

Л.М. Бурова, Є.Д. Бурова

АНТИБІОТИКОЧУТЛИВІСТЬ КЛІНІЧНИХ ІЗОЛЯТІВ PSEUDOMONAS AERUGINOSA

Львівський національний медичний університет ім. Данила Галицького

Представлено результати дослідження чутливості до протимікробних хіміотерапевтичних препаратів штамів Pseudomonas aeruginosa, ізольованих від хворих при гнійно-запальних процесах різної локалізації: сечовивідних шляхів, ЛОР-органів, ранового вмісту, хворих на муковісцидоз. Виявлено препарати вибору для емпіричної терапії хворих до встановлення протимікробної чутливості збудників. Показано, що для ефективного лікування може бути рекомендований обмежений набір антибіотиків, насамперед піперацилін/тазобактам, цефепім, меропенем, амікацин при інфекціях сечовивідних шляхів; піперацилін/тазобактам, цефоперазон, цiproфлосакцин, амікацин – ЛОР-органів; піперацилін/тазобактам, цiproфлосакцин – ранового вмісту; піперацилін/тазобактам, меропенем, цефоперазон – при муковісцидозі.

Ключові слова: *Pseudomonas aeruginosa*, гнійно-запальні процеси, чутливість до протимікробних хіміотерапевтичних препаратів.

Pseudomonas aeruginosa (синьогнійна паличка) є одним з основних етіологічних факторів виникнення і поширення госпітальних інфекцій у клініках хірургічного, опікового, акушерського, урологічного, пульмонологічного та іншого профілю, ускладнюючи перебіг основного захворювання гнійними процесами і септикопемією. Природним місцем існування псевдомонад є ґрунт, прісні та солоні водоймища. Вони виділяються із кишечника у 5-10 % здорових людей і до 60 % пацієнтів стаціонарів. У клінічних відділеннях знаходяться на різних предметах і медичному обладнанні, рушниках, поверхні мила. Доведено, що псевдомонади можуть зберігати життєздатність у дезінфікуючих розчинах (наприклад, фурациліні), які використовують для промивання опікових ран, зберігання медичних інструментів, катетерів. Уражає бактерія в основному людей із слабким імунітетом, при зниженні захисних сил організму на фоні інших захворювань, особливо пацієнтів з нейтропенією, муковісцидозом, опіками, злоякісними новоутвореннями, цукровим діабетом, імуносупресією та ін.; уражає хворих похилого віку, які перенесли ін-

струментальні, хірургічні втручання і штучну вентиляцію легень, які тривалий час перебувають у клініках і одержують антибіотикотерапію [1]. Результати епідеміологічних досліджень останніх років свідчать про зростання етіологічного значення мультирезистентних штамів *P. aeruginosa* як у дорослих пацієнтів, так і у дітей України та світу.

Лікування синьогнійної інфекції є досить складною проблемою, що пов'язано з низкою причин. Ушкодження тканин, що спричинюється *P. aeruginosa*, має складний механізм і обумовлено продукцією цитотоксинів, ендотоксинів, гемолізинів і протеаз. Збереженню життєздатності і реплікації піоціанозів у тканинах людини і медичних приладах сприяє наявність біоплівки, яка захищає мікроорганізм від антитіл і фагоцитів хазяїна і сприяє розвитку антибіотикостійкості. Крім того, синьогнійна паличка має фімбрії, які полегшують адгезію до епітеліальних клітин дихальних шляхів, що, своєю чергою, обумовлює високу частоту колонізації і спостерігається у госпіталізованих пацієнтів. Відмінності між штамми *P. aeruginosa*, а саме наявність або відсутність протективної мукоїдної капсули і здатність збудника набувати антибіотикорезистентності в період лікування, також ускладнюють вибір антибіотика [1, 2].

