100	100	100	100	100	100	100	100	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
Chryseobacterium indologenes	0	0	0	0	0	0	0	0	0	100	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
Enterobacter spp	100	100	100	100	100	100	nt	100	100	50	0	100	50	0	50	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
E. faecalis	100	nt	87,5	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	100	100	nt	nt	nt	100	100	100	87,5	nt	nt	nt	nt
E. faecium	0	nt	0	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	0	75	nt	nt	nt	4	4	4	0	nt	nt	nt	nt
Escherichia coli	100	100	75	93,8	87,5	87,5	nt	68,8	100	62,5	31,3	93,8	62,5	62,5	62,5	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
Klebsiella spp	87,5	87,5	56,3	93,8	75	81,3	nt	62,5	100	56,3	0	68,8	56,3	56,3	56,3	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
Morganella morganii	100	100	100	100	100	100	nt	100	0*	66,7	0	66,7	66,7	33,3	66,7	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
Proteus mirabilis	100	100	75	100	100	100	nt	100	0*	50	75	50	50	50	50	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
Providencia stuartii	100	100	100	100	0	0	nt	100	0	100	0	0	100	100	100	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
P. aeruginosa	78,6	78,6	78,6	71,4	78,6	78,6	71,4	nt	100	78,6	nt	nt	78,6	nt	nt	nt	nt	nt	nt	78,6	78,6	nt	nt
Serratia marcescens	100	100	100	0	0	100	nt	0	0	0	0	0	0	0	0	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt
Staphylococcus haemolyticus	nt	nt	nt	nt	100	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	nt	100	100	100	nt	nt	nt	50	100

\* — природная резистентность / intrinsic resistance  
nt — не тестировался / not tested

Enterococcus spp. (35,2%) и E. coli (22,3%), при этом наиболее низкая чувствительность наблюдалась к линезолиду (3,5%), ванкомицину (0,9%), имипенему (5,7%) и амикацину (3,2%). В работе Mirsoleymani с соавт. [23] была показана чувствительность E. coli, являющейся этиологическим агентом ИМП, к амикацину (79,7%), офлоксацину (78,3%), гентамицину (71,6%), цефтриаксону (41,8%), цефотаксиму (41,4%) и цефепиму (27,8%). Вгусе с соавт. показали, что уропатогенные E. coli имели наибольшую резистентность к амоксициклину (49,37%), триметаприму (27,85%) и ко-амоксиклаву (16,46%), при этом 17,07% штаммов обладали множественной резистентностью [24]. Таким образом, полученные результаты коррелируют с ранее опубликованными данными.

Среди образцов с профилем резистентности, исследованным с помощью микробиологических методов, было проведено сравнение с наличием генетических детер-

минант антибиотикорезистентности, определёнными с помощью метода мультиплексной ПЦР в реальном времени. Полученные результаты представлены в таблице 5.

В настоящее время бактериологические методы являются «золотым стандартом» для определения антимикробной резистентности [25], хотя также ведется активная разработка альтернативных методов определения резистентности [26]. Исходя из полученных результатов, профиль устойчивости к антимикробным препаратам, определенный с помощью микробиологических методов, обладает высоким сходством с профилем наличия генетических детерминант резистентности, что позволяет рассматривать последнее в качестве перспективного альтернативного метода анализа. Однако, существуют некоторые неразрешенные задачи. Так, разработка альтернативных методов детекции резистентности, является особенно важным для определения резистентности к колистину. Колистин является в настоя-

Таблица 5. Доля резистентных штаммов среди бактерий, содержащих генетические детерминанты, ассоциированные с резистентностью, %  
Table 5. Percentage of resistant strains among bacteria, containing resistance-associated genes, %

Гены, ассоциированные с резистентностью / Resistance genes	имипенем / imipenem	ципрофлоксацин / ciprofloxacin	тобрамицин / tobramycin	триметоприм + сульфаметоксазол / trimethoprim + sulfamethoxazole	колистин / colistin	ампициллин / ampicillin	нитрофурантоин / nitrofurantoin	триклозан / triclosan	пиперазин цитрат + тазобактам / piperazine + tazobactam	цефепим / ceftepime	цефтазидим / ceftazidime	амоксиклав / amoxicillin + clavulanic acid	азтреонам / aztreonam
CTX-M-подобные гены / CTX-M-like	25	60	100	63	25	94	19	100	100	95	100	88	100
OXA-48	33	67	N/A	33	67	100	100	N/A	N/A	100	100	100	100
VIM	33	50	100	40	0	100	20	N/A	N/A	67	67	100	80
IMP	75	50	60	33	17	33	N/A	60	60	33	50	33	N/A

