

DOI: 10.31636/prmd.v1i2.2

Антибіотикорезистентність *Acinetobacter baumannii* як збудника хірургічної інфекції та підходи до її подолання з використанням антисептика декаметоксину

Назарчук О. А., Нагайчук В. І.

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова.

Резюме. У статті подано результати дослідження чутливості ізолятів *Acinetobacter baumannii* щодо бета-лактамних антибіотиків (ампіцилін-сульбактам, цефоперазон, цефоперазон-сульбактам, меропенем, іміпенем), амікацину, фторхінолонів (ципрофлоксацин, гатифлоксацин) і антисептичного препарату декаметоксин (ДКМ). Виначено зниження чутливості (2011–2015 рр.) *A. baumannii* до цефалоспоринових та карбапенемних антибактеріальних засобів. Доведено високі показники резистентності ацинетобактерій щодо досліджуваних фторхінолонів ципрофлоксацину (96,1 %), гатифлоксацину (95,8 %). У результаті досліджень *in vitro* встановлено відновлення/підвищення чутливості до антибіотиків у ізолятів *A. baumannii* при застосуванні лікарського антисептичного препарату ДКМ в суббактеріостатичних концентраціях.

Ключові слова: антибіотики, ацинетобактерії, декаметоксин, резистентність

Неферментуючі грамнегативні мікроорганізми, а саме – бактерії роду *Acinetobacter*, були віднесені Всесвітньою організацією охорони здоров'я до збудників першого рівня пріоритетності у виникненні важких інфекційних ускладнень, пов'язаних з наданням медичної допомоги. Нині кількість антибіотикорезистентних представників *Acinetobacter baumannii*, які циркулюють у хірургічних та реанімаційних стаціонарах, зростає. Так, збудник *A. baumannii* досить швидко зайняв своє місце серед проблемних мікроорганізмів (ESKAPE) [1, 2].

Загальноприйняті та рекомендовані для антибіотикотерапії лікарські препарати суттєво втратили ефективність щодо *A. baumannii*. За даними багатоцентрових досліджень поширення інфекційних збудників, у *A. baumannii* зареєстровано високу здатність до селекції антибіотикорезистентних штамів. Незважаючи на багаторічний світовий досвід боротьби з інфекційними

ускладненнями, пов'язаними з неферментуючими грамнегативними бактеріями, застосування нових антибіотиків, ескалація антимікробної терапії забезпечує лише короткотривалий ефект і не дозволяє повною мірою вирішити проблему антибіотикорезистентності даних мікроорганізмів. За таких умов детальне дослідження чутливості *Acinetobacter spp.* та розробка нових підходів до подолання антибіотикорезистентності серед таких розповсюджених збудників інфекційних ускладнень в хірургії є нагальною задачею сучасної медицини [3, 4].

Мета

Дослідження антибіотикорезистентності ізолятів *A. baumannii* як збудників хірургічної інфекції та мікробіологічне обґрунтування подолання даної резистентності з використанням антисептика декаметоксину.

Матеріали та методи

Дослідження проводили на 190 клінічних штаммах *A. baumannii*, виділених від хворих з опіковою хворобою, що перебували на лікуванні в опіковому відділенні Вінницької обласної клінічної лікарні ім. М. І. Пирогова у 2011–2015 рр. Клінічні ізоляти *A. baumannii* виділяли від пацієнтів з опіками IIб–III ст. (площа ураження 30,0–85,0 %) до початку антибактеріальної терапії. Всі пацієнти одержували хірургічне лікування (рання некректомія в перші три доби, ксенодермопластика), комплексне загальне (збалансована інфузійно-трансфузійна, антибактеріальна, симптоматична терапія) і місцеве лікування в необхідному об'ємі відповідно до протоколів лікування таких хворих. Мікробіологічне дослідження біологічного матеріалу, одержаного від хворих, виконували в бактеріологічній лабораторії кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України.

Чутливість клінічних штамів *A. baumannii* визначали до антибіотиків ампіциліну/сульбактаму, цефоперазону, цефоперазон/сульбактаму, меропенему, іміпенему, амікацину, ципрофлоксацину і гатифлоксацину та антисептика декаметоксину® (ДКМ®; Реєстраційне посвідчення № UA/14444/01/01 від 24.06.2015. Наказ МОЗ України № 373) [5]. Доцільність застосування наведених антибіотиків для лікування інфекцій, викликаних *A. baumannii*, оцінювали згідно з кількістю (у %) чутливих, помірно стійких та резистентних штамів загальної вибірки ($n = 190$). Вивчення чутливості *A. baumannii* до антибіотиків, антисептика ДКМ® виконували дисконфузійним, двократним серійним розведенням методами (наказ Міністерства охорони здоров'я України № 167 від 05.04.2007 р. «Про затвердження методичних вказівок визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»). Під час аналізу чутливості *A. baumannii* до антибіотиків керувались рекомендація-

ми Європейського комітету з питань вивчення чутливості до антимікробних засобів (EUCAST Expert rules) [6, 7].