За останні роки досягнуті значні успіхи в боротьбі з синьогнійною інфекцією, що зумовлено, насамперед, розробкою великого числа антибіотиків з потужною активністю *in vitro* відносно *P. aeruginosa*. До їх числа належать цефалоспорини III і IV поколінь, уреїдопеніциліни, монобактами, карбапенемами і фторхінолони. На жаль, при монотерапії псевдомонадних інфекцій, особливо спричинених мультирезистентними штамми, не завжди вдається досягти лікувального ефекту. Це стало підставою для застосування комбінацій антибіотиків [3]. Загальноприйнятною комбінацією у всьому світі є поєднання бета-лактаму з аміноглікозидом, внаслідок синергізму між цими групами препаратів, що продемонстроване *in vitro*, крім того комбінації антибіотиків, які проявляють синергічну дію *in vitro*, роблять і більш виражений терапевтичний ефект, ніж комбінація препаратів, що не виробляє такої дії [4].

Метою дослідження було визначення чутливості до протимікробних хіміотерапевтичних препаратів (ПХП) клінічних штамів *Pseudomonas aeruginosa*, ізольованих від хворих на інфекції сечовивідних шляхів, із запальними захворюваннями ротоглотки, післяопераційних хворих з гнійними ускладненнями, хворих на муковісцидоз, які лікувалися впродовж 2015-2016 рр. у м. Львові.

Матеріали і методи

Досліджено 45 ізолятів *P. aeruginosa*, які були виділені із сечі – 22 штами, із зіву – 11, із гною – 6, із харкотиння – 6 штамів. 39 штамів ізольовані із сечі, зіву, гною пацієнтів різної вікової категорії, 6 штамів – із харкотиння хворих на муковісцидоз віком від 3 до 18 років. Клінічні штами ідентифіковані за морфологічними, тинкторіальними та біохімічними властивостями. Виділення чистих культур здійснювалося загальноприйнятими методами. Антибіотикочутливість виділених ізолятів визначали диско-дифузійним методом. Використовували диски з піперацилін/тазобактамом (уреїдопеніциліни), іміпенемом, меропенемом (карбапенеми), цефтазидимом, цефоперазоном (цефалоспорины III покоління), гентаміцином, амікацином (аміноглікозиди), ципрофлоксацином (фторхінолони), відповідно до рекомендацій настанови МОЗ України «Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.2007 «Про затвердження методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактерійних препаратів».

Результати досліджень та їх обговорення

Враховуючи високу резистентність *P. aeruginosa* до ПХП, в роботі для оцінки антибіотикочутливості використали препарати, які мають найбільшу антипсевдомонадну активність – це β-лактами, аміноглікозиди та фторхінолони.

До β-лактамних антибіотиків, які в хімічній структурі мають β-лактамне кільце, належать пеніциліни, цефалоспорины, карбапенеми і монобактами, що мають бактерицидну дію. Механізм дії всіх β-лактамів – порушення синтезу клітинної стінки бактерій. Мішенню дії β-лактамів є пеніцилінзв'язуючі білки, локалізовані на поверхні цитоплазматичної мембрани. Відмінності в рівні «антипсевдомонадної» активності окремих β-лактамів значною мірою пояснюються їх здатністю дифундувати через зовнішню мембрану бактерійної клітини. Найбільшу природну активність проявляють карбапенемні антибіотики (іміпенем і меропенем), оскільки вони мають порівняно невелику молекулярну масу, крім цього, їх транспорт через зовнішню мембрану полегшує наявність в молекулі двох протилежних електричних зарядів [5]. Порівняно з пеніцилінами і цефалоспоринами, вони більш стійкі до гідролізу дії бактерійних β-лактамаз, у тому числі β-лактамаз роз-

ширеного спектру (БЛРС), і мають ширший спектр активності. Застосовуються при тяжких інфекціях різної локалізації, включаючи нозокоміальні, частіше як препарати резерву, але при загрозливих для життя інфекціях можуть бути розглянуті в якості першочергової емпіричної терапії. За результатами наших досліджень, чутливість до меропенему та іміпенему ізолятів *P. aeruginosa*, виділених із сечі, становила 27,3 і 18,2 % відповідно (табл. 1). За даними ізраїльських вчених із Тель-Авівського медичного центру, іміпенем-резистентні штами в основному мають поліклональне походження, резистентність головним чином обумовлена втратою порину [6], в результаті мутації поринового білка OprD. Цей механізм не характерний щодо резистентності до меропенему, оскільки транспорт останнього всередину клітини може здійснюватися і через інші поринові білки [7]. Також значну роль у стійкості до карбапенемів та інших β-лактамів відіграє продукція метал-β-лактамаз [8].