N/A — данные не представлены / data not available

ший момент препаратом так называемого «последнего резерва», однако пороговые значения для метода микроразведений в полистироловых планшетах для данного антимикробного препарата, в соответствии с согласительным документом CLSI/EUCAST являются компромиссными [27], а наиболее часто используемые наборы реагентов имеют высокую степень ошибок [28]. Таким образом, авторы полагают, что разработка новых методов тестирования бактерий на наличие резистентности является одной из наиболее приоритетных задач.

Заключение

В ходе исследования суммарно было проанализировано 215 проб мочи, собранной за 2017 и 2019 годы. При сравнительном анализе видового состава ИМП была показана наибольшая распространенность *E. coli* в качестве основного этиологического агента на протяжении двух периодов сбора материала (37,5% и 29,2% соответственно), что согласуется с ранее опубликованными данными. Однако стоит отметить, что значительно увеличилась доля инфекций, вызванных *K. pneumoniae*, как при определении с помощью микробиологических методов (с 12,5% до 20,8%), так и с помощью метода мультиплексной ПЦР (с 3,6% до 23,1%).

Среди инфекций, вызванных двумя и более патогенами, при определении микробиологическими методами наиболее распространенным патогеном являлась *P. aeruginosa* (42,1%), что согласовывалось с определением методом ПЦР в реальном времени. Однако в литературных данных распределение доли патогенов при инфекциях, вызванных множественными видами бактерий, отражено недостаточно полно, и остро нуждается в расширении числа исследований в данной области.

Для 49,3% образцов видовой состав инфекционных агентов с использованием микробиологических методов

определить не удалось. Однако, при определении содержания в образцах мочи ДНК методом мультиплексной ПЦР в реальном времени, было показано, что с 2017 по 2019 год значительно увеличилось количество инфекций, вызванных *Staphylococcus spp.* с 10,7% до 63,5% и *Enterococcus spp.* с 7,1% до 40,4%. Авторы полагают, что использование методов, основанных на мультиплексной ПЦР в реальном времени, являются перспективной альтернативой бактериологическим методам исследования как видового состава бактериурий, так и определения профиля резистентности уропатогенов.

Таким образом, было показано, что для инфекций, вызванных двумя и более патогенами, и монопатогенными инфекциями, преобладающие уропатогены значительно различаются.

Количество штаммов, несущие некоторые из исследованных генетических детерминант, ассоциированных с антибиотикорезистентностью, возросло в период с 2017 по 2019 год. Так, в 2017 гены CTX-M-подобной группы были определены в 30% образцов, а в 2019 — в 33%. Однако, для blaOXA-48-подобных генов значительных различий показано не было: их доля в 2017 году составляла 3,3%, а в 2019 — 3% исследованных образцов. Однако стоит отметить, что в 2019 гены blaVIM, blaIMP, blaNMD, blaKPC не были идентифицированы, в то время как в 2017 году доли уропатогенов, несущих гены blaVIM составили 6%, blaIMP — 1%, а гены blaNMD — 4%. Интересно отметить, что на протяжении всего исследования гены blaKPC не были идентифицированы. При этом была показана высокая степень корреляции между наличием генетических детерминант резистентности и профилями антибиотикоустойчивости, полученными микробиологическими методами.

Появление высокоточных и простых в использовании наборов реагентов, основанных на методе амплификации

нуклеиновых кислот, поможет не только проводить эпидемиологический контроль как за распространенностью основных патогенов и детерминант резистентности, но также и на ранней стадии определять подходящий курс своевременного антимикробного лечения для пациента.

