

УДК 619:371:579:841

ФОТІНА Т.І., д-р. вет. наук, проф., e-mail: tif_ua@meta.ua,

ВАЩИК Є.В., канд. вет. наук, e-mail: yevgeniavashik@gmail.com

Сумський національний аграрний університет

ЩЕРБИНА Р.О., канд. фарм. наук, e-mail: rscherbyna@gmail.com

Запорізький державний медичний університет

ПРОБЛЕМА АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТІ СИНЬОГНІЙНОЇ ПАЛИЧКИ ТА ПОШУК ЕФЕКТИВНИХ ЗАСОБІВ БОРОТЬБИ

Підтверджена наявність *P. aeruginosa* в змивах з об'єктів лікарняного середовища (стаціонарні заклади лікування, пологові відділення) та птахівничих приміщень (інкубаторії, цехи вирощування). Виявлена полірезистентність ізолятів *P. aeruginosa* до антибактеріальних засобів, відмічена тенденція до суттєвого зниження чутливості збудника відносно препаратів групи цефалоспоринів, фторхінолонів, аміноглікозидів. Встановлено ефективність запропонованого антибактеріального препарату Сарофлорсу щодо *P. aeruginosa* в концентраціях від 0,078 до 10% та більш виражену його активність у порівнянні з енрофлоксацином.

Ключові слова: *Pseudomonas aeruginosa*, синьогнійна паличка, антибактеріальні препарати, антибіотикорезистентність, Сарофлорс.

Вступ. Антибіотики – надзвичайно важливі лікарські засоби для боротьби з бактеріальними інфекціями. Після впровадження антибактеріальних препаратів в практичну медицину вони стали розглядатися як медикаменти, здатні виліковувати всі проблемні інфекційні захворювання. Але мікроорганізми еволюціонували, швидко виробляючи нові механізми стійкості.

Суспільство інфекційних хвороб Америки визначило ряд ключових, проблемних в плані надмірного поширення в стаціонарах і стійкості до антибіотиків нозокоміальних патогенів, серед яких перше місце займає *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*, синьогнійна паличка). Це грамнегативна бактерія, вкрай невимоглива до умов існування, має безліч факторів патогенності, є патогеном для людини, тварин та рослин [1–3].

Завдяки своєму поширенню в навколишньому середовищі стаціонарів, пологових відділень і постійному впливу антибіотиків, дезінфектантів («селективний пресинг») сьогодні нозокоміальні ізоляти синьогнійної палички демонструють практично всі відомі механізми стійкості до антимікробних препаратів. Це створює значні труднощі при виборі адекватної емпіричної терапії полірезистентної синьогнійної інфекції, призводячи до зростання летальності, збільшення тривалості госпіталізації, множинним інвазивним лікувально–діагностичним втручанням і економічним витратам [4, 5].

В галузі ветеринарної медицини псевдомонозна інфекція також має місце та є особливо актуальною в птахівництві. Псевдомоноз птиці – інфекційне захворювання, яке викликається *P. aeruginosa* і перебігає у формі септицемії та токсемії, з високою смертністю молодняка всіх видів, а також ембріонів переважно в останні дні інкубації. Захворюваність та смертність коливається в

межах 30–40% і може досягати 90%. Тому захворювання, викликане *P. aeruginosa*, завдає промислового птахівництва великі економічні збитки, а також має і соціальне значення. Збудник псевдомонозу може бути джерелом харчових токсикоінфекцій людини [6–8].

З метою пошуку шляхів вирішення проблем антибіотикорезистентності ізолятів *P. aeruginosa* запропоновано експериментальний антибактеріальний препарат з групи фторхінолонів Сарофлоркс виробництва науково–виробничої фірми «Бровафарма».