Резистентність синьогнійної палички до цефалоспоринов пов'язана з продукцією БЛРС, з надлишковою експресією цефалоспориноаз і/або класу А, В і D β-лактамаз [9]. Оскільки одним із найбільш чутливих до гідролізу БЛРС цефалоспорином є цефтазидим [10], саме його використали в дослідженні. В панель визначення чутливості ізолятів до ПХП із цефалоспоринов III покоління включили також цефоперазон, інші антибіотики цієї групи як «антипсевдомонадні» розглядати не можна [11].

Цефалоспорины IV покоління високо активні по відношенню до псевдомонад, їх також використовували в ході дослідження. Отже, за отриманими результатами встановлено чутливість до цефтазидиму – 18,2 %, цефоперазону – 22,7 %, цефепіму – 31,8 %, цефпірому – 22,7 %.

Найвищу чутливість синьогнійної палички зафіксовано до піперациліну/тазобактаму – 81,8 %. Ефективність використання уреїдопеніцилінів підтверджена науковцями інших країн [12-15]. Основні механізми стійкості *P. aeruginosa* до уреїдопеніцилінів пов'язані з гіперпродукцією AmpC – β-лактамаз.

Тривалий час в терапії синьогнійної інфекції, окрім антисиньогнійних пеніцилінів, використовують аміноглікозиди II і III поколінь (гентаміцин, амікацин). Аміноглікозиди мають бактерицидну дію, яка пов'язана з порушенням синтезу білка рибосомами. Найменша частота розповсюдження набутої резистентності до аміноглікозидів характерна для амікацину, чутливість до цього препарату мали 27,2 % штамів, до гентаміцину – 9,1 %. Стійкість *P. aeruginosa* до аміноглікозидних антибіотиків формується внаслідок трьох механізмів: модифікації ділянки зв'язування рибосом з антибіотиками, зниження транспорту всередину бактерійної клітини (порушення

Частота чутливості ізолятів *Pseudomonas aeruginosa* до протимікробних хімотерапевтичних препаратів

| Антибіотики | 22 ізоляти (виділені з сечі) | 11 ізолятів (виділені з ротоглотки) | 6 ізолятів (виділені з гною) | 6 ізолятів (виділені з харкотиння) |
|------------------------|---------------------------------|--|---------------------------------|---------------------------------------|
| Піперацилін/тазобактам | 81,8 % 18«» | 100 % 11 | 66,7 % 4 | 100 % 6 |
| Меропенем | 27,3 % 6 | – «**» | - | 83,3 % 5 |
| Іміпенем | 18,2 % 4 | - | - | 0 |
| Цефтазидим | 18,2 % 4 | 50 % 4 | 0 | 33,3 % 2 |
| Цефоперазон | 22,7 % 5 | 100 % 11 | 0 | 83,3 % 5 |
| Цефепім | 31,8 % 7 | - | 0 | 0 |
| Цефпіром | 22,7 % 5 | - | 0 | 0 |
| Амікацин | 27,2 % 6 | 63,6 % 7 | 33,3 % 2 | 33,3 % 2 |
| Гентаміцин | 9,1 % 2 | 36,3 % 4 | 33,3 % 2 | 0 |
| Ципрофлоксацин | 9,1 % 2 | 100 % 11 | 66,7 % 4 | |

Примітка: «» – кількість чутливих штамів; «**» – чутливість до даних препаратів не визначалась

проникливості внутрішньої або зовнішньої мембрани), ферментативної інактивації антибіотиків. Досить часто штами *P. aeruginosa* можуть продукувати одночасно декілька ферментів [16].

