

**МЕДИЦИНСКИ УНИВЕРСИТЕТ “ПРОФ. Д-Р ПАРАСКЕВ СТОЯНОВ” – ВАРНА
ФАКУЛТЕТ ПО ФАРМАЦИЯ
КАТЕДРА ПРЕДКЛИНИЧНИ И КЛИНИЧНИ НАУКИ**

Нели Миткова Лодозова

Широкоспектърни β -лактамаза произвеждащи микроорганизми, като причинители на уроинфекции при амбулаторни и хоспитализирани пациенти в детска възраст - характеристика и епидемиология

АВТОРЕФЕРАТ

на дисертационен труд за присъждане на
образователна и научна степен „ДОКТОР”

НАУЧНА СПЕЦИАЛНОСТ:

01.06.12 Микробиология

Научни ръководители:

проф. д-р Красимир Методиев, дмн
доц. д-р Димитричка Близнакова, дм

Официални рецензенти:

Доц. д-р Лилия Иванова Иванова, д.м.
Проф. д-р Пламен Христов Ненков, д.м.н.

Варна, 2014

Дисертационният труд е обсъден и предложен за защита от разширен катедрен съвет на Катедрата по предклинични и клинични науки към Медицински университет „Проф. д-р Параскев Стоянов” – Варна на(дата)..... и насочен за защита пред Научно жури.

Дисертационният труд се състои от 100 страници, 1 приложение и е онагледен с 31 фигури и 14 таблици. Цитирани са 120 литературни източника, от които 43 на кирилица и 77 на латиница.

Защитата ще се състои на(дата).... от(час).....в зала 803 на Регионална здравна инспекция – Варна (ул. „Брегалница” №3).

Материалите във връзка със защитата са на разположение в библиотеката на Медицински университет – Варна, ул. „Марин Дринов” №55, гр. Варна.

Съдържание:

I.	ВЪВЕДЕНИЕ	5 стр.
II.	ЦЕЛ И ЗАДАЧИ	6 стр.
III.	МАТЕРИАЛИ И МЕТОДИ	6 стр.
IV.	РЕЗУЛТАТИ И ОБСЪЖДАНЕ	7 стр.
1.	Общи данни	7 стр.
2.	Положителни за наличие на инфекциозен причинител проби урина	8 стр.
3.	Детектирани ESBL-щамове от всички положителни проби	11 стр.
4.	Разпределение по пол	13 стр.
5.	Разпределение по възрастови групи	17 стр.
6.	Разпределение по вид микроорганизъм, причинител на уроинфекцията	22 стр.
7.	Разпределение по антибиотична резистентност	38 стр.
VI.	ЗАКЛЮЧЕНИЕ	44 стр.
V.	ИЗВОДИ И ПРЕПОРЪКИ	44 стр.
VII.	ПРИНОСИ	52 стр.
VIII.	ПУБЛИКАЦИИ ВЪВ ВРЪЗКА С ДИСЕРТАЦИОННИЯ ТРУД	53 стр.

Използвани съкращения:

ВБИ – вътреболнични инфекции

ЕС – Европейски съюз

МБАЛ – многопрофилна болница за активно лечение

МО – микроорганизъм

МДЛ – медико-диагностична лаборатория

РЗИ – регионална здравна инспекция

СМДЛ – самостоятелна медико-диагностична лаборатория

УИ – уроинфекции

УТ – уринарен тракт

A – Ampicillin, ампицилин

AM – Amikacin, амикацин

AMC – Amoxicillin/clavulanic acid, амоксицилин/клавуланова киселина

A/S – Ampicillin/Sulbactam, ампицилин/сулбактам

BulSTAR – Bulgarian Surveillance Tracking of Antimicrobial Resistance, Българска национална система за надзор на антимикробната резистентност

CAZ – Ceftazidime, цефтазидим

CCL – Cefaclor, цефаклор

CF – Cephalothin, цефалотин

CPR – Cefprozil, цефпрозил

CRO – Ceftriaxone, цефтриаксон

CX – Cefuroxime, цефуроксим

EARSS – European Antimicrobial Resistance Surveillance System, Европейската система за наблюдение на антимикробната резистентност

ESBL – extended spectrum beta-lactamase, широкоспектърна бета-лактамаза

FOX – Cefoxitin, цефокситин

G – Gentamicin, гентамицин

G- - грам-отрицателен (микроорганизъм)

G+ - грам-положителен (микроорганизъм)

HPA – Health Protection Agency, Агенцията за здравна защита

LEV – Levofloxacin, левофлоксацин

MIC (minimal inhibitory concentration) – минимална подтискаща концентрация

MRSA - methicillin-resistant Staphylococcus aureus, метицилин-резистентни *S. aureus*

NF – Nitrofurantoin, нитрофурантоин

NX – Nelidix acid, налидиксова киселина

PI – Piperacillin, пиперацилин

SXT – Trimethoprim/sulfamethoxazole, триметоприм/сулфаметоксазол

TZP – Piperacillin/tazobactam, пиперацилин/тазобактам

1. Въведение.

Инфекциите на пикочните пътища са сред най-честите инфекции при амбулаторни и хоспитализирани пациенти (Akram, M., 2007; Stamm, W., 2001). Те могат да доведат до сериозни усложнения при кърмачета и по-големи деца (Wald, E., 2004). Смята се, че около 150 млн. души страдат от инфекции на уринарния тракт годишно в света (Hamze, M., 2012; Stamm, W., 2001).

Основни причинители на уроинфекции са Грам-отрицателните микроорганизми от сем. *Enterobacteriaceae* – *Escherichia coli* (около 80% от амбулаторните пациенти, 40% при вътреболничните инфекции), *Klebsiella spp.* и в значително по-малка степен *Proteus mirabilis*, *Serratia spp.* и др. С по-ниска честота се срещат и други Грам-отрицателни патогени *Pseudomonas spp.*, *Enterobacter spp.*, *Neisseria gonorrhoeae* и др. *Staphylococcus aureus*, някои представители на родовете *Streptococcus* и *Enterococcus* са основните Грам-положителни причинители на инфекции на отделителната система.

Основният антибиотичен подход за лечение на уроинфекциите са β -лактамните антибиотици – пеницилини, III поколение цефалоспорини, широко се прилагат и флуорохинолоните.

През 60-те години на миналия век започва широко да се говори за поява на Грам-отрицателни микроорганизми, представители на сем. *Enterobacteriaceae*, които произвеждат т.нар. пеницилинази – ензими, които могат да хидролизират пеницилините и да ги обезвредят. Тези микроорганизми проявяват резистентност към пеницилин. По-късно са открити и други ензими, способстващи за неутрализирането на други групи β -лактамни антибиотици, докато през 80-те години в Европа вече се говори за широкоспектърни β -лактамаза (ESBL) произвеждащи микроорганизми, които имат способността да хидролизират β -лактамния пръстен на голяма част от антибиотичите, масово използвани за лечение на бактериални инфекции, вкл. и уроинфекции (Shah, P., 1983; Jarlier, V., 1988) . ESBL-ензимите хидролизират пеницилини, цефалоспорини, монобактами (азтреонам) (Munoz-Price, S., 2014). Към средата на 80-те години тези щамове са документирани вече и в Съединените Американски Щати (Jacoby, G., 1988; Quinn, J., 1989), а днес ESBLs са вече повсеместно разпространени в целия свят (Colodner, R., 2004; Livermore, D., 2003) и представляват глобален проблем за общественото здраве (Bradford, P., 2001).

Основните ESBL-щамове са на *Klebsiella spp.* (главно *Klebsilla pneumoniae*) и тези на *Escherichia coli*. Относно уроинфекциите, *E. coli* в редица проучвания е основен носител на широкоспектърни β -лактамази.

Много щамове полирезистентни микроорганизми са резистентни не само към бета-лактамните антибиотици, но и към аминогликозидите, хинолоните и др. Огромна част от антибиотиците стават неприложими за тяхното лечение.

Редовното информиране за проблемите, свързани с полирезистентните причинители, начините за превенция и лечение на заболяванията, причинени от тях, са основа за всички последващи мероприятия.

2. Цел и задачи.

Целта на настоящата разработка е да се характеризират широкоспектърните β -лактамаза произвеждащи микроорганизми (ESBLs), причинители на уроинфекции при амбулаторни пациенти в детска възраст.

За осъществяване на тази цел са поставени следните **задачи**:

1. Да се охарактеризират конкретните антибиотични препарати и β -лактамната група, към която спадат, които не са ефективни спрямо ESBL-щамовете и съответно тези, които все още могат ефективно да се прилагат в борбата с тези бактерии.
2. Да се установи дялът по видове на широкоспектърните β -лактамаза произвеждащи щамове, спрямо нерезистентните причинители на уроинфекции при деца.
3. Да се изследва заболяемостта от уроинфекции в детска възраст, причинени от ESBL-продуциращи и непродуциращи микроорганизми, разпределени по пол.
4. Да се изследва заболяемостта от уроинфекции в детска възраст, причинени от ESBL-продуциращи и непродуциращи микроорганизми, разпределени по възрастови групи.

3. Материали и методи.

Материали: За целите на настоящото изследване са включени 4 204 клинични проби урина, диагностицирани в периода 2010 - 2012 година. Всички проби урина са

получени от пациенти в детска възраст и изследвани в СМДЛ „Лаборекспрес 2000” – 3 702 проби, МБЛ „Св. Анна” – 353 проби и РЗИ - Варна – 149 проби. По-голямата част от изолатите са Грам-отрицателни щамове, някои от тях ESBL-продуциращи, принадлежащи към сем. *Enterobacteriaceae*: *Escherichia coli* (n = 408), *Klebsiella spp.* (n = 98) и други щамове от това семейство, като *Proteus spp.* (n = 201), *Citrobacter spp.* (n = 4), *Morganella spp.* (n = 5), *Providencia spp.* (n = 1), *Enterobacter spp.* (n = 20). Част от пробите са видове Грам-негативни бактерии, принадлежащи към други семейства, като *Haemophilus spp.* (n = 1), *Pseudomonas spp.* (n = 41), *Acinetobacter spp.* (n = 1), също така Грам-положителни щамове – *Streptococcus spp.* (n = 7), *Staphylococcus spp.* (n = 12), *Enterococcus spp.* (n = 45), *Micrococcus spp.* (n = 1) и гъби, представители на род *Candida* (n = 16).

Използваните в настоящия дисертационен труд **методи** са:

- Документален метод – в хода на настоящото изследване осъществихме аналитичен преглед на медицинска документация, предоставена от опоменатите по-горе лаборатории, касаеща разглежданите уринни проби и цялата информация свързана с тях. Бяха използвани и някои нормативни документи, имащи отношение основно към правила за превенция и контрол на инфекции причинени от полирезистентни щамове, както и статии, доклади, книги, учебници и други видове научна литература, свързана с темата на настоящата разработка.
- Статистически метод – статистическата обработка на данните и представянето им в таблици и графики е осъществена с компютърната програма Microsoft Office Excel 2007.

4. Резултати и обсъждане.

1. Общи данни.

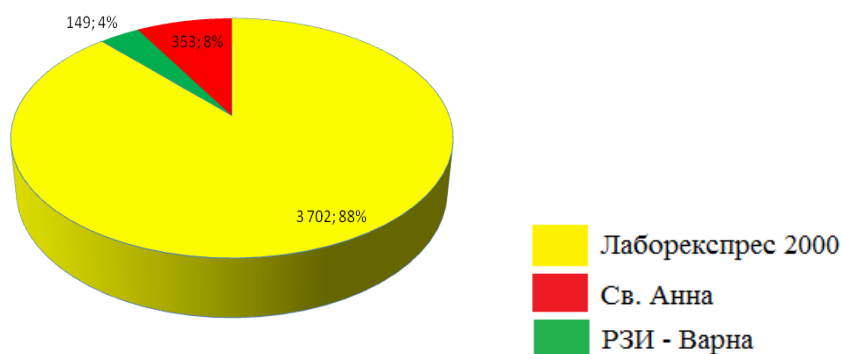
На Таблица 1 са представени всички проби урина (по брой), на базата на които е направено настоящето проучване, предоставени от СМДЛ „Лаборекспрес 2000”, медико-диагностична лаборатория „Св. Анна”, МДЛ “РЗИ-Варна” в период от 3 последователни години – 2010-2012 година. Пробите са взети от пациенти в детска възраст – до 18-годишна възраст, като пациентите ползващи услугите им в МДЛ „Лаборекспрес 2000” и “РЗИ-Варна” са предимно амбулаторни, докато лаборатория

„Св. Анна” се ползва за нуждите на хоспитализираните пациенти в МБАЛ „Св. Анна”- Варна.

Таблица 1. Брой изследвани проби урина на пациенти в детска възраст по медико-диагностични лаборатории в периода 2010-2012 год.

МД лаборатория	Брой изследвани проби		
„Лабorexпрес 2000”	2010	1 329	3 702
	2011	1 702	
	2012	671	
“Св. Анна”	2010	44	353
	2011	134	
	2012	175	
„РЗИ – Варна”	2010	84	149
	2011	47	
	2012	18	
Общо			4 204

Резултатите представени на Таблица 1 отразяват, че за изследвания период диагностицираните проби урина взети от пациенти в детска възраст в СМДЛ „Лабorexпрес 2000” са 3 702 броя, в МДЛ „Св. Анна - 353 броя и в МДЛ „РЗИ-Варна” – 149 броя, като общият им брой е 4 204.



Фигура 1. Изследвани проби урина по медико-диагностични лаборатории в периода 2010-2012 година (разпределение по брой и дял в %).

На Фигура 1 тези стойности са отразени, както в брой проби, така и в процентен дял. От нея можем да коментираме, че 88% от изследваните проби са предоставени от СМДЛ „Лаборекспрес”, а от МДЛ „Св. Анна” и МДЛ „РЗИ-Варна” – съответно 8% и 4%.

2. Положителни за наличие на инфекциозен причинител проби урина.

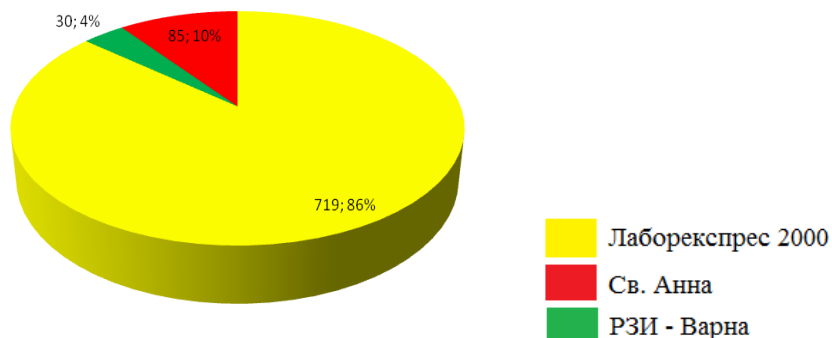
На Таблица 2 са представени броя на диагностицираните положителни проби за бактериална или друг вид инфекция, както и техният дял спрямо всички изследвани проби.

Таблица 2. Брой положителни за наличие на инфекциозен причинител проби от всички изследвани проби урина на пациенти в детска възраст (2010-2012 година).

МД лаборатория	Брой изследвани проби			Положителни проби		
	Година	Брой	Общо	Година	Брой	Общо
„Лаборекспрес 2000”	2010	1 329	3 702	2010	268	719
	2011	1 702		2011	240	
	2012	671		2012	211	
„Св. Анна”	2010	44	353	2010	10	85
	2011	134		2011	39	
	2012	175		2012	36	
„РЗИ-Варна”	2010	84	149	2010	15	30
	2011	47		2011	11	
	2012	18		2012	4	
Общо		4 204			834	

Общия брой и дял на положителните проби една спрямо друга са представени на Фигура 2.

Процентното съотношение на положителните за инфекциозни причинители проби урина една спрямо друга, предоставени от медико-диагностични лаборатории „Лаборекспрес 2000”, „Св. Анна”, „РЗИ-Варна” са съответно 86%,10% и 4%.