Мета роботи. Метою роботи було вивчення проблематики антибіотикорезистентності синьогнійної палички в гуманній, ветеринарній медицині та дослідження ефективності запропонованого антибактеріального препарату Сарофлоркс відносно *P. aeruginosa*. Для реалізації обраної мети було поставлено завдання:

- ізоляція культур *P. aeruginosa* шляхом мікробіологічного дослідження змивів з об'єктів лікарняного середовища (стаціонарні заклади лікування, пологові відділення) і виробничих поверхонь інкубаторіїв, цехів вирощування молодняку птиці Сумської та Харківської областей;
- вивчення спектру чутливості отриманих ізолятів *P. aeruginosa* до антибактеріальних препаратів вибору;
- визначення *in vitro* ефективності запропонованого антибактеріального препарату Сарофлоркс щодо виділених ізолятів *P. aeruginosa* у порівнянні з енрофлорксацином.

Матеріали і методи дослідження. Дослідження проводили в умовах лабораторії кафедри ветсанекспертизи, мікробіології, зоогієни та безпеки і якості продуктів тваринництва факультету ветеринарної медицини Сумського національного аграрного університету (м. Суми). Змиви з різних ділянок поверхонь об'єктів лікарняного середовища медичних закладів та птахівничих приміщень птахогосподарств Сумської та Харківської областей відбирали згідно із загальноприйнятими методиками відбору проб для визначення якості дезінфекції. Етіологічна структура мікроорганізмів визначалась класичними мікробіологічними методами посіву на поживні середовища з використанням додаткових мікробіологічних тестів.

Чутливість ізолятів *P. aeruginosa* до антибактеріальних препаратів визначали методом дифузії в агар відповідно до «Інструкції для медичного застосування дисків з антибіотиками для визначення чутливості мікроорганізмів до лікарських засобів».

Запропонований експериментальний препарат Сарофлоркс являє собою порошок, 1 г препарату містить діючу речовину: сарофлорксацину гідрохлорид – 100 мг. Ефективність Сарофлорксу відносно отриманих ізолятів *P. aeruginosa* визначали методом серійних розведень в рідкому поживному середовищі – м'ясопептонному бульйоні (МПБ) у порівнянні з енрофлорксацином (ТОВ НВП «СУЛА–ФАРМ»). Для візуального визначення інтенсивності прояву антимікробної дії проводили пересіви з МПБ на МПА. Облік проводили через 24 год. за кількістю колоній, що вирости на МПА. З метою визначення

мінімальної інгібуючої концентрації готували двократні розведення досліджуваних препаратів в МПБ від 10 до 0,039% [9].

Результати досліджень та їх обговорення. При бактеріологічному дослідженні змивів із 165 проб було виділено 12 культур *P. aeruginosa* з різних об'єктів медичних закладів та птахівничих господарств (7,27% від загального числа відібраних проб). Відмічено, що частота виділення синьогнійної палички в медичних закладах та об'єктах птахівництва не мала великої різниці: 6,67–7,62% відповідно від числа досліджених проб за групами (табл. 1).

Таблиця 1

Наявність *P. aeruginosa* в змивах з різних об'єктів лікарняного середовища та птахівничих приміщень

Об'єкти взяття змивів		Кількість досліджень, n	Виділено культур <i>P. aeruginosa</i> , n (% від числа досліджених проб в групі)
Лікарняне середовище	підлога, панелі	30	1 (1,67)
	раковини, туалети	30	3 (5,00)
	всього по групі	60	4 (6,67)
Об'єкти птахівництва	вивідні та інкубаційні шафи	35	3 (2,86)
	шкаралупа яєць	35	3 (2,86)
	цех вирощування	35	2 (1,90)
	всього по групі	105	8 (7,62)
Загальна кількість досліджень		165	12 (7,27)

Отримані результати дослідження чутливості ізолятів *P. aeruginosa* до 17 антибіотиків різних фармакологічних груп (табл. 2) свідчать про те, що виділені культури *P. aeruginosa* були чутливими до антибіотиків групи цефалоспоринів (цефтазидим, цефоперазон, цефепім) лише 66,67–91,67% випадків. Встановлено зниження чутливості до антибіотиків з групи фторхінолонів, а саме до левофлоксацину, офлоксацину та ципрофлоксацину – 66,67–75% випадків, до норфлоксацину та енрофлоксацину виділені культури проявляли чутливість тільки в 50% і 58,33% випадків відповідно.