### Литература/References:

1. Simões e Silva A.C., Oliveira E.A., Mak R.H. Urinary tract infection in pediatrics: an overview. *J Pediatr (Rio J)*. 2020;96:65–79. DOI: 10.1016/j.jped.2019.10.006.
2. Shaikh N., Morone N.E., Bost J.E., Farrell M.H. Prevalence of Urinary Tract Infection in Childhood. *Pediatr Infect Dis J*. 2008;27(4):302–308. DOI: 10.1097/INF.0b013e31815e4122.
3. Becknell B., Schober M., Korb L., Spencer J.D. The diagnosis, evaluation and treatment of acute and recurrent pediatric urinary tract infections. *Expert Rev Anti Infect Ther*. 2015;13(1):81–90. DOI: 10.1586/14787210.2015.986097.
4. Palagin I.S., Sukhorukova M.V., Dekhnich A.V., Edelstein M.V., Perepanova T.S., Kozlov R.S., “DARMIS-2018” Study Group. Antimicrobial resistance of pathogens causing community-acquired urinary tract infections in Russia: results of the multicenter study «DARMIS-2018». *Clin Microbiol Antimicrob Chemother*. 2019;21(2):134–146. DOI: 10.36488/cmasc.2019.2.134–146.
5. Захарова И.Н., Мачнева Е.Б., Мумладзе Э.Б., Ивахненко Ю.И. Диагностика и лечение инфекций мочевых путей у детей: что нового? Медицинский совет. 2017; 1:180–185. [Zakharova I.N., Machneva E.B., Mumladze E.B., Ivakhnenko Yu.I. Diagnosis and treatment of urinary tract infections in children: what's new? *Meditsinskiy Sovet*. 2017; 1:180–185. (In Russ.) DOI: 10.21518/2079-701X-2017-1-180-185.]
6. Zaman S. Bin, Hussain M.A., Nye R., Mehta V., Mamun K.T., Hosain N. A Review on Antibiotic Resistance: Alarm Bells are Ringing. *Cureus*. 2017; DOI: 10.7759/cureus.1403.
7. Mahony M., McMullan B., Brown J., Kennedy S.E. Multidrug-resistant organisms in urinary tract infections in children. *Pediatr Nephrol*. 2020; 35(9):1563–1573. DOI: 10.1007/s00467-019-04316-5.
8. Raupach T., Held J., Prokosch H.-U., Rascher W., Zierk J. Resistance to antibacterial therapy in pediatric febrile urinary tract infections—a single-center analysis. *J Pediatr Urol*. 2020; 16(1):71–79. DOI: 10.1016/j.jpuro.2019.10.018.
9. Demir M., Kazanasmaz H. Uropathogens and antibiotic resistance in the community and hospital-induced urinary tract infected children. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020;20:68–73. DOI: 10.1016/j.jgar.2019.07.019.
10. Eltai N.O., Al Thani A.A., Al-Ansari K., Deshmukh A.S., Wehedy E., Al-Hadidi S.H., Yassine H.M. Molecular characterization of extended spectrum  $\beta$ -lactamases enterobacteriaceae causing lower urinary tract infection among pediatric population. *Antimicrob Resist Infect Control*. 2018;7(1):90. DOI: 10.1186/s13756-018-0381-6.
11. Vazouras K., Velali K., Tassiou I., Anastasiou-Katsiardani A., Athanasopoulou K., Barbouni A., Jackson C., Folgori L., Zaoutis T., Basmaci R., Hsia Y. Antibiotic treatment and antimicrobial resistance in children with urinary tract infections. *J Glob Antimicrob Resist*. 2020; 20:4–10. DOI: 10.1016/j.jgar.2019.06.016.
12. Wang J., He L., Sha J., Zhu H., Huang L., Zhu X., Dong J., Li G., Ge Z., Lu R., Ma G., Shi Y., Guo Y. Etiology and antimicrobial resistance patterns in pediatric urinary tract infection. *Pediatr Int*. 2018; 60(5):418–422. DOI: 10.1111/ped.13526.
13. Bevan E.R., Jones A.M., Hawkey P.M. Global epidemiology of CTX-M  $\beta$ -lactamases: temporal and geographical shifts in genotype. *J Antimicrob Chemother*. 2017; 72(8):2145–2155. DOI: 10.1093/jac/dkx146.
14. Rivoarilala O.L., Garin B., Andriamahery F., Collard J.M. Rapid in vitro detection of CTX-M groups 1, 2, 8, 9 resistance genes by LAMP assays. Galdiero M, editor. *PLoS One*. 2018; 13(7):e0200421. DOI: 10.1371/journal.pone.0200421.
15. Evans B.A., Amyes S.G.B. OXA-Lactamases. *Clin Microbiol Rev*. 2014; 27(2):241–263. DOI: 10.1128/CMR.00117–13.
16. Palzkill T. Metallo- $\beta$ -lactamase structure and function. *Ann N Y Acad Sci*. 2013;1277(1):91–104. DOI: 10.1111/j.1749-6632.2012.06796.x.