Серед фторованих хінолонів, які блокують бактерійну ДНК-гіразу і порушують функцію ДНК-бактерій, визначення чутливості проводять до ципрофлоксацину, оскільки інші препарати даної групи мають низьку «антипсевдомонадну» активність. Резистентність пов'язана зі зміною властивостей мішеней ДНК-гірази, топоізомерази IV і зниженням чутливості цих ферментів до фторхінолонів. Ці зміни визначають хромосомну природу лікарської стійкості та пов'язані з мутаціями в генах, які кодуєть ферменти ДНК-гіразу і топоізомерази IV. Мутації можуть бути одно-, дво- і багатоступінчасті. Інша причина розвитку резистентності до фторхінолонів – порушення проникливості зовнішньої клітинної мембрани. Порушення транспорту через поринові канали або порушення проникливості ліпополісахаридного шару перешкоджають проникненню фторхінолонів у клітину. Має значення феномен «Есфлюкс» – викиду, пов'язаного з функцією транспортних білків клітини [7]. Чутливість ізолятів, виділених із сечі, до ципрофлоксацину в нашому дослідженні становила 9,1 %.

100 % чутливість до ПХП ізоляти *P. aeruginosa*, виділені із зіву, виявили до піперациліну/тазобактаму,

цефоперазону, ципрофлоксацину. Чутливість до амікацину, цефтазидиму, гентаміцину становила 63,6; 50,0; 36,3 % відповідно.

Штами синьогнійної палички, ізольовані із гною, виявили чутливість на рівні 66,7 % до піперациліну/тазобактаму та ципрофлоксацину, чутливість до амікацину, гентаміцину становила 33,3 %. До цефтазидиму, цефоперазону, цефепіму, цефпірому виявили абсолютну резистентність.

Чутливість штамів, ізольованих із харкотиння, зафіксовано на рівні 100 % до піперациліну/тазобактаму, 83,3 % – до меропенему та цефоперазону, 33,3% – до цефтазидиму та амікацину. Нульовою була чутливість до іміпенему, цефепіму, цефпірому, гентаміцину, ципрофлоксацину.

Аналіз даних літератури показує, що синьогнійна інфекція залишається актуальною проблемою медицини. Вкрай тривожними фактами є поширеність даної інфекції без тенденції до зниження, зростання резистентності флори (в тому числі до раніше досить ефективних «антипсевдомонадних» антибіотиків), високий рівень летальності, що вимагає зваженого і уважного підходу до протимікробної терапії.

Висновки

Оскільки тяжкі інфекції, спричинені псевдомонадами, є показаннями для призначення комбінованої тера-

пії, доцільно при видачі відповіді в клініку вказувати на найбільш ефективну, з мікробіологічної точки зору, комбінацію антибіотиків. Крім того, дані мікроорганізми неможна розглядати як єдину групу з точки зору їх природної чутливості до ПХП. Оцінка антибіотикочутливості потребує індивідуального підходу. Приблизним мінімальним набором для оцінки антибіотикочутливості псевдомонад може бути такий: ізоляти із сечі найбільш чутливі до піперациліну/тазобактаму, цефепіму, меропенему, амікацину; із слизової оболонки ротоглотки – піперациліну/тазобактаму, цефоперазону, ципрофлоксацину, амікацину; із гною – піперациліну/тазобактаму, ципрофлоксацину; з харкотиння хворих на муковісцидоз – піперациліну/тазобактаму, меропенему, цефоперазону.