Таблиця 2

Чутливість виділених культур *P. aeruginosa* до антибіотиків, n=12

Ізольовані культури <i>P. aeruginosa</i>	Антибіотики																
	Цефтазидім	Цефоперазон	Цефепім	Левофлоксацин	Норфлоксацин	Офлоксацин	Ципрофлоксацин	Енрофлоксацин	Доксициклін	Тетрациклін	Пеніцилін	Поліміксин В	Еритромицин	Тилозин	Амікацин	Гентаміцин	Спектиномицин
P.a.1	S	+	+			+									+		
	I			+	+			+				+					
	R					+			+	+	+	+		+	+		+
P.a.2	S	+	+	+	+		+					+			+		
	I					+		+									
	R								+	+	+	+		+	+		+
P.a.3	S	+	+	+	+		+								+	+	
	I					+		+	+			+					
	R									+	+	+		+	+		+
P.a.4	S	+					+								+		
	I							+				+					
	R		+	+	+	+			+	+	+	+		+	+	+	+
P.a.5	S	+		+								+			+	+	
	I						+										+
	R		+		+	+		+	+	+	+	+	+	+			+
P.a.6	S	+		+											+		+
	I		+			+		+									
	R				+		+	+		+	+	+	+	+		+	
P.a.7	S	+	+		+	+	+	+				+			+	+	
	I			+				+									
	R								+	+	+		+	+			+
P.a.8	S	+			+			+				+					
	I		+			+											
	R			+			+	+		+	+	+		+	+	+	+
P.a.9	S	+	+	+	+	+	+	+				+			+	+	
	I							+									
	R								+	+	+		+	+			+
P.a.10	S	+		+	+	+	+	+				+			+	+	+
	I		+					+									
	R								+	+	+		+	+			
P.a.11	S	+			+							+			+		
	I							+									
	R		+	+		+	+		+	+	+		+	+		+	+
P.a.12	S		+		+	+						+					
	I																+
	R	+		+		+		+	+	+	+		+	+	+	+	
Резистентні штами, %	8,33	25	33,33	25	41,67	25	33,33	50	100	100	100	8,33	100	100	25	58,33	66,67
Чутливі штами, %	91,67	75	66,67	75	58,33	75	66,67	50	0	0	0	91,67	0	0	75	41,67	33,33

Примітки: S – чутливі штами, I – помірно-чутливі штами, R – резистентні штами.

Ефективним щодо отриманих ізолятів були поліміксин В (91,67%), амікацин (75%). Встановлено зниження ефективності гентаміцину (41,67%) та спектиноміцину (33%). До антибіотиків з групи тетрациклінів, макролідів, пеніцилінів всі виділені культури *P. aeruginosa* були резистентними.

В результаті визначення ефективності експериментального препарату Сарофлоксу методом серійних розведень в бульйоні встановлена антимикробна дія до всіх досліджуваних культур *P. aeruginosa* (табл. 3).

Таблиця 3

Антимикробна дія Сарофлоксу методом серійних розведень в бульйоні

Бактеріальні культури <i>P. aeruginosa</i>	Розведення препарату, % / ріст бактеріальних культур								
	10	5	2,5	1,25	0,625	0,31	0,156	0,078	0,039
Р.а.1	–	–	–	–	–	–	–	–	–
Р.а.2	–	–	–	–	–	–	–	–	+ (2)
Р.а.3	–	–	–	–	–	–	–	–	+ (1)
Р.а.4	–	–	–	–	–	–	–	–	+ (2)
Р.а.5	–	–	–	–	–	–	–	–	+ (3)
Р.а.6	–	–	–	–	–	–	–	+ (2)	+ (4)
Р.а.7	–	–	–	–	–	–	–	–	+ (2)
Р.а.8	–	–	–	–	–	–	–	–	+ (3)
Р.а.9	–	–	–	–	–	–	–	–	+ (2)
Р.а.10	–	–	–	–	–	–	–	–	+ (3)
Р.а.11	–	–	–	–	–	–	–	–	+ (4)
Р.а.12	–	–	–	–	–	–	–	–	+ (1)
Ефективність препарату, %	100	100	100	100	100	100	100	91,67	8,33

Примітки: «–» – відсутність росту культур бактерій, є антимикробна дія; «+» – наявність росту культур бактерій, антимикробна дія відсутня, «(3)» – кількість окремих колоній на МПА після пересіву з МПБ.