Фигура 2. Брой и процентен дял на положителните проби урина.

С Таблица 2 се онаглеждава, че от СМДЛ „Лаборекспрес 2000” от изследваните за периода 3 702 проби урина от деца 719 са положителни за наличие на инфекциозен причинител, което представлява 19% от тях. От 353 изследвани проби в МДЛ „Св. Анна” 85 са положителни по същия показател, т.е. 24%, а в МДЛ „РЗИ-Варна” от 149 изследвани проби 30 са положителни – 20%. Общият брой на всички изследвани проби е 4 204, като 834 от тях са положителни за наличие на инфекциозен причинител – 19,8%. От трите представени процентни дялове, можем да обобщим, че приблизително при 1/5 или около 20 % от децата с оплаквания, свързани с отделителната система има наличие на уроинфекция, причинена и/или придружена от болестотворни микроорганизми. При останалите пациенти симптоматиката се основава на други причини – вероятно травма, аномалии при новородени, заболявания в други органи и системи и др.

Проследявайки тези показатели по години в изследвания период, можем да отбележим, че в СМДЛ „Лаборекспрес 2000” изследваните уринни проби през 2010 година са били 1 329, 2011 година се наблюдава покачване – 1 702, а през 2012 година намаляват почти тройно – 671 броя. Независимо от това намаляване броя на изследваните проби, този на получените положителни се задържа в сравнително стабилни стойности – 268 през 2010 година (20% от изследваните са положителни), а 2012 – 211 положителни от изследваните, т.е. 31%.

В МДЛ „Св. Анна” броя на изследваните проби е в прогресия от 2010 до 2012 година – съответно през трите последователни години стойностите са 44, 134 и 175 броя проби урина. Покачва се и броя на положителните за инфекциозен причинител резултати – през 2010 година 10, т.е. 11% от изследваните, през 2012 година 36 – 20%.

В МДЛ „РЗИ-Варна” броя на изследваните уринни проби от деца намалява през годините от разглеждания период – през 2010 – 84 проби, 2011 – 47 и през 2012 година

– 18 проби урина. Получените положителни резултати като брой също намаляват, а като процент от изследваните 2010 година са 17% от изследваните са положителни за наличието на бактерии или друг вид инфекциозен причинител, през 2012 година по същия показател този процент е 22%.

При разглеждане на тези стойности от трите МДЛ общо можем да отбележим, че в началото на изследвания период 2010 година от 1 457 изследвани проби урина в трите лаборатории 293 броя са положителни – 20% от тях, а през 2012 година – от 864 изследвани 251 са положителни, т.е. 29 %. Съпоставянето на броя на положителните проби с общия брой на всички изследвани в съответните лаборатории и общо по години показва, че се наблюдава покачване на дяла на бактериалните и гъбични инфекции, като причина за оплаквания, свързани с отделителната система при пациентите в детска възраст.

3. Детектирани ESBL-щамове от всички положителни проби.

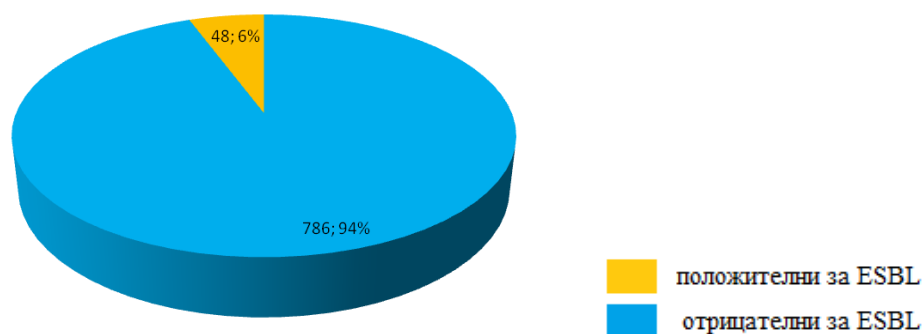
На Таблица 3 са представени броя на детектираните ESBL-щамове от положителните проби.

Таблица 3. Брой ESBL-клинични изолати от положителните за инфекциозни причинители проби урина.

МД лаборатория	Положителни проби	ESBL от положителните		
		2010	2011	2012
„Лабorexпрес 2000“	719	2010	19	44
		2011	14	
		2012	11	
„Св. Анна“	85	2010	1	4
		2011	2	
		2012	1	
„РЗИ-Варна“	30	2010	0	0
		2011	0	
		2012	0	
Общо	834			48

От Таблица 3 можем да отбележим, че в СДМЛ „Лаборекспрес 2000” от 719 броя диагностицирани проби урина взети от пациенти в детска възраст 424 са тествани с по-горе посочените фенотипни методи за притежание на ензимите широкоспектърни бета-лактамази, което представлява 59% от тях. Останалите клинични изолати са видове бактерии несвойствени за притежание на ESBL-ензими (напр. Грам-положителна флора, гъби от род *Candida* и други), поради което те не са тествани по този показател. 44 броя от подложените на фенотипни тестове щамове са детектирани като широкоспектърни бета-лактамаза-съдържащи, което представлява 6 % от тях. От получените 85 броя положителни проби в МДЛ „Св. Анна” в 4 клинични изолата са доказани ензимите ESBL, което представлява 5% от тях. В МДЛ „РЗИ-Варна” не е детектиран нито един от изолираните инфекциозни причинители в диагностицираните проби урина, като такъв съдържащ широкоспектърни бета-лактамази. Броя и процентното съотношение на ESBL-положителните проби една спрямо друга получени в медико-диагностичните лаборатории „Лаборекспрес 2000” и „Св. Анна” са съответно 92% и 8%.

Общия брой на положителните за наличие на инфекциозен причинител проби урина от трите медико-диагностични лаборатории е 834 броя и от тях 48 са с доказани ESBL-ензими – 6%. Тези стойности и процентни съотношения са представени на Фигура 3.



Фигура 3. Брой и процентен дял на съдържащите и несъдържащи ESBL-ензими щамове в положителните за инфекциозен причинител проби урина.

На базата на отразените в Таблица 3 и Фигура 3 данни, показващи, че средно 6 % от инфекциозните микроорганизми, причиняващи уроинфекции при амбулаторни пациенти (СМДЛ „Лаборекспрес 2000”) в детска възраст, имат способността да

произвеждат ензимите широкоспектърни бета-лактамази. Този процент на този етап е сравнително нисък, сравнен с отразените в редица изследвания направени в България и други страни, някои от тях цитирани в литературния обзор, за дялът ESBLs сред хоспитализираните пациенти, който варира най-често между 20-30 %, за някои щамове достига дори застрашителните 50 % от клиничните изолати (Coque, T., 2008, Lehner, S., 2009). От друга страна обаче по-високият дял на ESBLs в болничната среда е напълно обясним, тъй като такъв тип мултирезистентни бактерии са характерни именно за причинители на ВБИ, както и изключително актуалните в момента щамове на *S. aureus* – MRSA и редица други бактериални видове. По данни на Европейската система за наблюдение на антимикробната резистентност (EARSS), 2,6% от щамове *E.coli* и 1,7% от *K. pneumoniae* в Швеция са резистентни към цефалоспоринови от трето поколение през 2010 г. (EARSS, 2011). От тази позиция дори и този 6 %-ен дял, отразен при амбулаторните пациенти (изследваните проби в РЗИ-Варна и „Лаборекспрес 2000” са предимно или изключително представени от амбулаторни пациенти) е висок, защото ясно показва, че тези устойчиви бактерии са излезли извън болничната среда и стабилно се проявяват вече и при така наречените инфекции „в обществото” и при евентуално невземане на съответните мерки вероятно този процент ще нараства с всяка година, тъй като тези щамове се отличават с високата си адаптивност и бързо нарастващия си дял за сметка на по-неустойчивите клинични изолати от същия вид (Aktas, Z., 2008).

Резултатите от МДЛ „Св. Анна”, които отразяват пробите от хоспитализираните пациенти в проучването, показват 5 % ESBL-изолати от всички детектирани положителни проби – за ВБИ този дял сравнен с данни от други проучвания е нисък, като причините в случая може да са както добрата превенция и спазването на адекватни и ефективни хигиенни мероприятия, така и недобре разработена методика за детекция на този тип мултирезистентни бактериални щамове.

4. Разпределение по пол.

Всички положителни за наличие на инфекциозен причинител проби урина, както и съдържащите се в тях детектираните ESBL-щамове ще бъдат разпределени по пол.

Таблица 4. Разпределение по пол на пациенти в детска възраст с диагностицирана уроинфекция, причинена от ESBL-щамове и други – несъдържащи широкоспектърни бета-лактамази щамове.

МД лаборатория	Пол	Година		Положителни проби	Година		От тях ESBL
		2010	2011		2010	2011	
„Лабorexпрес 2000”	момчета	2010	161	423	2010	10	30
		2011	137		2011	12	
		2012	125		2012	8	
	момчета	2010	107	296	2010	9	14
		2011	103		2011	2	
		2012	86		2012	3	
„Св. Анна”	момчета	2010	8	52	2010	0	2
		2011	23		2011	1	
		2012	21		2012	1	
	момчета	2010	2	32	2010	1	2
		2011	15		2011	1	
		2012	15		2012	0	
„РЗИ – Варна”	момчета	2010	12	18	2010	0	0
		2011	6		2011	0	
		2012	0		2012	0	
	момчета	2010	3	12	2010	0	0
		2011	5		2011	0	
		2012	4		2012	0	
Общо	момчета	2010	181	493	2010	10	32
		2011	166		2011	13	
		2012	146		2012	9	
	момчета	2010	112	340	2010	10	16
		2011	123		2011	3	
		2012	105		2012	3	

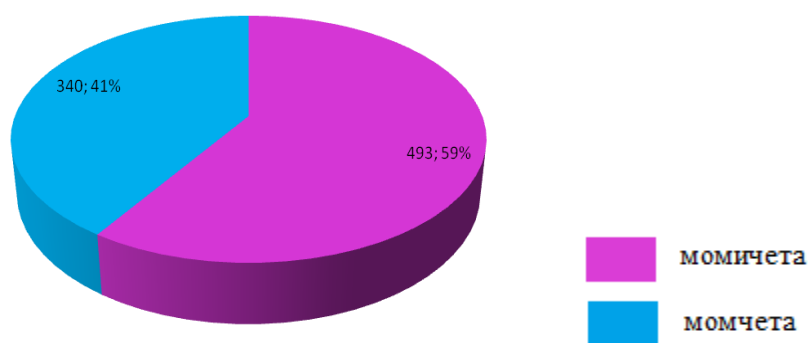
На Таблица 4 е представено, че в СМДЛ „Лаборекспрес 2000” от всички проби урина от пациенти в детска възраст с доказани инфекциозни изолати през изследвания период разпределението по пол е 423 момичета и 296 момчета, т.е. при пациентите от женски пол в детска възраст уроинфекциите са по-чести. От момичетата 30 са с детектирана ESBL-инфекция – т.е. 7 %, а от момчетата – 14 броя, което представлява 5 % от тях. Наблюдава се не особено значителен превес на уроинфекциите, причинени от щамове съдържащи широкоспектърни бета-лактамази при пациентите от женски пол.

В МДЛ „Св. Анна” отново има по-голям брой момичета с доказана уроинфекция - броя на момичетата с потвърдена инфекция е 52, 2 броя от причинителите са ESBLs, т.е. 3,8 %, при 32 момчета с потвърдена бактериална или друга инфекция отново 2 броя са ESBLs, т.е. 6 %. Тук превеса е за сметка на момчетата, отново с приблизително 2 %, но и броя на детектираните резистентни бактерии е много малък, за да направим по-категорични изводи.

В МДЛ „РЗИ-Варна” броя на пациентите в детска възраст от женски пол отново е по-висок от този на пациентите от мъжки, съответно 18 и 12 души. В лабораторията няма детектирани бактерии, съдържащи широкоспектърни бета-лактамази.

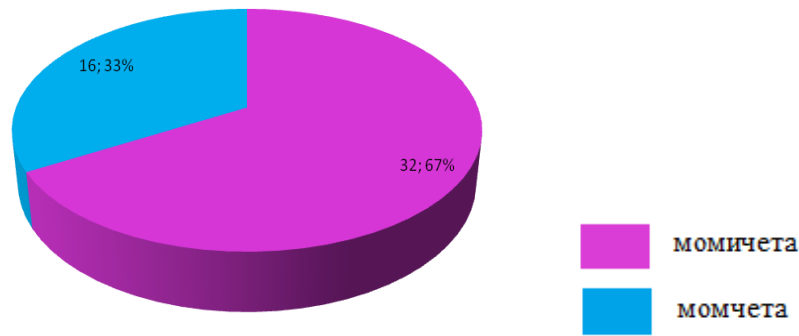
От общо 493 момичета с положителна уринна проба за инфекция, изследвани в трите лаборатории 32 са ESBLs, което е 6,5 %, а при момчетата – от 340 проби 16 са с доказани мултирезистентни щамове от вида, т.е. 4,7 %.

На Фигура 4 са отразени пациентите в детска възраст с уроинфекция и тяхното процентно съотношение по пол.



Фигура 4. Разпределение по пол на пациенти с уроинфекции в детска възраст.

На Фигура 5 е онагледено разпределението по пол на пациентите с ESBL-инфекция в разглежданата възрастова група.



Фигура 5. Разпределение по пол на пациенти с ESBL-уроинфекции в детска възраст.

От данните, онагледени на Таблица 4 и Фигури 4 и 5, можем направим два основни извода, като първия е, че при пациентите от 0-18 години заболяванията на отделителната система, дължащи се на инфектиране с болестотворни микроорганизми са по-чести при момичетата, отколкото при пациентите от мъжки пол. Както бе отразено в литературната справка през различните възрасти в този период те варират и разпределението по пол се променя, но разглеждайки го като цяло момичетата са по-склонни на заболяване от този вид инфекция. Другият основен извод е, че при пациентите в детска възраст от женски пол се наблюдава малък превес от 2 % на детектираните ESBL-изолати, т.е. 6,5 % при тях и 4,7% при момчетата от същата разглеждана група.

От Таблица 4 можем да отбележим също така и разпределението на получените положителни инфекциозни проби, както и ESBL-положителните през трите години, които обхваща разглежданият период.

В СДМЛ „Лаборекспрес 2000” и при пациентите от женски и при тези от мъжки пол се наблюдава една ясна тенденция на намаляване броя на диагностицираните положителни проби, броя на ESBLs също по-скоро намалява, но там и стойностите са сравнително малки и съответно прекалено близки за по-отчетливи изводи. От Таблица 2 можем да видим, че броя на всички изследвани през 2011 бележи завишение за сметка на 2010 година, но след това през 2012 се наблюдава рязък трикратен спад, така че по-горе коментираните намаляващи стойности на положителните проби по пол на пациентите всъщност е закономерно и с този факт.

В МДЛ „Св. Анна” тенденцията е точно обратна на коментираната в „Лаборекспрес 2000” – там броя на положителните проби и при двата пола през трите последователни години по-скоро нараства, което обаче по същата линия е закономерно и с покачване на

общия брой на всички изследвани проби в тази лаборатория от 2010 към 2012 година – от 44 на 175 броя (Таблица 2). За тенденции на покачване или намаляване на ESBLs по пол и години тук не може да се коментира, тъй като общо изолатите са само 4 броя и са разпределени по 1 в 4 години от изследвания период.

В МДЛ „РЗИ-Варна” през изследвания период броя на момчетата през трите години намалява (2010 – 12 броя, 2012 година – 0), а броя на пациентите от мъжки пол е сравнително стабилен с много близки стойности (последователно през трите години 3, 5 и 4 души). Както бе посочено, в лабораторията ESBL-изолати не са детектирани.