17. Adam M.A., Elhag W.I. Prevalence of metallo- $\beta$ -lactamase acquired genes among carbapenems susceptible and resistant Gram-negative clinical isolates using multiplex PCR, Khartoum hospitals, Khartoum Sudan. *BMC Infect Dis*. 2018; 18(1):668. DOI: 10.1186/s12879-018-3581-z.
18. Thänert R., Reske K.A., Hink T., Wallace M.A., Wang B., Schwartz D.J., Seiler S., Cass C., Burnham C.-A.D., Dubberke E.R., Kwon J.H., Dantas G. Comparative Genomics of Antibiotic-Resistant Uropathogens Implicates Three Routes for Recurrence of Urinary Tract Infections. *Parkhill J*, editor. *MBio*. 2019; 10(4) DOI: 10.1128/mBio.01977-19.
19. Reaffirmation of AAP Clinical Practice Guideline: The Diagnosis and Management of the Initial Urinary Tract Infection in Febrile Infants and Young Children 2–24 Months of Age. *Pediatrics*. 2016; 138(6):e20163026–e20163026. DOI: 10.1542/peds.2016–3026.
20. Союз педиатров России. Федеральные клинические рекомендации по оказанию медицинской помощи детям с инфекцией мочевыводящих путей. 2018:24. [Union of Pediatricians of Russia. Federal clinical guidelines for the provision of medical care to children with urinary tract infection. 2018:24. (In Russ.)]
21. Shedko E.D., Lazareva A.V., Zorkin S.N., Novikova I.E., Vershinina M.G., Timoshina O.Y., Goloveshkina E.N., Fisenko A.P., Akimkin V.G. Quantitative multiplex real-time PCR as a method for detection of significant bacteriuria in children. *Russ Pediatr Zhurnal*. 2020; 23(5):284–290. DOI: <http://dx.doi.org/10.18821/1560-9561-2020-23-5-284-290>.
22. Lutter S.A., Currie M.L., Mitz L.B., Greenbaum L.A. Antibiotic Resistance Patterns in Children Hospitalized for Urinary Tract Infections. *Arch Pediatr Adolesc Med*. 2005; 159(10):924. DOI: 10.1001/archpedi.159.10.924.
23. Mirsoleymani S.R., Salimi M., Shareghi Brojeni M., Ranjbar M., Mehtarpoor M. Bacterial Pathogens and Antimicrobial Resistance Patterns in Pediatric Urinary Tract Infections: A Four-Year Surveillance Study (2009–2012). *Int J Pediatr*. 2014; 2014:1–6. DOI: 10.1155/2014/126142.
24. Bryce A., Costelloe C., Wootton M., Butler C.C., Hay A.D. Comparison of risk factors for, and prevalence of, antibiotic resistance in contaminating and pathogenic urinary *Escherichia coli* in children in primary care: prospective cohort study. *J Antimicrob Chemother*. 2018; 73(5):1359–1367. DOI: 10.1093/jac/dkx525.
25. Ahmed S.S., Shariq A., Alsallloom A.A., Babikir I.H., Alhomoud B.N. Uropathogens and their antimicrobial resistance patterns: Relationship with urinary tract infections. *Int J Health Sci (Qassim)*. 2019; 13(2):48–55.
26. Fluit A.C., Visser M.R., Schmitz F.-J. Molecular Detection of Antimicrobial Resistance. *Clin Microbiol Rev*. 2001; 14(4):836–871. DOI: 10.1128/CMR.14.4.836-871.2001.
27. Satlin M.J., Lewis J.S., Weinstein M.P., Patel J., Humphries R.M., Kahlmeter G., Giske C.G., Turnidge J. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI) and European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) position statements on polymyxin B and colistin clinical breakpoints. *Clin Infect Dis*. 2020; DOI: 10.1093/cid/cia121.
28. Antimicrobial susceptibility testing of colistin — problems detected with several commercially available products [Internet]. 2016. Available from: [https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST\\_files/Warnings/Warnings\\_docs/Warning\\_-\\_colistin\\_AST.pdf](https://www.eucast.org/fileadmin/src/media/PDFs/EUCAST_files/Warnings/Warnings_docs/Warning_-_colistin_AST.pdf)

Статья поступила 28.07.2021

**Конфликт интересов:** Авторы подтвердили отсутствие конфликта интересов, финансовой поддержки, о которых необходимо сообщить.  
Conflict of interest: The authors confirmed the absence conflict of interest, financial support, which should be reported