Так, запропонований антибактеріальний препарат Сарофлокс проявляв 100% антимикробну дію в концентраціях від 0,156 до 10%, в концентрації 0,078% мав 91,67% ефект. В розведенні Сарофлоксу 0,039% – культури проявляли резистентність (ефективність 8,33%).

Препарат порівняння енрофлоксацин проявляв 100% антимикробну дію лише в 5–10% розведеннях. При концентрації 1,25–2,5% ефективність знижувалась майже вдвічі – 58,33–75%. В розведеннях 0,31–0,039% – встановлена 100% резистентність культур *P. aeruginosa* (табл. 4).

Порівняльний аналіз антимикробної дії досліджуваних засобів вказує на те, що активність мінімальної інгібуючої концентрації запропонованого препарату Сарофлоксу є вищою в 8 разів відносно енрофлоксацину.

Висновки та перспективи подальших досліджень. Результати бактеріологічних досліджень змивів, відібраних з різних місць лікарняного середовища та птахівничих приміщень свідчать про наявність в них синьогнійної палички.

Таблиця 4

Антимікробна дія енрофлоксацину методом серійних розведень в бульйоні

Бактеріальні культури <i>P. aeruginosa</i>	Розведення препарату, % / ріст бактеріальних культур								
	10	5	2,5	1,25	0,625	0,31	0,156	0,078	0,039
Р.а.1	–	–	–	–	+(13)	+++	+++	+++	+++
Р.а.2	–	–	–	–	+(15)	+++	+++	+++	+++
Р.а.3	–	–	–	–	+(10)	+++	+++	+++	+++
Р.а.4	–	–	+(7)	+(11)	+(17)	+++	+++	+++	+++
Р.а.5	–	–	–	+(9)	+(16)	+++	+++	+++	+++
Р.а.6	–	–	+(8)	+(10)	+(15)	+++	+++	+++	+++
Р.а.7	–	–	–	–	+(14)	+++	+++	+++	+++
Р.а.8	–	–	–	+(8)	+(10)	+++	+++	+++	+++
Р.а.9	–	–	–	–	+(13)	+++	+++	+++	+++
Р.а.10	–	–	–	–	+(17)	+++	+++	+++	+++
Р.а.11	–	–	+(7)	+(11)	+(16)	+++	+++	+++	+++
Р.а.12	–	–	–	–	+(15)	+++	+++	+++	+++
Ефективність препарату, %	100	100	75	58,33	–	–	–	–	–

Примітки: «–» – відсутність росту культур бактерій, є антимікробна дія; «+» – наявність росту культур бактерій, антимікробна дія відсутня, «(3)» – кількість окремих колоній; «+++» – суцільний ріст.

Підтверджена полірезистентність ізолятів *P. aeruginosa* до антибактеріальних засобів та тенденція до зниження чутливості збудника відносно препаратів групи цефалоспоринів, фторхінолонів, аміноглікозидів.

Встановлено ефективність запропонованого антибактеріального препарату Сарофлоксу щодо *P. aeruginosa* в концентраціях від 0,078 до 10% та більш виражену активність у порівнянні з енрофлоксацином, що обґрунтовує в подальшому рекомендацію внесення Сарофлоксу до списку препаратів вибору під час визначення чутливості ізольованих культур з метою лікування синьогнійної інфекції. В подальшому заплановано дослідження ефективності Сарофлоксу *in vivo* в експерименті при псевдомонозній інфекції різних видів тварин та птиці.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Абаев Ю.К. Внутрибольничная инфекция в неонатологии / Ю.К. Абаев // Медицинские новости, 2006. – №11. – С. 37–43.
2. Егорова О. Н. Инфекции, обусловленные *Pseudomonas aeruginosa*. в отделении реанимации / О. Н. Егорова // Общая реаниматология, 2010. – VI. – 5. – С. 51–54.
3. Salimi H. Drug Susceptibility and Molecular Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated in a Burn Unit / Salimi, H., Owlia, P., Yakhchali, B., Lari, R. // American Journal of Infectious Diseases. – 2009. – 5 (4). – P. 308– 13.
4. Бюллетень антибиотикорезистентности респираторных патогенов в ОИТАР г. Ставрополя. Учебно–методическое пособие / Батурин В.А. [и др.]. – Ставрополь: Изд. СтГМУ. – 2014. – С. 24.
5. Эпидемиология и профилактика синегнойной инфекции. Федеральные клинические рекомендации. – М., 2014. – 82 с.
6. Зон Г.А. Дослідження імунорезистентного статусу та реакції органів імунної системи при експериментальному псевдомонозі птиці / Г.А. Зон, Є.В. Ващик // Ветеринарна медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2010. – № 93. – С. 178–182.