Общите стойности на броя на пациентите от женски пол намаляват през трите изследвани години с приблизително 20 души, а броя на момчетата през 2011 съпоставена с 2010 се покачва с 10 души и след това с 20 намалява през 2012. Относно броя на ESBLs през трите години при момчетата първо се покачва след това има спад – от 2010 – 2012 година съответно 10, 13 и 9), а при децата от мъжки пол с такъв тип инфекция има спад (2010 година – 10 души, 2011 и 2012 година – по 3-ма души).

От Таблица 4 изводите, които можем да направим за разпределението по пол на пациентите в детска възраст с доказана уроинфекция разпределени в трите години от изследвания период 2010-2012 година, не са с ясно подчертана тенденциозна насоченост в трите лаборатории. От общите стойности можем да отбележим, че броя на пациентките от женски пол с уроинфекция намалява с бавни, но стабилни темпове, а броя на момчетата не бележи ясно очертани изменения, той по-скоро погледнат като цяло е стабилен. Относно броя на ESBL-изолатите през 2010, 2011 и 2012 година при момчетата има спад, а при момичетата насоката е противоречива – има увеличение, последвано от спад.

5. Разпределение по възрастови групи.

Таблица 5 отразява разпределението на изследваната група пациенти с уроинфекции по възрастови групи.

Обособени са следните възрастови групи в години: 0, 1-3, 4-5, 6-11, 12-14, 15-18. Това, което може да отбележим по данните отразени в Таблица 5 е, че броя на кърмачетата под 1 годишна възраст е доста висок, което се припокрива и с много други изследвания, относно уроинфекциите, засягащи пациенти в детска възраст.

Таблица 5. Разпределение по възрастови групи на пациенти в детска възраст с диагностицирана уроинфекция, (в червен шрифт е отразен броя на ESBL-клиничните изолати от общия брой на положителните проби)

Възрастова група/ МД Лаборатория	Лаборекспрес 2000			Св. Анна			РЗИ - Варна			Общо
	Година	Брой (ESBL)	Брой (общ)	Година	Брой (ESBL)	Брой (общ)	Година	Брой (ESBL)	Брой (общ)	
0	2010	40 (4)	103 (13)	2010	0 (0)	13 (13)	2010	4 (4)	11 (11)	127 (13)
	2011	26 (4)		2011	6 (6)		2011	3 (3)		
	2012	37 (5)		2012	7 (7)		2012	4 (4)		
1 – 3	2010	48 (4)	224 (11)	2010	5 (0)	28 (2)	2010	6 (6)	12 (12)	264 (13)
	2011	90 (3)		2011	10 (1)		2011	6 (6)		
	2012	86 (4)		2012	13 (1)		2012	0 (0)		
4 – 5	2010	75 (8)	163 (13)	2010	0 (0)	7 (7)	2010	3 (3)	4 (4)	174 (13)
	2011	56 (4)		2011	5 (5)		2011	1 (1)		
	2012	32 (1)		2012	2 (2)		2012	0 (0)		
6 – 11	2010	80 (2)	170 (5)	2010	0 (0)	14 (1)	2010	0 (0)	0 (0)	184 (6)
	2011	40 (2)		2011	6 (1)		2011	0 (0)		
	2012	50 (1)		2012	8 (0)		2012	0 (0)		
12 – 14	2010	18 (1)	37 (1)	2010	1 (1)	11 (11)	2010	0 (0)	0 (0)	48 (1)
	2011	15 (0)		2011	8 (8)		2011	0 (0)		
	2012	4 (0)		2012	2 (2)		2012	0 (0)		
15 – 18	2010	7 (0)	22 (1)	2010	4 (1)	12 (1)	2010	2 (2)	3 (3)	37 (2)
	2011	13 (1)		2011	4 (0)		2011	1 (1)		
	2012	2 (0)		2012	4 (0)		2012	0 (0)		
Общо		719 (44)			85 (4)			30 (30)	834 (48)	

Тези стойности за СМДЛ „Лаборекспрес 2000” са 103 души от общо 719 диагностицирани положителни проби в лабораторията (14 % от тях). В МДЛ „Св.

„Анна” пациентите в кърмаческа възраст с потвърдена уроинфекция са 13 души от общо положителни резултати в лабораторията 85, т.е. 15 %, а в МДЛ „РЗИ-Варна” тази стойност е 11 от 30 души (36 %).

Много ясно отразяват данните и от трите лаборатории, че най-голям дял имат пациентите във възрастовата група между 1-3 години. В СМДЛ „Лаборекспрес 2000” те са 224 от 719 души (31 %), в МДЛ „Св. Анна” – 28 от 85 пациента с положителна проба за уроинфекция, т.е. 32 %, а в МДЛ „РЗИ-Варна” – 12 от 30 души (40 % от положителните проби урина).

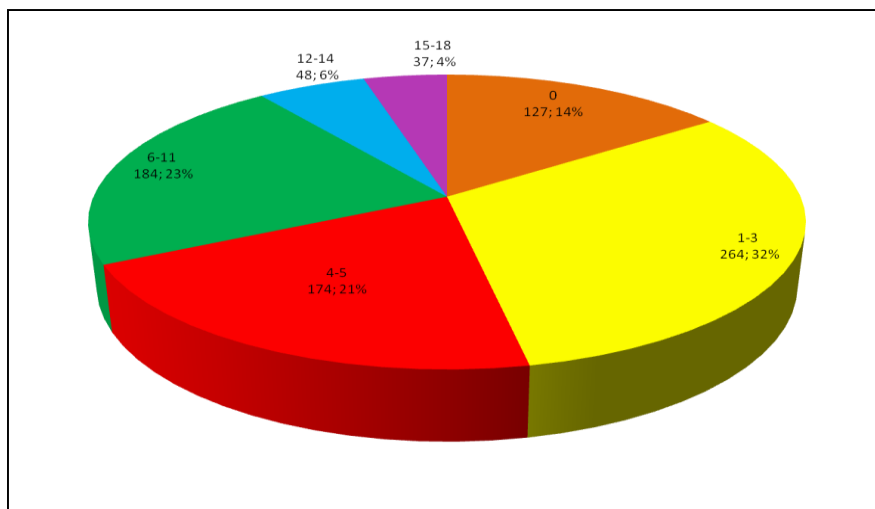
Възрастовите групи 4-5 и 6-11 и в трите лаборатории също не са с малък брой, в СМДЛ „Лаборекспрес 2000” те са съответно 22 % и 23 %, но като се има в предвид, че и все пак възрастовата група 6-11 години обхваща един доста по-голям диапазон от години (6 за разлика от 1 при кърмаческата възраст и 3 в останалите коментирани групи). В МДЛ „Св. Анна” възрастовата група 4-5 години представлява 8 % от пациентите с положителни урини (7 от 85 души), а децата с уроинфекции между 6-11 години са 16 % (14 души). В МДЛ „РЗИ-Варна” от общо 30 пациента с диагностицирани инфекциозни причинители в урината, броя на пациентите попадащи във възрастовата група 4-5 години е 4 (13 %). Няма пациенти с положителна проба, които да попадат във възрастовата група 6-11 години, диагностицирани в лабораторията за изследвания период.

С най-малък брой са пациентите с положителни уринни проби попадащи във възрастовите групи 12-14 и 15-18 години. В СМДЛ „Лаборекспрес 2000” от общо 719 положителни за инфекциозен изолат проби във възрастовата група 12-14 години попадат 37 души, което представлява 5 % от тях, а в тази 15-18 години – 22 души (3 %). В МДЛ „Св. Анна” от 85-те души възрастовата група 12-14 години съставят 12 % от тях (11 души), а тази 15-18 години – 14 % (12 души). В МДЛ „РЗИ-Варна” няма положителни проби на пациенти в детска възраст, които попадат във възрастовата група 12-14 години, а тези от тях между 15-18 години са 3-ма души – те са 10 % от общия брой 30 пациента.

Фигура 6 онагледява данните, отразяващи разпределението по възрастови групи общо за трите медико-диагностични лаборатории.

Данните отразяващи разпределението по възрастови групи общо за трите медико-диагностични лаборатории показват същите доста еднозначни и добре обособени резултати.

Диагностицирани са общо 834 положителни проби в трите лаборатории.

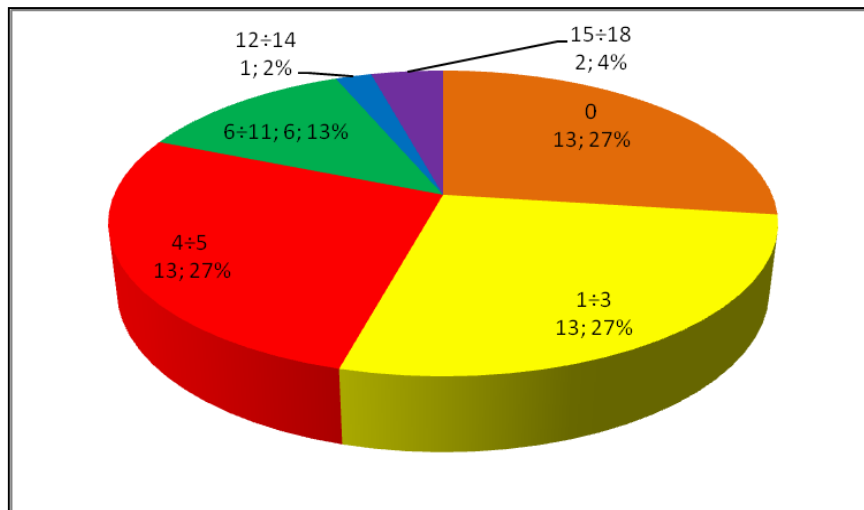


Фигура 6. Разпределение по възрастови групи на пациенти в детска възраст с диагностицирана уроинфекция.

От тях кърмачетата с положителна проба са сравнително висок дял – 15 % (127 души), децата, попадащи във възрастовата група 1-3 години са най-голям брой 264 (31 %), възрастовите групи 4-5 и 6-11 години са с близки стойности – съответно 174 души (20 %) и 184 души (22%). С най-малък дял са възрастовите групи 12-14 и 15-18 години – в тях попадат съответно 48 души (5 %) и 37 души (4 %).

Изводи, които можем да направим от представените по-горе данни, отразяващи пациентите с положителни проби по възрастови групи са, че дялът на пациентите в кърмаческа възраст с диагностицирани уроинфекции е доста висок – той е средно 15 %, а както е известно лабилността на имунната система на децата в тази възраст от една страна е именно предпоставка за тези високи стойности, но от друга ясно показва колко сериозни последствия може да има една такава инфекция в тази възраст, особено ако се допусне тя да хронифицира във времето. Именно затова трябва да се вземат сериозни превантивни мерки в това направление. Данните показват най-висок дял на пациентите във възрастовата група 1-3 годишна възраст от всички изследвани в детска възраст и с диагностицирана уроинфекция, те представляват около 1/3 от пациентите с уроинфекция. Пациентите с положителни проби, попадащи във възрастовите групи 4-5 и 6-11 години са средно около 20 % и ясно се очертава, че с най-малък брой са пациентите с положителни уринни проби попадащи във възрастовите групи 12-14 и 15-18 години – 4 – 5 % от всички положителни проби.

Относно разпределението по възрастови групи на пациентите с детектирана ESBL-инфекция получените резултати са в някои отношения сходни с тези при общите данни за всички положителни за уроинфекция пациенти в детска възраст. В двете лаборатории, в които са детектирани резистентните бактерии - СМДЛ „Лаборекспрес 2000” и МДЛ „Св. Анна” са изолирани общо 48 щамове. Техния дял от всички получени положителни уринни проби в трите лаборатории показва, че дяла на кърмачетата (0 години), възрастовите групи 1-3 и 4-5 години са еднакви – 27 % (по 13 души в група), възрастовата група от 6-11 години има средни стойности – 12 % (6 души) и тук отново с най-малък дял са пациентите между 12-14 години и 15-18 години – съответно 2 % (1 пациент) и 4 % (2-ма души). Тези данни са отразени и на Фигура 7.



Фигура 7. Разпределение по възрастови групи на пациенти в детска възраст с диагностицирана уроинфекция, причинена от ESBL-щамове.

Разпределението по възрастови групи на пациентите с уроинфекция, причинена от ESBL-изолати не се отличава особено от това на всички останали пациенти с диагностицирана уроинфекция. Данните от трите лаборатории показват, че и в двата случая дялът на кърмачетата (до 1 год) е висок, при пациентите с ESBL-инфекция е още по-завишен и изравнен с групата, която заема най-голям дял при всички положителни проби – 1-3 години. При пациентите с ESBL-инфекция трите възрастови групи, които обхващат децата между 0-5 години (0, 1-3 и 4-5) са с еднакъв дял и при пациентите от 6-годишна възраст нагоре дялът на тези с уроинфекция, причинена от тези щамове резистентни бактерии рязко спада – първоначално двойно във възрастовата група 6-11 години и от там значително повече. С най-малък дял и в двата случая са възрастовите групи, които обхващат пациентите от 12-14 и 15-18 години (2-5 % от всички

положителни проби урина). Няма ясно очертани тенденции при възрастовата структура.

6. Разпределение по вид микроорганизъм, причинител на уроинфекцията.

Таблица 6. Разпределение на уринните проби взети от пациенти в детска възраст по вида на микроорганизма, причинител на уроинфекцията.

Вид микроорганизъм	МД лаборатория			Общо
	Лаборекспрес 2000	РЗИ-Варна	Св. Анна	
Грам-отрицателни (G-)				
<i>Escherichia coli</i>	367 (21)	7	34 (1)	408 (22)
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	63 (12)	2	7 (2)	72 (14)
<i>Klebsiella oxytoca</i>	15 (4)	-	1	16 (4)
<i>Klebsiella gr. 47</i>	4	-	-	4
<i>Klebsiella spp.</i>	6	-	-	6
<i>Proteus mirabilis</i>	154	17	7	178
<i>Proteus vulgaris</i>	21	-	-	21
<i>Proteus spp.</i>	2	-	-	2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	29		12	41
<i>Acinetobacter baumannii</i>	-	-	1	1
<i>Morganella morganii</i>	4 (1)	-	1	5 (1)
<i>Providencia stuartii</i>	-	-	1	1
<i>Citrobacter diversus</i>	2	-	-	2
<i>Citrobacter freundii</i>	1	-	-	1
<i>Citrobacter amalonaticus</i>	1	-	-	1

<i>Enterobacter aerogenes</i>	6 (5)	2	4	12 (5)
<i>Enterobacter cloacae</i>	4 (1)	-	2 (1)	6 (2)
<i>Enterobacter agglomerans</i>	1	-	-	1
<i>Enterobacter sakazakii</i>	1	-	-	1
<i>Haemophilus spp.</i>	1	-	-	1

Грам-положителни (G+)

<i>Staphylococcus aureus</i>	3	1	1	5
<i>S. saprophyticus</i>	1	-	1	2
<i>Staphylococcus spp. CNS</i>	2	-	1	3
<i>Staphylococcus spp.</i>	2	-	-	2
<i>Streptococcus pyogenes</i>	2	-	-	2
<i>Streptococcus agalactiae</i>	4	-	-	4
<i>Streptococcus spp.</i>	1	-	-	1
<i>Enterococcus faecalis</i>	34	1	10	45
<i>Micrococcus luteus</i>	-	-	1	1
<i>Candida albicans</i>	11	-	-	11
<i>Candida krusei</i>	1	-	-	1
<i>Candida spp.</i>	-	-	4	4
	743 (44) (23-см. мф.-1 с 3 МО)	30	88 (4) (3 – см. мф)	861(48)

Легенда: см. мф –смесена микрофлора

На Таблица 6 е представено разпределение на разглежданите уроинфекции по вида на клиничния изолат.