Література

1. Егорова О.Н. Эпидемиология и профилактика синегнойной инфекции / О.Н. Егорова, Е.Б. Брусина, Е.В. Григорьев // Федеральные клинические рекомендации. – М., 2014. – 82 с.
2. A Systems Biology Approach to Drug Targets in *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm / G. Sigurdsson, R.M. Fleming, A. Heinken [et al.] // PLoS One. – 2012. – Vol. 7, N 4. – P. 337-343.
3. DiMondi V.P. Risk factors associated with unfavorable short-term treatment outcome in patients with documented *Pseudomonas aeruginosa* infection / V.P. DiMondi, M.L. Townsend, R.H. Drew // Int. J. Clin. Pharm. – Epub 2015 Jan 31. – P. 348-354.
4. El-Azizi M. Microdilution Method to Assess Double and Triple Antibiotic Combination Therapy In Vitro / M. El-Azizi // Int. J. Microbiol. – Epub 2016 Apr 18.
5. Руднов В.А. Антибиотикотерапия госпитальных инфекций, вызванных *P. aeruginosa* / В.А. Руднов // Русс. мед. журн. – 2005. – Т. 13, № 7. – С. 38-41.
6. Carmeli Y. The effects of 1 versus group 2 carbapenems on imipenem-resistant *Pseudomonas aeruginosa*: an ecological study / Y. Carmeli, L. Shiri Rlarfeld // Dmid. Journal. – 2011. – Vol. 70, N 3. – P. 27-29.
7. Шелякова О.А. Проблема резистентности PSEUDOMONAS AERUGINOSA к антибиотикам / О.А. Шелякова // Современная медицина: актуальные вопросы: сб. ст. по матер. XVII междунар. науч.-практ. конф. – Новосибирск: СибАК, 2013. – С. 43-47.
8. Molecular epidemiology of beta-lactamases in ceftazidime-resistant *Pseudomonas aeruginosa* isolates / H. Er, M. Altındış, G. Aşik, C. Demir // Mikrobiyol. Bul. – 2015. – Vol.49, N 2. – P. 156-165.
9. Antibiotic susceptibility rates and beta-lactam resistance mechanisms of *Pseudomonas aeruginosa* strains / Z. Aktaş, D. Satana, C. Kayacan [et al.] // Mikrobiyol. Bul. – 2012. – Vol. 46, N 3. – P. 386-397.
10. Соловей Н.В. Проблема мультирезистентности синегнойной палочки в многопрофильном стационаре / Н.В. Соловей, И.А. Карпов // КМАХ. – 2012. – Т. 14, № 2. – С. 49.
11. Клиническая лабораторная аналитика / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Арат-Мед, 2003. – Т. IV. – 815 с.
12. Emergence of colistin resistant *Pseudomonas aeruginosa* at Tabriz hospitals, Iran / H.R. Goli, M.R. Nahaei, M. Ahangarzadeh Rezaee [et al.] // Iran J. Microbiol. – 2016. – Vol. 8, N 1. – P. 62-69.
13. Continuous versus intermittent piperacillin/tazobactam infusion in infection due to or suspected *Pseudomonas aeruginosa* / J. Cotrina-Luque, M.V. Gil-Navarro, H. Acosta-García [et al.] // Int. J. Clin. Pharm. – 2015. – P. 256-260.
14. Microbiological characteristics of sepsis in a University hospital / A.V. Vendemiato, A. Nowakowski, F.A. Marson, C.E. Levy // BMC Infect. Dis. – 2015. – P. 66-69.
15. *Pseudomonas aeruginosa* bacteraemia: independent risk factors for mortality and impact of resistance on outcome / R.C. Dantas, M.L. Ferreira, P.P. Gontijo-Filho, R.M. Ribas // J. Med. Microbiol. – 2014. – Vol. 63, N 12. – P. 1679-1687.
16. Ефименко Н.А. Инфекции в хирургии / Н.А. Ефименко, И.А. Гучев, С.В. Сидоренко. – Смоленск, 2004. – 296 с.

ANTIBIOTIC SUSCEPTIBILITY OF CLINICAL ISOLATES OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA

L.M. Burova, Y.D. Burova

SUMMARY. *The results of research of sensitivity to antimicrobial chemotherapy drugs of Pseudomonas aeruginosa isolated from patients with pyo-inflammatory processes of different localization of the urinary tract, ENT-organs, wound contents with mucoviscidosis. For the empirical treatment were revealed the drugs of choice for patients to establish the sensitivity of antimicrobial agents. It has been shown that for an effective treatment could be recommended a limited set of antibiotics, especially, for infections of the urinary tract – piperacillin/tazobactam, cefepim, meropenem, amikacin; for the ENT-organs – piperacillin/tazobactam, cefoperazone, ciprofloxacin, amikacin; piperacillin/tazobactam, ciprofloxacin- when festering; piperacillin/tazobactam, meropenem, cefoperazone – for patients with mucoviscidosis of wound contents.*

Key words: *Pseudomonas aeruginosa, pyo-inflammatory processes, sensitivity to antimicrobial drugs.*

Отримано 7.06.2016 р.