7. Фотіна Т.І. «Моніторинг біологічних властивостей ізолятів *Pseudomonas aeruginosa* при довготривалому зберіганні» / Т.І. Фотіна, Є.В. Ващик // Ветеринарна медицина: Міжвід. темат. наук. зб. – Харків, 2016. – № 102. – С. 125-128.

8. Fotina T.I. Bacterial contamination of food eggs during infectious diseases / T.I. Fotina // 9 European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products, Kusadasi, Turkey. – 2001. – P. 265–269.

9. Определение чувствительности микроорганизмов к антибактериальным препаратам. Методические указания. МУК 4.2.1890–04. УТВ. 04.03. 2004 / Клиническая микробиология. Антимикробная терапия. – 2004. – Т. 6. – № 4. – С. 306–359.

ПРОБЛЕМА АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ СИНЕГНОЙНОЙ ПАЛОЧКИ И ПОИСК ЭФФЕКТИВНЫХ СРЕДСТВ БОРЬБЫ / Фотина Т.И., Ващик Е.В., Щербина Р.А.

*Подтверждено наличие *P. aeruginosa* в смывах с объектов больничной среды (стационарные лечебные учреждения, родильные отделения) и птицеводческих помещений (инкубатории, цеха выращивания). Выявлена полирезистентность изолятов *P. aeruginosa* к антибиотикам, отмечена тенденция к существенному снижению чувствительности возбудителя в отношении препаратов группы цефалоспоринов, фторхинолонов, аминогликозидов. Установлена эффективность предложенного антибактериального препарата Сарофлокса относительно *P. aeruginosa* в концентрациях от 0,078 до 10% и более выраженная его активность в сравнении с энрофлоксацином.*

Ключевые слова: *Pseudomonas aeruginosa*, синегнойная палочка, антибактериальные препараты, антибиотикорезистентность, Сарофлокс.

THE PROBLEM OF PSEUDOMONAS AERUGINOSA ANTIBIOTIC-RESISTANCE AND SEARCH OF EFFECTIVE MEANS OF FIGHTING / Fotina T.I., Vashchik Ye.V, Shcherbyna R. O.

Introduction. *Pseudomonas aeruginosa* (*P. aeruginosa*) is one of the “traditional” pathogens of purulent-septic diseases and complications, which causes about 30–70% of nosocomial infection cases. The causative agent has many pathogenicity factors and a complex of mechanisms for the development of resistance to antibiotics. *P. aeruginosa* is a pathogen for humans, animals and plants. Pseudomonosis is an acute contagious infectious disease of agricultural animals, fur animals, pets, birds, foxes, arctic foxes and fish. *P. aeruginosa* causes an infectious disease of young animals in the form of septicemia, toxemia with high mortality, and embryos death mainly in the last days of incubation. In adult animals *Pseudomonas* infection is characterized by the development of septicemia, pneumonia, encephalitis, aerosaculate, conjunctivitis, necrotic dermatitis, arthritis, hepatitis. The disease causes significant economic losses in livestock and poultry.

The goal of the work was to study antibiotic resistance of *P. aeruginosa* in humane and veterinary medicine and research the effectiveness of the proposed anti-bacterial preparation Saroflox towards to *P. aeruginosa*.