На Таблица 6 са представени всички проби урина при пациенти в детска възраст, в които е диагностициран клиничен изолат, причинител на уроинфекция – общо положителните проби от трите лаборатории са 834 броя. 26 от пробите са със смесена бактериална флора – 25 са с по 2 инфекциозни причинителя, 1 уринна проба е с 3 вида бактерии, като по този начин броя на изолираните микроорганизми е с 27 по-висок от общия брой на положителните проби, т.е. 861 клинични изолата. Разгледани по медико-диагностични лаборатории от „Лаборекспрес 2000” от 719 положителни проби 23 са със смесена бактериална микрофлора, като една от тях е с 3 различни по вид микроорганизма, общо броя на видовете изолирани бактерии е 743. В „Св. Анна” от 85 положителни проби 3 са със смесена микрофлора, общо броя на клиничните изолати там е 88. В „РЗИ-Варна” има 30 положителни проби и 30 изолирани щам бактерии, т.е. няма проби със смесена бактериална микрофлора. Пробите със смесена флора са описани подробно на Таблица 7.

От нея можем да констатираме някои от взаимовръзките между микроорганизмите, относно склонността им да взаимодействат едни с други, като причинители на уроинфекции в обща среда. Най-честата комбинация в двойните култури е взаимодействието между *Escherichia coli* и *Proteus mirabilis* – при 9 клинични проби от 26. Средната възраст на пациентите с такъв тип инфекция е 4,2 години, а при пола не е открита никаква тенденция към превес на един от двата пола – 5 момичета и 4 момчета. Често се среща и взаимодействието между *Escherichia coli* и *Klebsiella spp.* – в 6 броя от пробите урина – при тях средната възраст на пациентите е 2,4 години, а разпределението по пол е 2 момичета и 4 момчета. Това са двете взаимодействия между бактерии, чиито комбинации в двойна култура ясно преобладават, като причинители на уроинфекции при пациенти в детска възраст. Останалите вариации, представени на Таблица 7 се срещат само по веднъж в описаните проби – те са различни съжителства в обща клинична проба между грам отрицателни, грам положителни бактерии и дори гъби от род *Candida*. Относно обособени тенденции по отношение на пола при пациентите със смесена уроинфекция не може да се говори – половата структура е 15 пациенти от мъжки пол и 11 – от женски. Това, което е по-ясно обособено и прави силно впечатление е, че по-голямата част от пациентите са малки деца – средната възраст на всички разгледани в Таблица 7 е 3,4 години. Това би могло да бъде тема на дискусия и изследване в бъдещи разработки, за да се изяснят в по-голяма степен точните причини за тази зависимост, а именно, че пациентите в по-крехка възраст са по-склонни да развият уроинфекция, причинена от смесена микрофлора. От всички

проби с двойна и тройна диагностицирана култура само две са изследвани за наличие на ESBL-ензими (*K. oxytoca* + *S. agalactiae* и *K. pneumoniae* + *E. faecalis*) и те са отрицателни за наличие на такива.

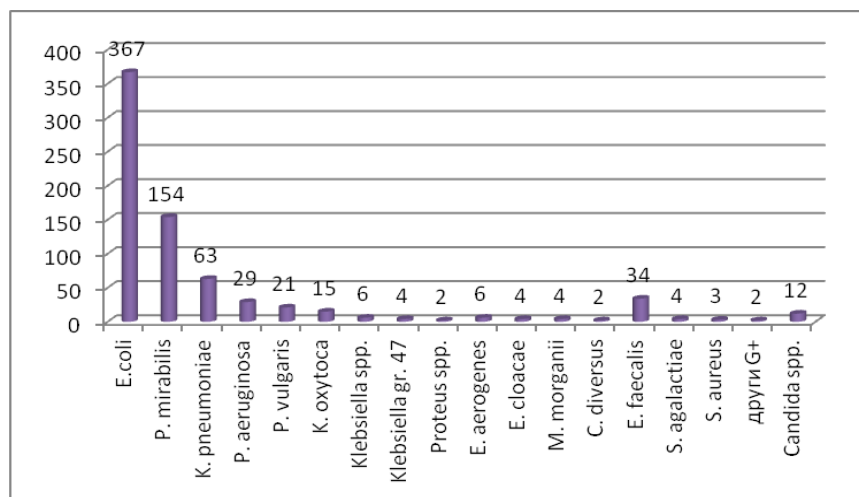
Таблица 7. Положителни за инфекциозен причинител проби урина с двойна и тройна диагностицирана култура.

Вид микроорганизъм	Брой изолати	Възраст пациент	Пол пациент
СМДЛ „Лаборекспрес 2000”			
<i>Escherichia coli</i> + <i>Proteus mirabilis</i>	9	ср.в. 4.2 г.	5 ж, 4 м
<i>Escherichia coli</i> + <i>Klebsiella spp.</i>	6	ср.в. 2.4 г.	2 ж, 4 м
<i>Escherichia coli</i> + <i>Providencia aeruginosa</i>	1	6 г.	м
<i>Escherichia coli</i> + <i>Staphylococcus spp.</i>	1	3 г.	м
<i>Escherichia coli</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>	1	4 г.	м
<i>E. coli</i> + <i>Staphylococcus spp.</i> + <i>Streptococcus spp.</i>	1	17 г.	ж
<i>Klebsiella spp.</i> + <i>Proteus spp.</i>	1	0 г. -11 м.	м
<i>Klebsiella oxytoca</i> + <i>Streptococcus agalactiae</i>	1	3 г.	м
<i>Klebsiella pneumoniae</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>	1	4 г.	ж
<i>Proteus mirabilis</i> + <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1	6 г.	м
МДЛ „Св. Анна”			
<i>Escherichia coli</i> + <i>Providencia stuartii</i>	1	14 г.	ж
<i>Enterobacter aerogenes</i> + <i>Enterococcus faecalis</i>	1	9 г.	ж
<i>Staphylococcus aureus</i> + <i>Candida spp.</i>	1	16 г.	м

Легенда: ср.в. – средна възраст; м – мъж; ж – жена.

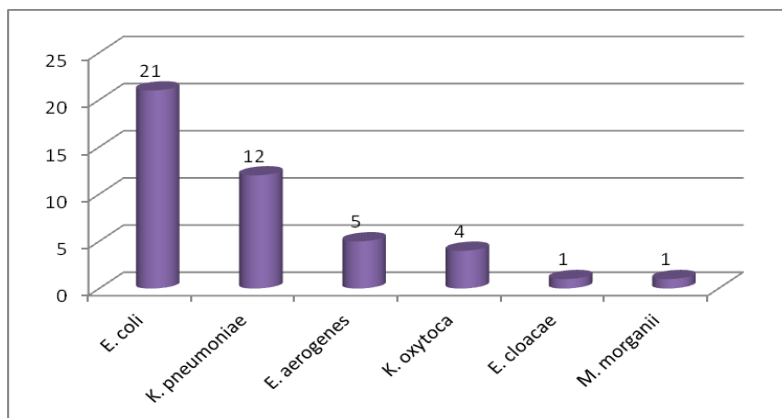
На Таблица 6 са представени по видове всички клинични изолати, които са диагностицирани в трите лаборатории, както и техния брой и дяла от всички положителни проби на някои от тях.

Разгледани по медико-диагностични лаборатории в „Лабorexпрес 2000” са диагностицирани 743 положителни проби урина. С най-голям брой от Грам-отрицателните изолати е *E. coli* – 367 броя, следвани от *P. mirabilis* – 154 и *K. pneumoniae* – 63 броя. *P. aeruginosa* са изолирани от 29 от положителните проби, а *P. vulgaris* – от 21 от тях, *K. oxytoca* – 15, *Klebsiella spp.* – 6 и *Klebsiella gr. 47* – 4 и *Proteus spp.* – 2 броя. Останалите три вида изолати с по-голям брой са *E. aerogenes* – 6 броя, *E. cloacae* – 4, *M. morgani* – 4 и *C. diversus* – 2. Останалите видове се срещат в по 1 изолат от пробите урина, а именно *C. freundii*, *C. amalonaticus*, *E. agglomerans*, *E. sakazakii* и *Haemophilus spp.* От Грам-положителните изолати с най-голям брой са *E. faecalis* – в 34 от пробите, *S. agalactiae* – 4, *S. aureus* – 3. С по два изолата са видовете *Staphylococcus spp. CNS*, *Staphylococcus spp.* и *S. pyogenes*, а *S. saprophyticus* и *Streptococcus spp.* са с по 1 изолат. Гъбите от род *Candida* са причинители на уроинфекцията в 12 от пробите урина – 11 от видовете са *C. albicans* и 1 *C. krusei*. От 44-те ESBL-изолата в лабораторията с най-голям брой са *E. coli* – 21 броя, следвани от 12 броя *K. pneumoniae*, 5 *E. aerogenes*, 4 *K. oxytoca* и по 1 *E. cloacae* и *M. morgani*.



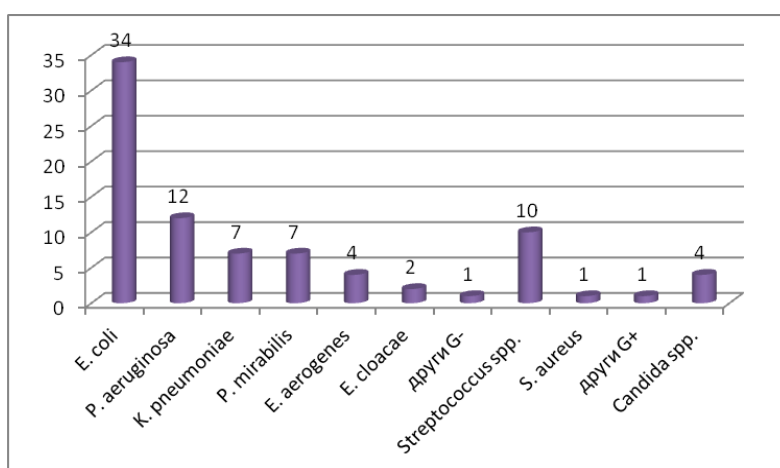
Фигура 8. Разпределение по вид на микроорганизми, причинители на уроинфекции, изолирани от проби урина в „Лабorexпрес 2000” в периода 2010-2012 година.

На Фигура 8 е представен дяла на микроорганизмите, изолирани от положителните проби урина в СДМЛ „Лабorexпрес 2000”, по видове, а на Фигура 9 са представени тези от тях, които притежават широкоспектърни бета-лактамази.



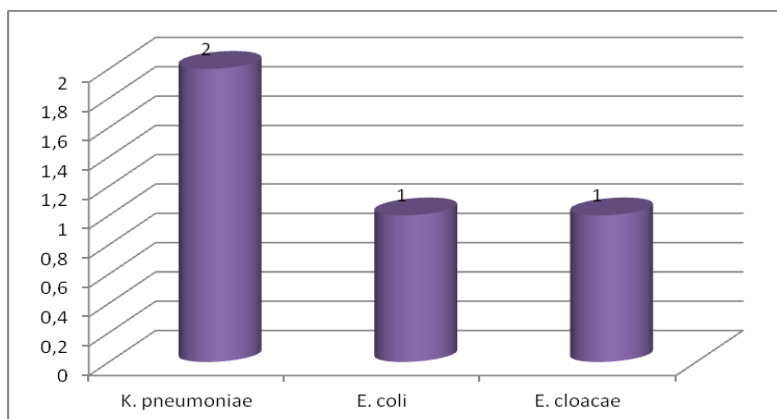
Фигура 9. Разпределение по вид на ESBL-микроорганизми, причинители на уроинфекции, изолирани от проби урина в „Лабorexпрес 2000” в периода 2010-2012 година.

В МДЛ „Св. Анна” са диагностицирани 88 микроорганизма, като инфекциозни причинители на уроинфекции. С най-голям брой от Грам-отрицателните бактерии са *E. coli* – 34 броя, *P. aeruginosa* - 12, *K. pneumoniae* и *P. mirabilis* – по 7 броя, *E. aerogenes* – 4. С по-малък брой са 2 изолата *E. cloacae* и по един изолат от видовете *K. oxytoca*, *A. baumannii*, *M. morganii*, *P. stuartii*. Разпределението на Грам-положителните микроорганизми е както следва 10 изолата *Streptococcus spp.*, по 1 от видовете *S. aureus*, *S. saprophyticus*, *Staphylococcus spp. CNS* и *M. luteus*. Гъбите от род *Candida* са изолирани от 4 от пробите. От 4-те ESBL-изолата в лабораторията 2 са *K. pneumoniae*, 1 *E. coli* и 1 *E. cloacae*.



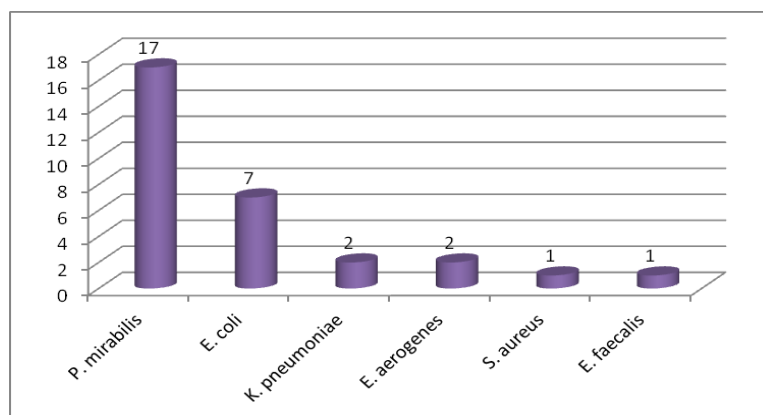
Фигура 10. Разпределение по вид на микроорганизми, причинители на уроинфекции, изолирани от проби урина в „Св. Анна” в периода 2010-2012 година.

На Фигура 10 е представен дяла на микроорганизмите, изолирани от положителните проби урина в МДЛ „Св. Анна”, по видове, а на Фигура 11 са представени тези от тях, които притежават широкоспектърни бета-лактамази.



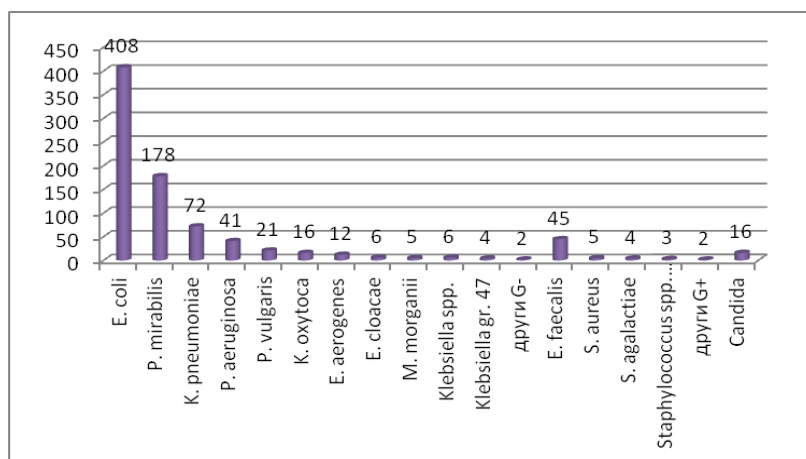
Фигура 11. Разпределение по вид на ESBL- микроорганизми, причинители на уроинфекции, изолирани от проби урина в „Св. Анна” в периода 2010-2012 година.

В МДЛ „РЗИ-Варна” са диагностицирани 30 микроорганизма, като инфекциозни причинители на уроинфекции. С най-голям брой от Грам-отрицателните бактерии са *P. mirabilis* – 17 броя, *E. coli* – 7 броя, *K. pneumoniae* и *E. aerogenes* – по 2. Изолатите от грам-положителната микрофлора са по 1 щам *S. aureus* и *E. faecalis*. В лабораторията няма изолирани гъбички, като причинители на уроинфекция в някоя от положителните проби, както няма и диагностицирани широкоспектърни бета-лактамаза-съдържащи микроорганизми. На Фигура 12 е представен дяла на микроорганизмите, изолирани от положителните проби урина в МДЛ „РЗИ-Варна”, по видове.



Фигура 12. Разпределение по вид на микроорганизми, причинители на уроинфекции, изолирани от проби урина в „РЗИ-Варна” в периода 2010-2012 година.