Дослідження впливу антисептика декаметоксину на чутливість ацинетобактерій до антибіотиків проводили на 35 клінічних штаммах *A. baumannii*, які були обрані із загальної кількості дослідних ізолятів. Вплив ДКМ® на чутливість клінічних штамів до антибіотиків визначали шляхом порівняння мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК) антибіотика, визначених методом серійних розведень у поживному бульйоні, та мінімальних інгібуючих концентрацій (МІК^{ДКМ}) антибіотика, що визначали в поживних середовищах, які містили суббактеріостатичні концентрації декаметоксину для кожного із дослідних штамів. **Для об'єктивної оцінки ступеня достовірності одержаних результатів дослідження використали варіаційно-статистичний** метод аналізу, обчислюючи середні арифметичні значення (M), середню похибку середньої арифметичної (m), середню похибку (t), достовірність різниці результатів (p). **Застосовували комп'ютерну** програму Statistica 6.0.

Результати та їх обговорення

Результати дослідження показали високу резистентність серед ізолятів *A. baumannii* у 2011–2015 рр. (рис. 1).

Встановлено зміну профілю антибіотикочутливості *A. baumannii* протягом п'яти років. У 2011 р. переважна більшість штамів були чутливими до цефоперазону/сульбактаму (55,6 %), іміпенему (57,1 %), меропенему (52,8 %). В той же час чутливість щодо ампіциліну/сульбактаму і ципрофлоксацину визначали в малій кількості клінічних штамів *A. baumannii* (3,4 % та 2,7 % відповідно). За п'ять років спостереження чутливість ацинетобактерій знизилась до всіх досліджуваних антибіотиків, за винятком ампіциліну/сульбактаму. Так, кількість чутливих до даного антибіотика штамів *A. baumannii* зросла до 70,2 %. Одержані результати,

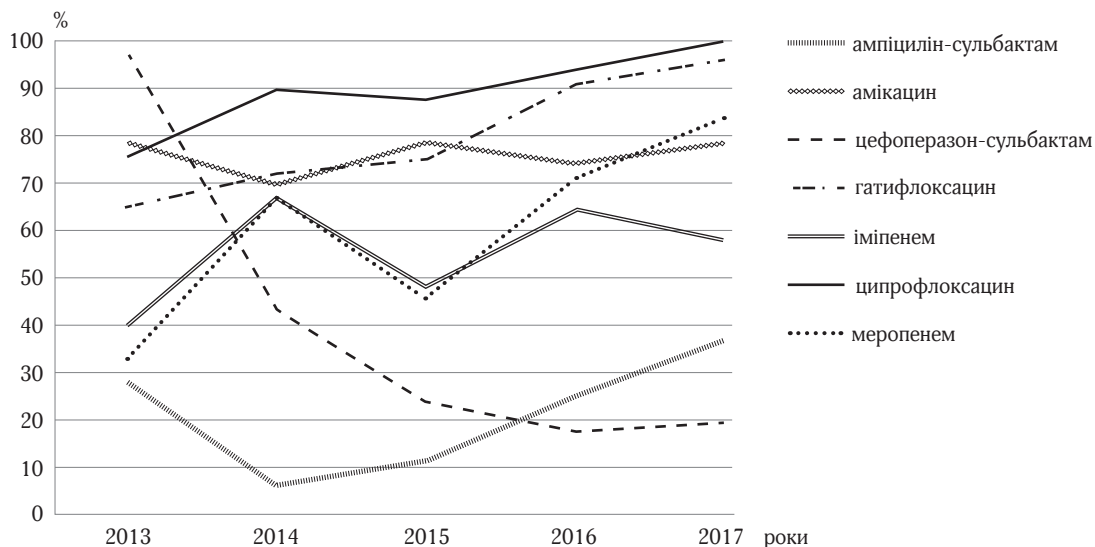


Рис. 1. Показники антибіотикорезистентності штамів *A. baumannii* (2013–2017 рр.; у %)

можна пояснити насамперед селективним тиском антибіотиків, які застосовують для лікування інфекцій, викликаних даними мікроорганізмами.