Materials and methods. Sensitivity of *P. aeruginosa* isolates to antibacterial preparations was determined by diffusion method in agar. The effectiveness of the proposed experimental antibiotic “Saroflox” against the isolates of *P. aeruginosa* was determined by the method of serial dilutions in a liquid nutrient medium – meat-pumped broth in comparison with enrofloxacin.

Results of research and discussion. The presence of *P. aeruginosa* in the smears from the objects of the hospital environment (inpatient hospital, maternity hospital) and poultry farms (hatchery, chicken breeding department) has been confirmed. The polyresistance of *P. aeruginosa* isolates to antibacterial preparations has been established. A tendency to decrease in the sensitivity

of the pathogen against the preparation of the group of cephalosporins, fluoroquinolones, aminoglycosides has been confirmed.

Conclusions and prospects for further research. The effectiveness of the proposed anti-bacterial preparation Saroflox against *P. aeruginosa* in the concentrations from 0.078 to 10% and its more pronounced activity compared to enrofloxacin has been established.

Keywords: *Pseudomonas aeruginosa*, antibiotics, antibiotic resistance, Saroflox, enrofloxacin.

REFERENCES

1. Abaev, Ju.K. (2006). Vnutribol'nichnaja infekcija v neonatologii [Intrahospital infection in neonatology]. *Medicinskie novosti – Medical News*, 11, 37–43 [in Russian].
2. Egorova, O.N. (2010). Infekcii, obuslovlennye *Rseudomonas aeruginosa* v otdelenii reanimacii [Infections due to *Pseudomonas aeruginosa*. in the intensive care unit]. *Obshhaja reanimatologija – General Reanimatology*, I, 5, 51–54 [in Russian].
3. Salimi, H., Owlia, P., Yakhchali, B. & Lari, R. (2009). Drug. Susceptibility and Molecular Epidemiology of *Pseudomonas aeruginosa* Isolated in a Burn Unit. *American Journal of Infectious Diseases*, 5 (4), 308 – 313.
4. Baturin, V.A., Shhetinin, E.V. & Demidenko, I.F. (2014). *Bjulleten' antibiotikorezistentnosti respiratornyh patogenov v OITAR g. Stavropolja. Uchebno–metodicheskoe posobie [Bulletin of antibiotic resistance of respiratory pathogens in the OITAR of Stavropol. Teaching aid]*. Stavropol': Izd. StGMU [in Russian].
5. *Epidemiologiya i profilaktika sinegnojnoj infektsii. Federal'nyye klinicheskiye rekomendatsii [Epidemiology and prevention of Pseudomonas aeruginosa infection. Federal Clinical Recommendations]*. (2014). – Moscow [in Russian].
6. Zon, G.A. & Vashhik, Y.V. (2010). Doslidzhennja imunorezistentnogo statusu ta reakcii organiv imunnoi sistemi pri eksperimental'nomu psevdomonozu ptici [Investigation of the immunoregressive status and reaction of organs of the immune system in an experimental pseudomonosis of poultry]. *Veterinarna medicina – Veterinary medicine*, 93, 178–182 [in Ukrainian].
7. Fotina, T.I. & Vashhik, Y.V. (2016) Monitorynh biolohichnykh vlastyvostry izolyativ *Rseudomonas aeruginosa* pry dovhotryvalomu zberihanni [Monitoring of biological properties of isolates of *Pseudomonas aeruginosa* in long-term storage]. *Veterynarna medytsyna– Veterinary Medicine*, 102, 125–128 [in Ukrainian].
8. Fotina T.I. (2001). Bacterial contamination of food eggs during infectious diseases. Proceedings from the Quality of Eggs and Egg Products: *The 9 European Symposium on the Quality of Eggs and Egg Products*. (pp. 265–269), Turkey.
9. Opredelenie chuvstvitel'nosti mikroorganizmov k antibakterial'nym preparatam. Metodicheskie ukazanija [Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs. Guidelines]. (2004). MUK 4.2.1890–04. Utv. 04.03. 2004. *Klinichskaja mikrobiologija. Antimikrobnaja terapija – Clinical microbiology. Antimicrobial therapy*, 6, 4, 306–359 [in Russian].