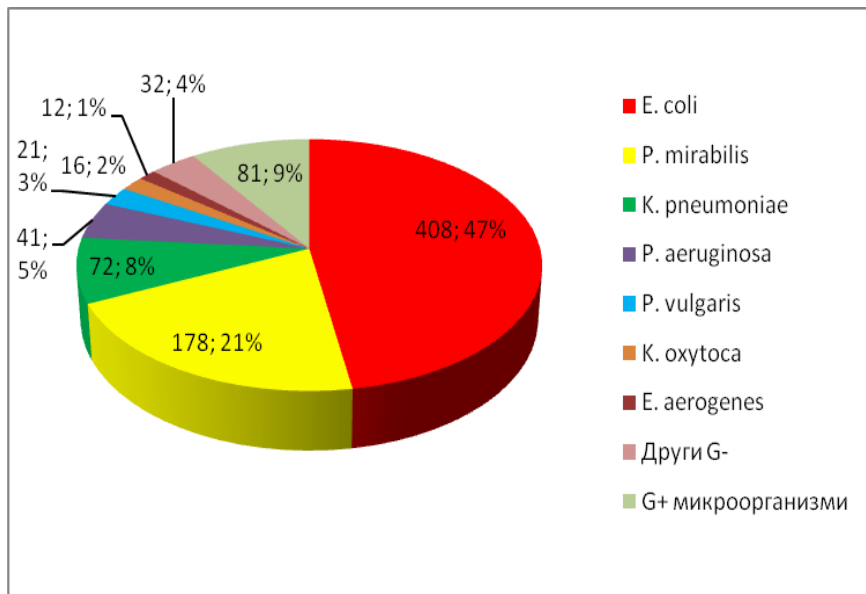
Разпределението по вид на микроорганизмите, изолирани от положителните проби урина общо в трите лаборатории е също онагледено на Таблица 4. Общия брой на микроорганизмите, изолирани от положителните проби урина за наличие на инфекциозен причинител, са 861 броя. Разпределението на Грам-положителните бактерии е 408 броя *E. coli*, 178 *P. mirabilis*, 72 *K. pneumoniae*, 41 *P. aeruginosa*, 21 *P. vulgaris*, 16 изолата *K. oxytoca* и 12 *E. aerogenes* - това са изолатите с най-висок брой. С по-малки стойности са *E. cloacae* – 6, *Klebsiella spp.* – 6 и *Klebsiella gr. 47*- 4, *M. morganii* – 5 изолата и с по 2 *Proteus spp.* и *C. diversus*. Останалите микроорганизми в тази група са с по 1 изолат, а именно *A. baumannii*, *P. stuartii*, *C. freundii*, *C. amalonaticus*, *E. agglomerans*, *E. sakazakii* и *Haemophilus spp.*. Разпределението на грам-положителните микроорганизми отчита с най-голям брой *E. faecalis* – 45 изолата, следван от *S. aureus* – 5, *S. agalactiae* – 4, *Staphylococcus spp. CNS* – 3. С по 2 броя са представени видовете *S. saprophyticus*, *Staphylococcus spp.* и *S. pyogenes*, а *Streptococcus spp.* и *M. luteus* – с по 1. Гъбите от род *Candida* са изолирани от 16 от пробите – 11 от тях са от вида *C. albicans*, 1 *C. krusei* и 4 са означени общо, като *Candida spp.*. Тези зависимости са отразени на Фигура 13.



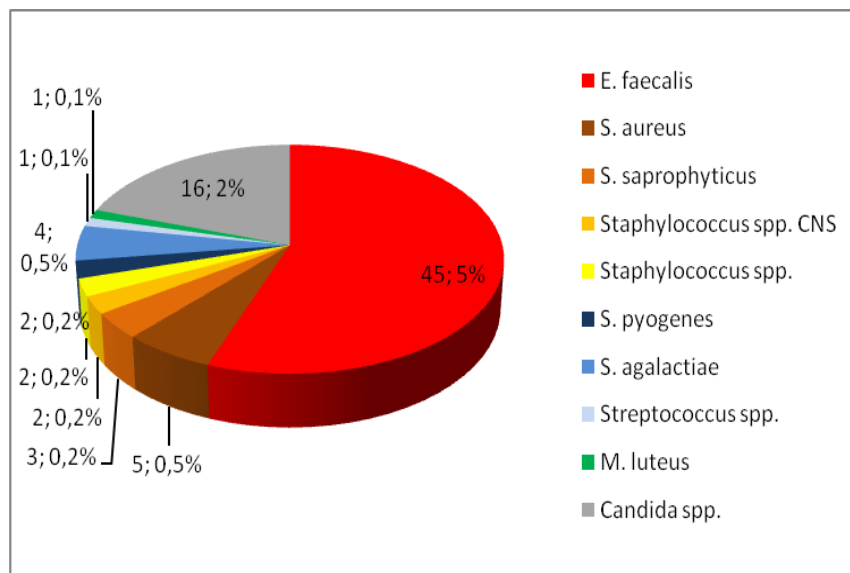
Фигура 13. Разпределение по вид на микроорганизми, причинители на уроинфекции, изолирани от проби урина в МДЛ „Лаборекспрес 2000“, „Св. Анна“ и „РЗИ-Варна“ в периода 2010-2012 година.

На Фигури 14, 15 и 16 са представени дяловете в проценти на изолатите от положителните проби в трите лаборатории. За по-голяма нагледност са отделени на Грам-отрицателни и Грам-положителни микроорганизми, като видовете във втората

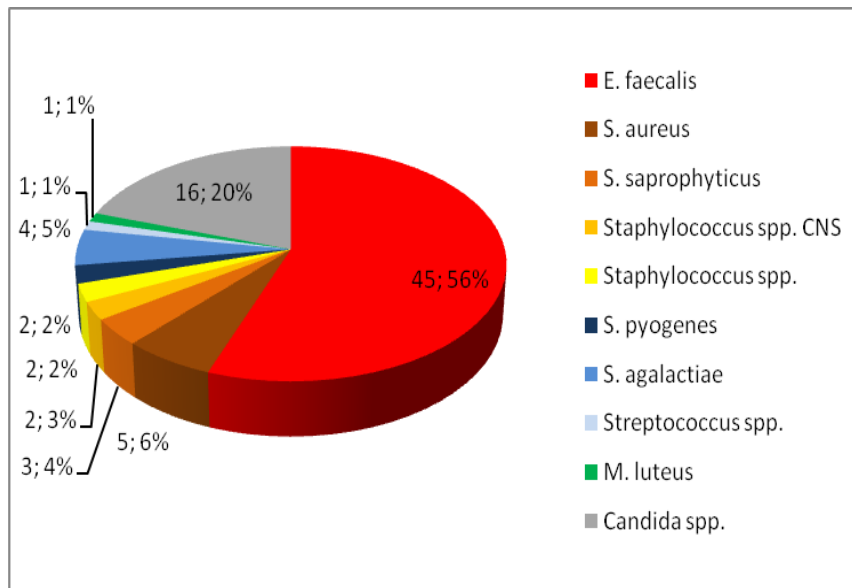
група са представени, както като дял в проценти от всички положителни проби, така и като дял от Грам-положителните представители.



Фигура 14. Разпределение по дял в проценти на Грам-отрицателните видове микроорганизми, причинители на уроинфекции, изолирани от проби урина в МДЛ „Лаборекспрес 2000”, „Св. Анна” и „РЗИ-Варна” в периода 2010-2012 година.



Фигура 15. Разпределение по дял в проценти на Грам-положителните видове микроорганизми, причинители на уроинфекции, спрямо всички положителни проби урина в МДЛ „Лаборекспрес 2000”, „Св. Анна” и „РЗИ-Варна” в периода 2010-2012 година.



Фигура 16. Разпределение по дял в проценти на Грам-положителните видове микроорганизми, причинители на уроинфекции, изолирани от проби урина в МДЛ „Лаборекспрес 2000“, „Св. Анна“ и „РЗИ-Варна“ в периода 2010-2012 година.

Разпределението на 48-те ESBL-изолата, детектирани в общия брой проби урина отразява с най-голям брой *E. coli* – 22 броя (чиито дял в % отговаря на 45 % от всички детектирани широкоспектърни бета-лактамаза-съдържащи микроорганизми в трите лаборатории за периода), следвани от 14 броя *K. pneumoniae* (29 % от ESBLs), 5 *E. aerogenes* (10 %), 4 *K. oxytoca* (8 %), 2 *E. cloacae* (4 %) и 1 *M. organii* (2 %).

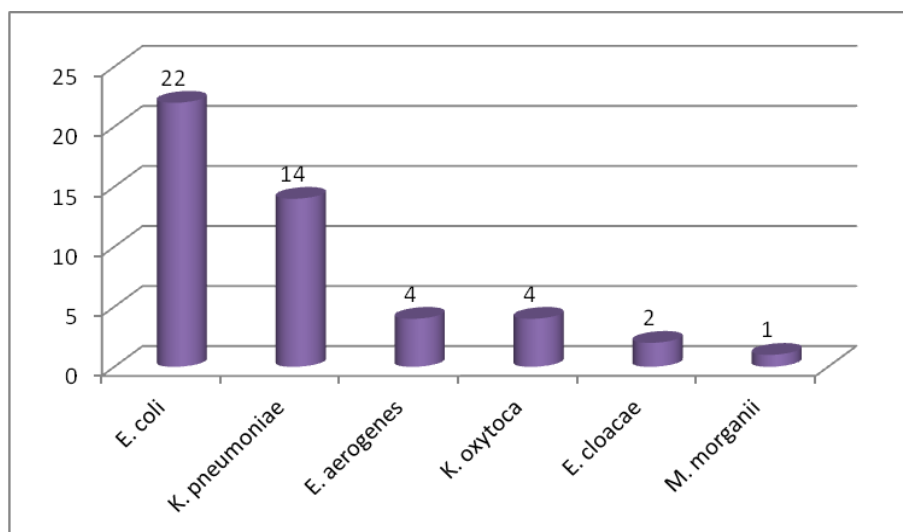
На Таблица 8 са отразени само микроорганизмите, които дават ESBL-щамове по вид в съответните лаборатории. За сравнение на получените от нас резултати, в изследване, проведено в болница в Мванза, Танзания, общата честота на ESBLs във всички Грам-отрицателни бактерии (377 клинични изолати) е 29%. Разпространението на ESBLs, според това изследване е 64% *K. pneumonia* и 24% в *E.coli* (Mshana, E., 2009). И получените от нас резултати са в подкрепа на превеса на *E.coli*, има наличие, обаче, и на други видове бактерии, като *E. aerogenes*, *K. oxytoca*, *E. cloacae* и *M. organii*. Тези видове бактерии са също предмет на все повече разработки в различни точки на света, като даващи щамове, произвеждащи широкоспектърни бета-лактамази. Т.е. този ензим намира място в метаболитните системи на все по-широк кръг от микроорганизми, което застрашава в голяма степен ефективността на бета-лактамните антибиотици. Използването на тези антимикробни агенти трябва да се прецизира в голяма степен, за да се запази на този етап оставащата им ефективност в борбата с редица инфекции.

Таблица 8. Разпределение на уринните проби взети от пациенти в детска възраст по вида на микроорганизма, причинител на уроинфекцията – видове даващи ESBL-щамове

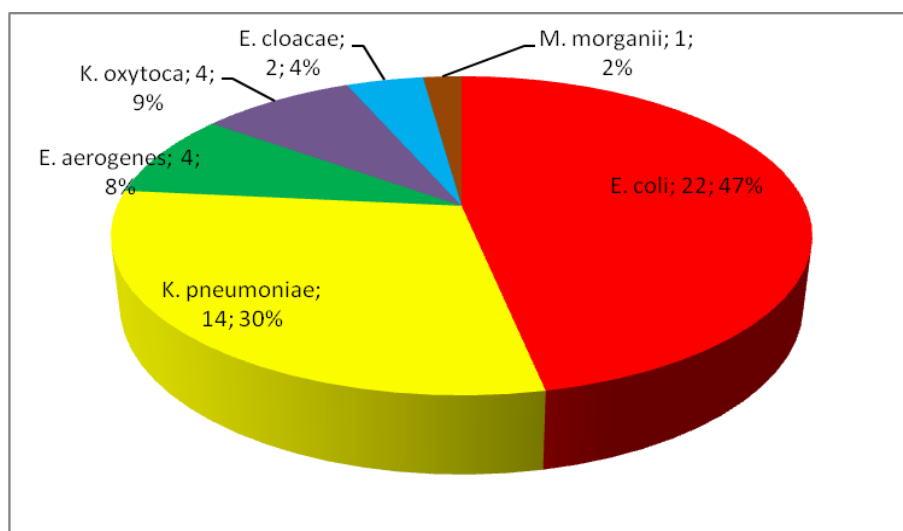
Вид МО / МД лаб	Лаборекспрес 2000			Св. Анна			РЗИ-Варна			Общо
	Година	Брой	ESBL (%)	Година	Брой	ESBL (%)	Година	Брой	ESBL (%)	
<i>Escherichia coli</i>	2010	151	367 (21)	2010	6	34 (1)	2010	5	7	408 (22)
	2011	115		2011	17		2011	1		
	2012	101		2012	11		2012	1		
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	2010	25	63 (12)	2010	0	7 (2)	2010	2	2	72 (14)
	2011	19		2011	5		2011	0		
	2012	19		2012	2		2012	0		
<i>Klebsiella oxytoca</i>	2010	7	15 (4)	2010	0	1	2010	0	0	16 (4)
	2011	7		2011	1		2011	0		
	2012	1		2012	0		2012	0		
<i>Enterobacter aerogenes</i>	2010	0	6 (5)	2010	0	4	2010	0	2	12 (5)
	2011	4		2011	2		2011	1		
	2012	2		2012	2		2012	1		
<i>Enterobacter cloacae</i>	2010	1	4 (1)	2010	1	2 (1)	2010	0	0	6 (2)
	2011	2		2011	0		2011	0		
	2012	1		2012	1		2012	0		
<i>Morganella morganii</i>	2010	2	4 (1)	2010	0	1	2010	0	0	5 (1)
	2011	0		2011	1		2011	0		
	2012	2		2012	0		2012	0		

Легенда: В червен цвят шрифт са отразени ESBL-щамовете.

Броя и дяловете на ESBL- микроорганизмите са отразени съответно на Фигура 17 и Фигура 18.



Фигура 17. Разпределение по вид на ESBL-микроорганизми, причинители на уроинфекции, изолирани от проби урина в МДЛ „Лаборекспрес 2000“, „Св. Анна“ и „РЗИ-Варна“ в периода 2010-2012 година.



Фигура 18. Разпределение по дял в проценти на видовете ESBLs, причинители на уроинфекции, изолирани от проби урина в МДЛ „Лаборекспрес 2000“, „Св. Анна“ и „РЗИ-Варна“ в периода 2010-2012 година.

На базата на Таблица 6 и Фигури от 8÷18 могат да се направят няколко основни извода. Систематизирайки данните, за отделните видове микроорганизми могат да се изтъкнат следните изводи:

- *E. coli* причинява приблизително половината от всички уроинфекции при амбулаторните пациенти – в СМДЛ „Лаборекспрес 2000” 49 % микроорганизмите, изолирани от всички положителни проби са *E. coli* (367 от 743 броя), в МДЛ „РЗИ-Варна” този дял е по-нисък – 23 % (в 7 от 30 проби). В двете лаборатории, както бе упоменато пробите урина са предимно или само от амбулаторни пациенти и съответно от общо 773 клинични изолата на микроорганизми, причинители на уроинфекции 374 са *E. coli*, т.е. 48 %.. В МДЛ „Св. Анна”, където пациентите са предимно хоспитализирани, от 88 клинични изолата 34 броя са на съответния микроорганизъм, което като дял в проценти е 38%. Спрямо всички клинични изолата по вид от пробите урина от трите разглеждани лаборатории *E. coli* представлява 48 % от тях или 408 от общо 861 изолата. Относно ESBLs описаните по-горе дялове са абсолютно еднозначни и тук за бактерията – отново сходните 47 % от всички детектирани широкоспектърни бета-лактамаза-съдържащи микроорганизми. Относно дяла на ESBL *E. coli*, спрямо всички детектирани *E. coli*, т.е. 22 от 408 изолата, представлява 5 %. За 2008 година BulSTAR дава данни за цялата страна по същия показател 6 % (BulSTAR, 2008), т.е. стойността за страната и разглежданата от нас община Варна е сходна.
- *Proteus mirabilis* е много интересен в случая микроорганизъм, който спрямо всички положителни проби се явява най-честият причинител на уроинфекции, след *E. coli*, а относно разглежданите от нас ESBLs не представя нито един изолат, т.е. по наши данни няма детектиран бактерии от род *Proteus*, като цяло, които да е изработил механизъм за синтез на разглежданите от нас ензими и да ги притежава. В СМДЛ „Лаборекспрес 2000” *P. mirabilis* представлява 20 % от изолатите от уринни проби (154 от 743 броя култури), докато данните в РЗИ-Варна отразяват, че бактерията се изолира от над половината проби урина – 56 % (17 от 30) – там той е на първо място, като причинител на уроинфекции. От пробите от двете лаборатории заедно, за отчитане този дял при амбулаторните пациенти, тази стойност е 22 % (от общо 773 изолирани инфекциозни причинители 171 са от вида *P. mirabilis*. За хоспитализираните пациенти, представени от данните от МДЛ „Св. Анна” дялът на разглежданият бактерии е доста по-малък и по-точно едва 8 % (7 изолата от 88), т.е. по наличните данни можем да отбележим, че разглежданият микроорганизъм представя по-голям дял, като причинител на уроинфекции при амбулаторните пациенти. Общо за

всички положителни проби от трите лаборатории средната стойност в проценти за *P. mirabilis* е 21 %, той е изолиран от 178 пъти от общо 861 изолата. *P. vulgaris* значително по-рядко се среща, като причинител на уроинфекции – общият брой на изолатите от положителните проби от трите лаборатории е 21 от съответно 861 и това отговаря на дял 2 %. В наличните данни той не представя щамове ESBLs, докато последните опоменати данни на BulSTAR за 2008 година представят, че 2 % от всички *P. mirabilis*, притежават широкоспектърни β-лактамази (BulSTAR, 2008).

- За *K. pneumoniae* данните по всички от разглежданите показатели са сходни – при амбулаторните пациенти са средно 8% (от 773 изолата 65 са от вида), а именно в двете лаборатории „Лаборекспрес 2000” (63 изолата от 743 – 8 %) и „РЗИ-Варна” (2 от 30 доказани инфекциозни причинителя – 6 %). За детекция на тази стойност за хоспитализираните лаборатории, представени от пробите в МДЛ „Св. Анна” тя е отново 8 % - 7 от 88 диагностицирани микроорганизма. Общата стойност от данните от трите лаборатории е същият процент, а броят им е 72 от 861 броя. Като Грам-отрицателен бактерий, даващ ESBL-щамове видът представя 29 % от детектираните в тази група или всички 48 изолата той представя 14 броя. Относно дяла на ESBL *K. pneumoniae*, спрямо всички детектирани *K. pneumoniae*, т.е. 14 от 72 изолата, представлява 19 %. По данни на BulSTAR за цялата страна, 21 % от всички изолати от вида са ESBLs (BulSTAR, 2008), т.е. стойността за страната и изследваната от нас община Варна е сходна.
- *K. oxytoca* от своя страна също е микроорганизъм съдържащ широкоспектърни бета-лактамази, в проучването данните отразяват 4 изолата от 48, т.е. 8 %, а общият дял на броя изолати за вида от всички положителни проби в трите лаборатории е 2 % (16 от 861 микроорганизма, изолирани от пробите урина). От 16 изолата на вида 4 са ESBLs – 25 %, BulSTAR за 2008 дава тази стойност за страната 8 % (BulSTAR, 2008), което демонстрира едно значително различие на ESBL-дяла на този вид бактерии за страната и в изследваната от нас община.
- *P. aeruginosa* е един от микроорганизмите, които отразяват по-ниски стойности, като причинител на уроинфекции, със среден дял около 4 % за амбулаторните пациенти диагностицирани в СМДЛ „Лаборекспрес 2000” (от 743 изолата вида дава 29 броя), в „РЗИ-Варна” няма детектирани бактерии от този вид. За хоспитализираните пациенти в МДЛ „Св. Анна” дялът на *P. aeruginosa* е по-

висок, което отразява по характерната му проява, като инфекциозен причинител на уроинфекции в болничната среда – 12 от 88 изолата (13 %). От общия брой на всички положителни проби 861 вида се среща 41 пъти, т.е. дава дял в проценти 5 %. В трите лаборатории не са детектирани щамове от този вид, които да притежават широкоспектърни бета-лактамази. BulSTAR, 2008 за страната също не детектира такива щамове (BulSTAR, 2008).

- *E. aerogenes* не представя голям брой от изолатите – от пробите, които отразяват броя на амбулаторните пациенти в СМДЛ „Лаборекспрес 2000” са изолирани 6 култури с микроорганизма от 743 проби, т.е. под 1 %, в МДЛ „РЗИ-Варна” – 6 % (2 изолата от 30), т.е. обобщена тази стойност е 8 от общо 773 изолата в двете лаборатории, което дава средна стойност за дяла на бактерия 1 %. В МДЛ „Св. Анна”, където пробите урина са предимно от хоспитализирани пациенти вида представя 4 % от изолатите (4 от 88), а общо от трите лаборатории от 861 изолирани вида 12 са *E. aerogenes*, което представлява 1 % от тях. Това, на което трябва да се обърне внимание в случая е, че в СМДЛ „Лаборекспрес 2000” от общо 6 изолирани бактериални култури от вида 5 са детектирани като съдържащи широкоспектърни бета-лактамази, което показва високия потенциал на *E. aerogenes* да представя ESBL-щамове, като причинител на уроинфекции при деца. От детектираните 48 ESBL-изолати 5 са представители на вида, което представлява 10 %. От общо 12 получени изолата от вида 5 са ESBL-щамове, т.е. техният дял е близо 42 %, за цялата страна BulSTAR за 2008 дава тази стойност 24 %, т.е. тази стойност е значително завишена в община Варна, сравнена с общата за страната (BulSTAR, 2008).

При оглед на всички положителни проби, получени в трите лаборатории и разделението на микроорганизмите, спрямо способността им да се багрят по Грам, могат да се отчетат следните изводи:

- От всички положителни за наличие на инфекциозен причинител проби 780 са грам-отрицателни, което представлява 91 % от тях. Основните представители в тази група са *E. coli*, *P. mirabilis* и *K. pneumoniae* (заедно представят 77 % от всички проби или 84 % от Грам-отрицателните изолати).
- От 861 инфекциозни причинителя в положителните проби урина, получени в трите лаборатории за изследвания период, 81 са Грам-положителни бактерии и гъби, като тук *E. faecalis* се откроява с голям превес над останалите микроорганизми в групата (45 броя, което представлява 56 % от Грам-

положителните и 5 % от всички детектирани изолати). Със значително по-малък дял от едва 4-5 изолата (под 1 % от всички култивирани) са *S. aureus*, *S. agalactiae*, останалите изолати от тези родове са представени само от 1-2 броя. Гъбичките от род *Candida* представляват 2 % от всички (16 изолата), като почти изключително са от вида *C. albicans*.

Отчитайки данните, получени от детекцията на ESBL-изолатите отчитаме следните изводи:

- *E. coli* представляват почти половината от всички изолирани бактерии, съдържащи широкоспектърни бета-лактамази (47 %) или 22 изолата. Тази стойност на ESBLs при вида представлява 5 % от всички детектирани *E. coli*, като причинители на уроинфекции при пациенти в детска възраст в трите лаборатории.
- *K. pneumoniae* е вторият най-често срещан ESBL-изолат, който представлява 29 % от бета-лактамаза-съдържащите бактерии.
- Останалите видове бактерии, които представят наличие на ензима бета-лактамаза са *E. aerogenes*, *K. oxytoca*, *E. cloacae* и *M. morgani*.

При оглед на способността на микроорганизмите, като инфекциозни причинители на уроинфекции да се култивират в двойна или мпо-рядко тройна смесена култура, т.е. да проявяват съвместно „съжителство”, можем да отчетем следните изводи:

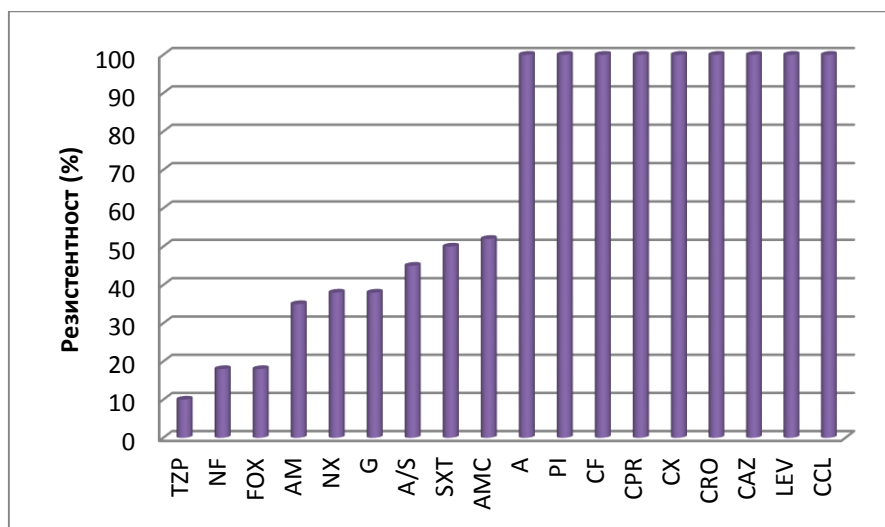
- Най-често култивираният микроорганизъм от смесените култури, получени в трите лаборатории е *E. coli* – от общо 26 смесени култури в 20 един от микроорганизмите е той, т.е. в приблизително 77 %. Най-често срещаната комбинация в 9 от двойните култури е тази между *E. coli* и *P. mirabilis*, а в 6 - *E. coli* и *K. pneumoniae*.
- В детектираните двойни и една тройна култура *E. coli* демонстрира общ растеж с родовете *Proteus*, *Klebsiella*, *Providencia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Enterococcus*.
- Под *Klebsiella* се среща също в голям брой от двойните култури и по-точно 9 от 26 (34 %) и нейните детектирани комбинации с други бактерии са видове от родовете *Proteus*, *Streptococcus* и *Enterococcus*.
- Единствената тройна култура, която е изолирана в трите лаборатории е култивирана в СМДЛ „Лаборекспрес 2000” и представлява комбинация между видовете *E. coli*, *Staphylococcus spp.* и *Streptococcus spp.*

- Ясно се откроява факта, че смесените култури са детектирани предимно при пациенти основно до 9-годишна възраст, като средната възраст тук е 3,4 години. Ясно очертани тенденции за превес на някои от двата пола при смесените уроинфекции не се отчитат.

7. Разпределение по антибиотична резистентност.

На Фиг. 19 са представени данните за установената антибиотичната резистентност на 33 ESBL-щамата от положителните 44 (за 11 от тях медико-диагностичната лаборатория не е изготвила антибиограма), като нива на устойчивост (в %) към съответния антибиотик. Щамовете по брой спрямо вида на микроорганизма са както следва *E. coli* - 18 щамата, *K. pneumoniae* – 7, *K. oxytoca* – 2, *E. aerogenes* – 4, *E. cloacae* – 1, *M. morganii* – 1.

Сред изпитаните антибиотици се установиха следните нива на резистентност (R в %) във възходящ ред: TZP-10 < NF-18 < FOX-18,18 < AM-34,62 < NX-38,1 < G-38,23 < A/S-45,45 < SXT-50 < AMC-51,96 < A-100 < PI-100 < CF-100 < CPR-100 < CX-100 < CRO-100 < CAZ-100 < LEV-100 < CCL-100.



Фигура 19. Антибиотична резистентност на ESBLs.

Легенда: Piperacillin/tazobactam (TZP); Nitrofurantoin (NF); Cefoxitin (FOX); Amikacin (AM); Nelidix acid (NX); Gentamicin (G); Ampicillin Sulbactam (A/S); Trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT); Amoxicillin/clavulanic acid (AMC); Ampicillin (A); Piperacillin (PI); Cephalothin (CF); Cefprozil (CPR); Cefuroxime (CX); Ceftriaxone (CRO); Ceftazidime (CAZ); Levofloxacin (LEV); Cefaclor (CCL).

Резултатите на Фигура 19 показват, че клиничните изолати ESBLs проявяват най-малки нива на устойчивост в % спрямо Piperacillin/tazobactam – 10% от щамовете, Nitrofurantoin – 18% и Cefoxitin – 18,18%. Същите демонстрират 100% устойчивост спрямо Ampicillin, Piperacillin (пеницилини); Cephalothin, Cefprozil, Cefuroxime, Ceftriaxone, Ceftazidime, Cefaclor (II-ра и III-та генерация цефалоспорини) и Levofloxacin (хинолон).

Чувствителността (S) на изследваните клинични изолати (в %) във възходящ ред е както следва: AMC-48,04 < SXT-50 < A/S-54,55 < G-61,77 < NX-61,9 < AM-65,38 < FOX-81,82 < NF-82 < TZP-90 < IPM-100 < MEM-100.

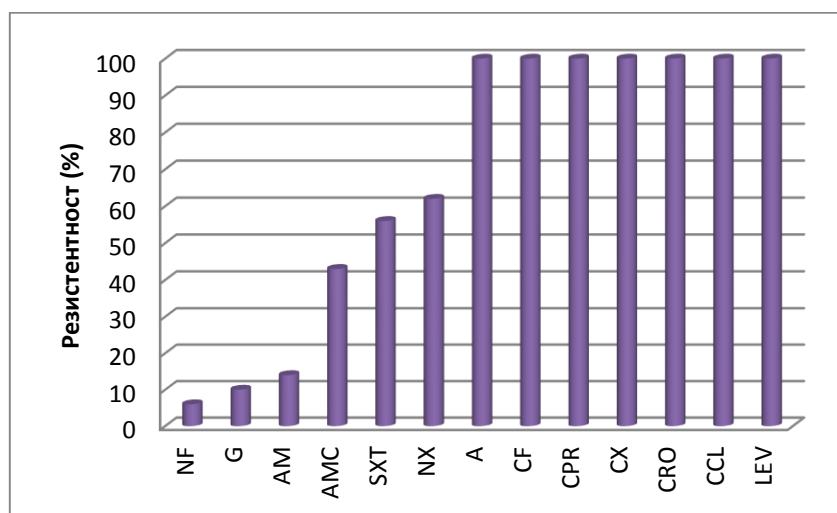
Относно антибиотичната чувствителност на всички изследвани ESBLs, може да се направят следните по-отчетливи изводи:

- всички видове ESBLs са 100% устойчиви на ампицилин (пеницилин) и цефпрозил и цефуроксим (II-ра генерация цефалоспорини);
- всички видове ESBLs са 100% устойчиви на пиперацилин – пеницилин (*E. coli* не е тестван);
- всички тествани видове ESBLs – *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. aerogenes* са 100% устойчиви на ампицилин/сулбактам, само щамовете на *E. coli* са чувствителни;
- всички видове ESBLs са 100% чувствителни на налидиксова киселина, единствено *E. coli* дава някои резистентни щамове (8 от 13 изолата);
- всички видове ESBLs са 100% чувствителни на меропенем и имипенем (карбапенеми).

100%-вата чувствителност на ESBLs към карбапенеми е на този етап обнадеждаваща, тъй като те са едно от малкото останали сигурно и ефективно „оръжие” за борбата с широкоспектърните бета-лактамаза-съдържащи бактерии (Perez, F., 2007). Макар, че в Турция и някои други точки по света се появиха данни за детекция на *K. pneumoniae*, съдържаща карбапенемази (Aktas, Z., 2008;).

Общата резистентност към тестваните антибиотични препарати на всички проявени щамове, ще бъде представена по видове ESBLs.

На Фиг. 20 са представени данните за установената антибиотичната резистентност (в %) на 18 клинични изолата ESBLs - *E. coli*. Сред изпитаните антибиотици се установиха следните нива на резистентност (R) във възходящ ред: NF-6,25 < G-10 < AM-14,28 < AMC-43,1 < SXT-55,55 < NX-61,53 < A-100 < CF-100 < CPR-100 < CX-100 < CRO-100 < CCL-100 < LEV-100.



Фигура 20. Антибиотична резистентност на ESBL-щамове *E. coli*.

Легенда: Nitrofurantoin (NF); Gentamicin (G); Amikacin (AM); Amoxicillin/clavulanic acid (AMC); Trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT); Nelidix acid (NX); Ampicillin (A); Cephalothin (CF); Cefprozil (CPR); Cefuroxim (CX); Ceftriaxone (CRO); Cefaclor (CCL); Levofloxacin (LEV).

Резултатите на Фигура 21 показват, че клиничните изолати *E. coli* проявяват най-малки нива на устойчивост спрямо Nitrofurantoin – 6,25%, Gentamicin – 10%, Amikacin – 14,28%. Същите демонстрират 100% устойчивост спрямо Ampicillin (пеницилин); Cephalothin, Cefprozil, Cefuroxim, Ceftriaxone, Cefaclor (I-ва, II-ра и III-та генерация цефалоспорини) и Levofloxacin (хинолон).

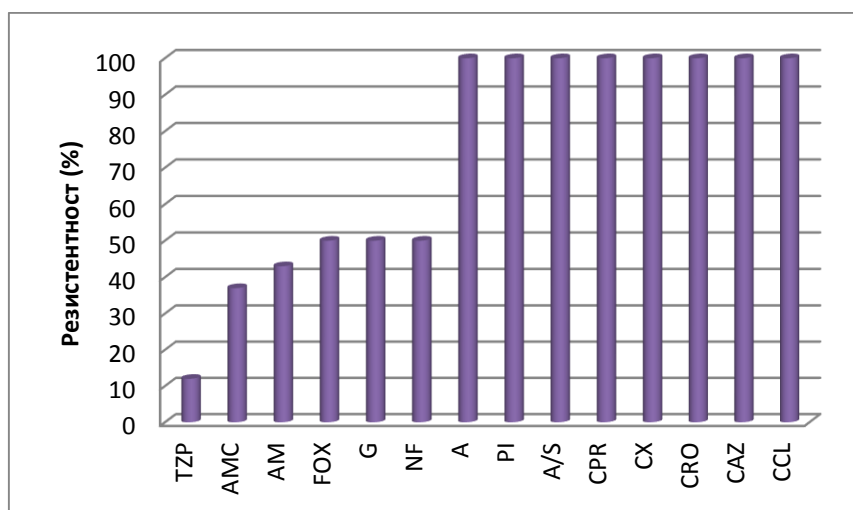
Чувствителността (S) на ESBL-щамове *E. coli* към съответните антибиотични агенти (в %) във възходящ ред е следната: NX-38,47 < SXT-44,45 < AMC-56,9 < AM-85,72 < G-90 < NF-93,75 < A/S-100 FOX-100 < TZP-100 < IPM-100.

Относно антибиотичната чувствителност на ESBL-щамове на *E. coli*, могат да се направят следните изводи:

- всички щамове са 100% резистентни на ампицилин (пеницилин);
- всички щамове са 100% резистентни на цефпрозил (12 R от 12 тествани) и цефуроксим (12 от 12) (II-ра генерация цефалоспорини). Както се вижда от фиг. 20 *E. coli* са устойчиви със същите нива и на други цефалоспорини, но в тези случаи са тествани само 1-2 изолата и данните не се отличават с висока достоверност;

- всички щамове са 100% чувствителни на ампицилин/сулбактам (5 S от 5 тествани), гентамицин (5 S от 5 тествани) и цефокситин (7 S от 7 тествани). Последният е цефалоспорин II-ра генерация и той се явява един от малкото антибиотици от групата на цефалоспорините, към които ESBL-щамове *E. coli* са чувствителни;
- всички щамове са чувствителни или интермедиерни на нитрофурантоин (7 S + 1I от 8 тествани);
- само един щам *E. coli* е тестван на карбапенем – имипенем и той е чувствителен на антибиотика.

На Фиг. 21 са представени данните за установената антибиотичната резистентност (в %) на 7 клинични изолата ESBLs - *K. pneumoniae*. Сред изпитаните антибиотици се установиха следните нива на резистентност (R) във възходящ ред: TZP-12,5 < AMC-37,45 < AM-42,86 < FOX-50 < G-50 < NF-50 < A-100 < PI-100 < A/S-100 < CPR-100 < CX-100 < CRO-100 < CAZ-100 < CCL-100.



Фигура 21. Антибиотична резистентност на ESBL-щамове *K. pneumoniae*.

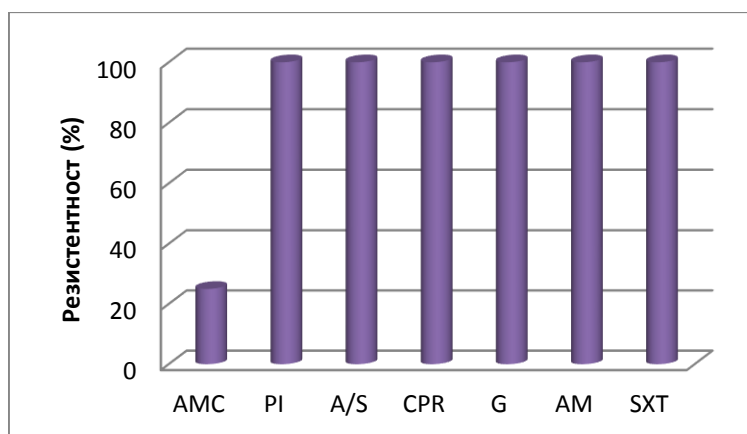
Легенда: Piperacillin/tazobactam (TZP); Amoxicillin/clavulanic acid (AMC); Amikacin (AM); Cefoxitin (FOX); Gentamicin (G); Nitrofurantoin (NF); Ampicillin (A); Piperacillin (PI); Ampicillin Sulbactam (A/S); Cefprozil (CPR); Ceftriaxone (CRO); Cefuroxim (CX); Ceftazidime (CAZ), Cefaclor (CCL).

От представените данни на Фиг. 21 се установява, че с най-ниски нива на резистентност на ESBL-щамове на *K. pneumoniae* са Piperacillin/tazobactam – 12,5%, Amoxicillin/clavulanic acid – 37, 45 (пеницилини), а с 100% устойчивост са Ampicillin, Piperacillin, Ampicillin Sulbactam, Cefprozil, Ceftriaxone, Cefuroxim, Ceftazidime и Cefaclor, но единствено цефпрозил (5 R от 5 тествани) и цефуроксим (4 R от 4 тествани)(II-ра генерация цефалоспорици) са изпитани с по-голям брой изолати и съответно само за тях може да се твърди, че *K. pneumoniae* проявява 100% резистентност към тези антибиотични агенти и това да има значимост за изводите от изследването.

Чувствителността (S) на ESBL - *K. pneumoniae* (в %) във възходящ ред е както следва: FOX-50 < G-50 < NF-50 < AM-57,14 < AMC-62,55 < TZP-87,5 < SXT-100 < NX-100 < MEM-100.

Останалите видове диагностицирани широкоспектърни бета-лактамази също ще бъдат представени спрямо своята антибиотична чувствителност, но за тях не могат да се направят по-категорични изводи, тъй като щамове към всеки вид са твърде малко: *E. aerogenes* – 4, *K. oxytoca* – 2, *E. cloacae* – 1, *M. morgani* -1.

На Фиг. 22 са представени данните за установената антибиотичната резистентност (в %) на 2 клинични изолата ESBLs - *K. oxytoca*. Сред изпитаните антибиотици се установиха следните нива на резистентност (R) във възходящ ред: AMC-25 < PI-100 < A/S-100 < CPR-100 < G-100 < AM-100 < SXT-100.



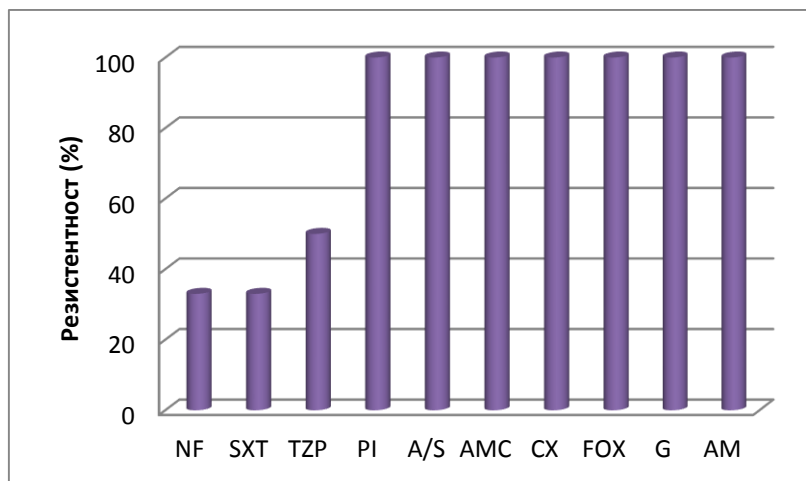
Фигура 22. Антибиотична резистентност на ESBL-щамове *K. oxytoca*.

Легенда: Amoxicillin/clavulanic acid (AMC); Piperacillin (PI); Ampicillin Sulbactam (A/S); Cefprozil (CPR); Gentamicin (G); Amikacin (AM); Trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT).

От Фиг. 22 се установява, че по-ниско ниво на резистентност щамове *K. oxytoca* проявяват към Amoxicillin/clavulanic acid – 25%, докато към останалите тествани антибиотици резистентността е 100% - Piperacillin, Ampicillin Sulbactam, Cefprozil, Gentamicin, Amikacin, Trimethoprim/sulfamethoxazole.

Чувствителността (S) на ESBL - *K. oxytoca* (в %) във възходящ ред е както следва: AMC-75 < FOX-100 < TZP-100 < NX-100 < MEM-100.

На Фиг. 23 са представени данните за установената антибиотичната резистентност (в %) на 4 клинични изолата ESBLs – *E. aerogenes*. Сред изпитаните антибиотици се установиха следните нива на резистентност (R) във възходящ ред: NF-33,3 < SXT-33,3 < TZP-50 < PI-100 < A/S-100 < AMC-100 < CX-100 < FOX-100 < G-100 < AM-100.



Фигура 23. Антибиотична резистентност на ESBL-щамове *E. aerogenes*.

Легенда: Nitrofurantoin (NF); Trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT); Piperacillin/tazobactam (TZP); Piperacillin (PI); Ampicillin Sulbactam (A/S); Amoxicillin/clavulanic acid (AMC); Cefuroxim (CX); Cefoxitin (FOX); Gentamicin (G); Amikacin (AM).

Фигура 23 отразява по-ниски нива на резистентност на клиничните изолати *E. aerogenes* към Nitrofurantoin – 33,3%, Trimethoprim/sulfamethoxazole – 33,3%, Piperacillin/tazobactam – 50%, към останалите тествани антибиотици, към които щамове са резистентни устойчивостта е 100% - Piperacillin, Ampicillin Sulbactam, Amoxicillin/clavulanic acid, Cefuroxim, Cefoxitin, Gentamicin, Amikacin.

Чувствителността (S) на ESBL – *E. aerogenes* (в %) във възходящ ред е както следва: TZP-50 < SXT-66,7 < NF-66,7 < NX-100 < IPM-100 < MEM-100.

E. cloacae – 1 клиничен изолат. R - Ampicillin (A), Piperacillin (PI), Amoxicillin/clavulanic acid (AMC), Cefprozil (CPR); S – Ampicillin (A), Nelidix acid (NX).

M. morgani – 1 клиничен изолат: R – Ampicillin (A), Amoxicillin/clavulanic acid (AMC), Cefprozil (CPR), Cefuroxim (CX); S – Trimethoprim/sulfamethoxazole (SXT), Nelidix acid (NX).

VI. Заключение.

До този момент бактериите са намирали механизъм за противодействие на всеки въведен клас или вид антибиотик. За да е ефективна борбата с резистентността само въвеждането на нови антибиотици, без обединяване на усилията в посока засилени хигиенни и противоепидемични мерки, надеждна диагностика, рационално използване на наличните и новите антибактериални агенти е стратегия, обречена на неуспех.

За успешното регистриране на един нов антибиотик в момента в САЩ например са необходими повече от 10 години и между 800 милиона и 1.7 билиона USD, като възвръщаемостта на тази инвестиция е несигурна, поради бързите темпове на развитие на резистентност сред бактериите. Това е една от комплексните причини за постоянното намаляване на разработката на нови антибактериални агенти в последните десетилетия и именно затова е всеобща грижа да се предприемат национални и глобални мерки, целящи опазването на тези уникални лекарствени препарати – антибиотиците (Хаджиева, Н., 2006).

VII. Изводи и препоръки.

На базата на изследваните данни и получените резултати, бяха обособени следните изводи:

1. Общият брой на всички изследвани проби урина от пациенти в детска възраст в периода 2010-2012 година в трите лаборатории, предоставящи данните е 4 204, като 834 от тях са положителни за наличие на инфекциозен причинител – което в процентен дял представлява 19,8 %. Можем да обобщим, че приблизително 1/5 от децата с оплаквания, свързани с отделителната система имат наличие на уроинфекция, причинена и/или придружена от болестотворни микроорганизми.

2. Съпоставянето на броя на положителните проби с общия брой на всички изследвани в съответните лаборатории и общо по години показва, че се наблюдава покачване на дяла на бактериалните и гъбични инфекции, като причина за оплаквания, свързани с отделителната система при пациентите в детска възраст. Данните показват, че за периода 2010 - 2012 година този дял се покачва с приблизително 10 %.
3. Средно 6 % от инфекциозните микроорганизми, изолирани като причинители на уроинфекции при пациентите в детска възраст от трите лаборатории, имат способността да произвеждат ензимите широкоспектърни бета-лактамази. Пациентите в проучването в по-големия си дял са амбулаторни такива и този резултат показва, че тези мултирезистентни бактерии вече стабилно са излезли и сред така наречените инфекции „в обществото”, а не само в характерната за тяхната селекция вътреболнична среда.
4. При пациентите от 0-18 години заболяванията на отделителната система, дължащи се на инфектиране с болестотворни микроорганизми са по-чести при момичетата (59 % от положителните проби), отколкото при пациентите от мъжки пол (41 %). Относно разпределението по пол на положителните за ESBL-ензими проби, резултатите са сходни – пациентите от женски пол имат превес с 67 %, а тези от мъжки пол са съответно 33 %.
5. Относно разпределението на положителните проби по възрастови групи, дялът на пациентите в кърмаческа възраст с диагностицирани уроинфекции е доста висок – той е средно 15 %, а както е известно лабилността на имунната система на децата в тази възраст от една страна е именно предпоставка за тези високи стойности, но от друга ясно показва колко сериозни последствия може да има една такава инфекция в тази възраст, особено ако се допусне тя да хронифицира във времето. Данните показват най-висок дял на пациентите във възрастовата група 1-3 годишна възраст от всички изследвани в детска възраст и с диагностицирана уроинфекция, те представляват около 1/3 от пациентите с уроинфекция. Пациентите с положителни проби, попадащи във възрастовите групи 4-5 и 6-11 години са средно около 20 % и ясно се очертава, че с най-малък брой са пациентите с положителни уринни проби попадащи във възрастовите групи 12-14 и 15-18 години – 4 – 5 % от всички положителни проби.
6. Относно разпределението по възрастови групи на пациентите с детектирана ESBL-инфекция, получените резултати са в някои отношения сходни с тези при

общите данни за всички положителни за уроинфекция пациенти в детска възраст. В двете лаборатории, в които са детектирани резистентните бактерии - СМДЛ „Лаборекспрес 2000” и МДЛ „Св. Анна” са изолирани общо 48 щамове. Техния дял от всички получени положителни уринни проби в трите лаборатории показва, че дяла на кърмачетата (0 години), възрастовите групи 1-3 и 4-5 години са еднакви – 27 % (по 13 души в група), възрастовата група от 6-11 години има средни стойности – 12 % (6 души) и тук отново с най-малък дял са пациентите между 12-14 години и 15-18 години – съответно 2 % (1 пациент) и 4 % (2-ма души).

7. Разгледани причинителите на уроинфекции в наличните данни по вид, изводите са следните:
 - Спрямо всички клинични изолата по вид от пробите урина от трите разглеждани лаборатории *E. coli* представлява 48 % от тях или 408 от общо 861 изолата. Относно ESBLs описаните по-горе дялове са абсолютно еднозначни и тук за бактерията – отново сходните 47 % от всички детектирани широкоспектърни бета-лактамаза-съдържащи микроорганизми.
 - *Proteus mirabilis* е много интересен в случая микроорганизъм, който спрямо всички положителни проби се явява най-честият причинител на уроинфекции, след *E. coli*, а относно разглежданите от нас ESBLs не представя нито един изолат, т.е. по наши данни няма детектиран бактерии от род *Proteus*, като цяло, които да е изработил механизъм за синтез на разглежданите от нас ензими и да ги притежава. Общо за всички положителни проби от трите лаборатории средната стойност в проценти за *P. mirabilis* е 21 %, той е изолиран от 178 пъти от общо 861 изолата. *P. vulgaris* значително по-рядко се среща, като причинител на уроинфекции – общият брой на изолатите от положителните проби от трите лаборатории е 21 от съответно 861 и това отговаря на дял 2 %. В наличните данни той не представя щамове ESBLs.
8. За *K. pneumoniae* общата стойност от данните от трите лаборатории е 8 %, а броят им е 72 от 861 броя. Като грам-отрицателен бактерия, даващ ESBL-щамове видът представя 29 % от детектираните в тази група или всички 48 изолата той представя 14 броя. *K. oxytoca* от своя страна също е микроорганизъм съдържащ широкоспектърни бета-лактамази, в проучването данните отразяват 4 изолата от 48, т.е. 8 %, а общият дял на броя изолати за вида от всички положителни проби в трите лаборатории е 2 % (16 от 861 микроорганизма,

изолирани от пробите урина). Отчетен дял ESBL *K. oxytoca*, спрямо останалите *K. oxytoca*, за разглежданата община е 25%, а за страната 8 %, т.е. във Варна бактериите от този вид представят по висок дял ESBL-щамове.

- *P. aeruginosa* е един от микроорганизмите, които отразяват по-ниски стойности, като причинител на уроинфекции, със среден дял около 5 % (от общия брой на всички положителни проби 861 вида се среща 41 пъти). В трите лаборатории не са детектирани щамове от този вид, които да притежават широкоспектърни бета-лактамази.
- 9. *E. aerogenes* не представя голям брой от изолатите – общо от трите лаборатории от 861 изолирани вида 12 са *E. aerogenes*, което представлява 1 % от тях. Това, на което трябва да се обърне внимание в случая е, че в СМДЛ „Лаборекспрес 2000” от общо 6 изолирани бактериални култури от вида 5 са детектирани като съдържащи широкоспектърни бета-лактамази, което показва високия потенциал на *E. aerogenes* да представя ESBL-щамове, като причинител на уроинфекции при деца. От детектираните 48 ESBL-изолати 5 са представители на вида, което представлява 10 %. Отчетен дял ESBL *E. aerogenes*, спрямо останалите *E. aerogenes*, за разглежданата община е 42%, а за страната 24 %, т.е. във Варна бактериите от този вид представят по-висок дял ESBL-щамове.
- 10. При оглед на всички положителни проби, получени в трите лаборатории и разделението на микроорганизмите, спрямо способността им да се баграт по Грам, могат да се отчетат следните изводи:
 - От всички положителни за наличие на инфекциозен причинител проби 780 са грам-отрицателни, което представлява 91 % от тях. Основните представители в тази група са *E. coli*, *P. mirabilis* и *K. pneumoniae* (заедно представят 77 % от всички проби или 84 % от грам-отрицателните изолати).
 - От 861 инфекциозни причинителя в положителните проби урина, получени в трите лаборатории за изследвания период, 81 са Грам-положителни бактерии и гъби, като тук *E. faecalis* се откроява с голям превес над останалите микроорганизми в групата (45 броя, което представлява 56 % от Грам-положителните и 5 % от всички детектирани изолати). Със значително по-малък дял от едва 4-5 изолата (под 1 % от всички култивирани) са *S. aureus*, *S. agalactiae*, останалите изолати от тези родове са представени само от 1-2 броя. Гъбичките от род *Candida* представляват 2 % от всички (16 изолата), като почти изключително са от вида *C. albicans*.

11. Отчитайки данните, получени от детекцията на ESBL-изолатите отчитаме следните изводи:

- *E. coli* представляват почти половината от всички изолирани бактерии, съдържащи широкоспектърни бета-лактамази (47 %) или 22 изолата. Тази стойност на ESBLs при вида представлява 5 % от всички детектирани *E. coli*, като причинители на уроинфекции при пациенти в детска възраст в трите лаборатории.
- *K. pneumoniae* е вторият най-често срещан ESBL-изолат, които представлява 29 % от бета-лактамаза-съдържащите бактерии.
- Останалите видове бактерии, които представят наличие на ензима бета-лактамаза са *E. aerogenes*, *K. oxytoca*, *E. cloacae* и *M. morgani*.

12. При оглед на способността на микроорганизмите, като инфекциозни причинители на уроинфекции да се култивират в двойна или по-рядко тройна смесена култура, т.е. да проявяват съвместно „съжителство”, можем да отчетем следните изводи:

- Най-често култивираният микроорганизъм от смесените култури, получени в трите лаборатории е *E. coli* – от общо 26 смесени култури в 20 един от микроорганизмите е той, т.е. в приблизително 77 %. Най-често срещаната комбинация в 9 от двойните култури е тази между *E. coli* и *P. mirabilis*, а в 6 - *E. coli* и *K. pneumoniae*.
- В детектираните двойни и една тройна култура *E. coli* демонстрира общ растеж с родовете *Proteus*, *Klebsiella*, *Providencia*, *Staphylococcus*, *Streptococcus* и *Enterococcus*.
- Род *Klebsiella* се среща също в голям брой от двойните култури и по-точно 9 от 26 (34 %) и нейните детектирани комбинации с други бактерии са видове от родовете *Proteus*, *Streptococcus* и *Enterococcus*.
- Единствената тройна култура, която е изолирана в трите лаборатории е култивирана в СМДЛ „Лаборекспрес 2000” и представлява комбинация между видовете *E. coli*, *Staphylococcus spp.* и *Streptococcus spp.*
- Ясно се откроява факта, че смесените култури са детектирани предимно при пациенти основно до 9-годишна възраст, като средната възраст тук е 3,4 години. Ясно очертани тенденции за превес на някои от двата пола при смесените уроинфекции не се отчитат.

13. Относно антибиотичната чувствителност на всички изследвани ESBLs, може да се направят следните по-отчетливи изводи:

- Всички видове ESBLs са 100% устойчиви на ампицилин (пеницилин) и цефпрозил и цефуроксим (II-ра генерация цефалоспорини).
- Всички видове ESBLs са 100% устойчиви на пиперацилин – пеницилин (*E. coli* не е тестван).
- Всички тествани видове ESBLs – *K. pneumoniae*, *K. oxytoca*, *E. aerogenes* са 100% устойчиви на ампицилин/сулбактам, с изключение на щамовете *E. coli* – те са чувствителни.
- Всички видове ESBLs са 100% чувствителни на налидиксова киселина, единствено *E. coli* дава някои резистентни щамове (8 от 13 изолата).
- Всички видове ESBLs са 100% чувствителни на меропенем и имипенем (карбапенеми).

На базата на събраните и обработени данни в настоящето изследване даваме препоръки, които са насочени към здравните работници, имащи отношение към детекцията на ESBL-съдържащите бактерии, към лекарите, които назначават съответното лечение на пациент с диагностицирана уроинфекция, към звената на здравеопазването, които имат за цел борба с антибиотичната резистентност и не на последно място към пациентите с уроинфекции, които трябва да са запознати с рисковете, които крие едно на пръв поглед безобидно самолечение.

За да се намали стабилно във времето дялът на ESBLs и да се подтисне селекцията на тези щамове е необходимо на първо място във веригата пациент – лекар – лаборатория всички звена да са информирани за същността, начините за детекция и лечение на ИУТ, причинени от ESBLs. По този начин пациентите рядко ще прибегват към произволно самолечение, лекарите е необходимо задължително да изпращат своите пациенти за даване на уринна проба на микробиологично изследване (урокултура) с придружаваща антибиограма, а медико-диагностичните лаборатории е нужно да са компетентни и специализирани в детекцията на резистентните щамове. В това направление са нужни влагането на още много усилия и средства – както за специализация на здравния персонал, така и за набавяне на скъпо струваща апаратура (главно за детекция с генетични методи) и ред лабораторни консумативи, които също изискват допълнителни средства (за фенотипните методи). На този етап тази мярка почти не се прилага, не само в България, но и в световен мащаб. По-ефективни в детекцията на ESBLs са медико-диагностични лаборатории на територията главно на

Северна Америка и Западна Европа, в нашата страна тази практика за фенотипна детекция рутинно се прилага само в някои столични лаборатории и тепърва и в някои от тези в по-големите градове в страната.

Институтът за клинични и лабораторни стандарти (CLSI) на САЩ и Агенцията за здравна защита (HRA) на Обединеното кралство публикуваха фенотипни методи и насоки към клиничните лаборатории за откриване на ESBLs. Те показват висока чувствителност до 94% и специфичност от 98% за откриване на ESBL-щамове на *E. coli*, *Klebsiella spp.* и *Proteus spp.* (Wiegand, I., 2007).

Генетичното доказване на гените кодиращи ESBL-ензимите в рамките на България се прилага само в столицата на този етап.

В много страни, като Германия например, здравеопазването и звената насочени към борба с антибиотичната резистентност, разработват стратегии и взимат адекватни мерки за намаляване дяла на ESBL-щамовете. Един от прилаганите от тях подходи е значителното намаляване на предписанието и употребата на II-ра и III-та генерация цефалоспорини, тъй като безконтролното и като цяло солидното приложение на тези β -лактамните антибиотици върху бактерии, които са потенциално резистентни към тях води до селективен натиск и стимулира още по-бързите темпове на нарастване на дяла на ESBLs.

В Швеция използването на антибиотици, особено широкоспектърни агенти, е силно ограничено (Cars, O., 2001). От февруари 2007 г., клинични лаборатории са длъжни да докладват за всички случаи, свързани с ESBL-продуциращи *Enterobacteriaceae* щамове на Шведския институт за контрол на инфекциозните заболявания.

Европейският комитет по изпитване на антимикробната чувствителност (EUCAST) дава, като препоръка намаляване на случаите на предписване на цефалоспорини на пациентите, преди провеждането на по-щателни адекватни изследвания, в тази насока Института за клинични и лабораторни стандарти (CLSI) препоръчва по-добро прогнозиране на клиничните резултати, като се взимат под внимание стойностите на MIC (minimal inhibitory concentration) (Kahlmeter, G., 2008).

Щамовете мултирезистентни бактерии по правило се селектират основно във болнична среда, т.е. те са характерни главно за вътреболничните инфекции. Селекцията вероятно е вследствие на клонално разпространение и/или хоризонтален трансфер на плазмиди, съдържащи гени на ESBLs и фактори на вирулентност (Иванова, Д., 2012). Именно затова е необходимо една от основните стъпки в борбата с ESBLs да бъде спазването на строги хигиенни мероприятия в болничната среда, щателни изследвания

на пациенти със симптоматика, подсказваща такъв тип инфекция, отделяне на заразените с ESBL-щамове пациенти в отделни болнични стаи от останалите хоспитализирани лица (Siegel, J., 2006, Shaikh, S., 2014).

Приноси:

На базата на получените резултати и направените изводи и препоръки от собственото проучване, си позволяваме да отбележим следните елементи с приносен характер:

1. За първи път за община Варна е направено такъв тип мащабно проучване за изследване на редица епидемиологични показатели при уроинфекции при пациенти в детска възраст, включващо общо 4 204 уринни проби;
2. За първи път в община Варна са обединени резултатите от трите МДЛ „Лаборекспрес 2000” и РЗИ-Варна, обработващи предимно уринни проби от амбулаторни пациенти и МДЛ „Света Анна”, обработваща и диагностицираща уринни проби от хоспитализирани пациенти за нуждите предимно на МБАЛ „Света Анна” – Варна;
3. Чрез обработка на данните от значителен брой проби урина е определен броят и дялът на широкоспектърните бета-лактамаза-произвеждащи бактерии, като причинители на уроинфекции при пациенти в детска възраст във Варна. За представителна извадка са използвани данните от трите по-горе посочени медико-диагностични лаборатории;
4. Очертана е необходимостта от рутинно прилагане на техники за детекция на ESBL-щамове в медико-диагностичните лаборатории и оборудването на последните с необходимите материали и апаратура за тези цели;
5. На базата на настоящото ни изследване се надяваме да дадем насоки за превенция и адекватно лечение на уроинфекции, причинени от широкоспектърни бета-лактамаза-произвеждащи микроорганизми.

Публикации, във връзка с дисертационния труд:

Ерменлиева, Н., Д. Близнакова, Г. Цанкова, К. Методиев (2013) Какво знаем за широкоспектърните бета-лактамаза-произвеждащи микроорганизми в България?, Варненски медицински форум, т. 2, 2013, приложение 3, 240-245.

Лодозова, Н., Д. Близнакова, Г. Цанкова, Антибиотична резистентност на ESBL-щамове, причиняващи уроинфекции при амбулаторни пациенти в детска възраст и тяхното разпространение в община Варна (2014) Варненски медицински форум, т. 3 /под печат/

Ерменлиева, Н., Д. Близнакова, Цв. Игнатова-Иванова, Г. Цанкова, Ц. Костадинова, Е. Георгиева (2014) Епидемиология на уроинфекциите, причинени от ESBLs, в Европа и в България, Шумен, 2014 /под печат/

Ermenlieva, N., D. Bliznakova, G. Tsankova, Cv. Kostadinova, E. georgieva, T. Todorova (2014) Epidemiology of urinary tract infections in children, caused by extended-spectrum β -lactamase-producing organisms, in the municipality of Varna, J of IMAV /под печат/

Участия на конференции с постер:

Ерменлиева, Н., Д. Близнакова, Г. Цанкова, Кр. Методиев (2013) Какво знаем за широкоспектърните β -лактамаза-произвеждащи микроорганизми?, Втора научна сесия на Медицински колеж – Варна, 03-04.10.2013.

Ерменлиева, Н., Д. Близнакова, Цв. Игнатова-Иванова, Г. Цанкова, Ц. Костадинова, Е. Георгиева (2014) Епидемиология на уроинфекциите, причинени от ESBLs, в Европа и в България”, Second Student Scientific Conference Ecology and environment, Шумен, 16-17.05.2014.

Ermenlieva, N., D. Bliznakova, G. Tsankova, Cv. Kostadinova, E. georgieva, T. Todorova (2014) Epidemiology of urinary tract infections in children, caused by extended-spectrum β -lactamase-producing organisms, in the municipality of Varna, International Medical Association Bulgaria - IMAV, 16-18.05.2014.

Лодозова, Н., Д. Близнакова, Г. Цанкова, Антибиотична резистентност на ESBL-щамове, причиняващи уроинфекции при амбулаторни пациенти в детска възраст и тяхното разпространение в община Варна (2014) Трета научна сесия на Медицински колеж – Варна, 02-03.10.2014.