У динаміці (2011–2015 рр.) встановлено зростання кількості резистентних штамів *A. baumannii* до антибактеріальних препаратів (рис. 1). Згідно з одержаними даними, антибіотики, які на сьогодні рекомендовані для лікування ацинетобактерних інфекцій, поступово втрачали свою ефективність, про що свідчить зростання кількості резистентних штамів за дослідний період. Поступове зменшення кількості резистентних до ампіциліну/сульбактаму клінічних штамів *A. baumannii* можна пояснити обмеженим застосуванням цього препарату в лікуванні ранової інфекції в даному стаціонарі відповідно до даних мікробіологічного дослідження антибіотикочутливості, що засвідчило його неефективність у 2011 р. (3,4 %).

Водночас визначено високу резистентність ацинетобактерій у 2015 р. до фторхінолонів (ципрофлоксацин – 96,1 %; гатифлоксацин – 95,8 %), зумовлену широким використанням даних антибіотиків для лікування опікової інфекції. Подібну динаміку відзначали для карбапенемів. Зокрема, клінічні штами *A. baumannii* були резистентними до меропенему (83,8 %) та імipенему (57,9 %). Отримані нами результати відображають тенденцію зміни профілю антибіотикочутливості *A. baumannii* від мультирезистентних (MDR) до екстенсивно резистентних (XDR), яка становить серйозну проблему сучасного лікування інфекцій, викликаних цією групою мікроорганізмів [6].

Нагальною проблемою клінічної медицини є пошук можливих шляхів підвищення чутливості клінічних штамів до антимікробної терапії та зменшення швидкості формування резистентних штамів. З цією метою нами було досліджено *in vitro* комбіновану дію лікарського антисептичного препарату ДКМ® та вищезазначених антибіотиків на 35 клінічних штамів *A. baumannii*, які

за профілем чутливості поділялись на наступні групи: резистентні до 1–2 антибіотиків однієї хімічної групи (11 %); мультирезистентні (MDR) до дії досліджуваних антибіотиків, за винятком препаратів одного із класів (60 %), і екстенсивно резистентні (XDR) штами, які зберігали чутливість тільки до одного з антибіотиків (29 %).

Результати вивчення чутливості штамів ацинетобактерій до антибіотиків продемонстрували зменшення МІК антибіотиків у 1,5–4 рази в середовищах, які містили суббактеріостатичні концентрації ДКМ®, і особливо для групи резистентних мікроорганізмів (табл. 1, 2). Доведено, що в більшості досліджуваних штамів *A. baumannii* відбувалось відновлення або підвищення чутливості до антибіотиків у присутності антисептика ДКМ®.

Результати щодо зниження резистентності до антимікробних препаратів представлені на рис. 2; 3.

Встановлено, що кількість чутливих штамів *A. baumannii* збільшувалась до антибіотиків усіх груп, в тому числі до фторхінолонів і цефоперазону, до яких чутливість зберігали поодинокі штами. Позитивний вплив суббактеріостатичних концентрацій ДКМ® на підвищення чутливості *A. baumannii* до антибіотиків може бути зумовлений багатьма механізмами його антимікробної дії (підвищення проникності клітинної стінки бактерій, інактивація бактеріальних ферментів, елімінація плазмід резистентності та ін.), що призводить до подолання резистентності ацинетобактерій до антибіотиків.

Висновки

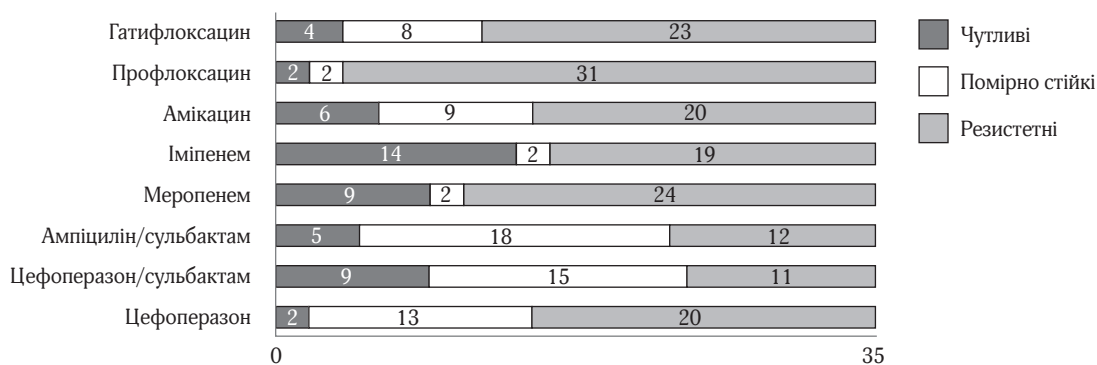
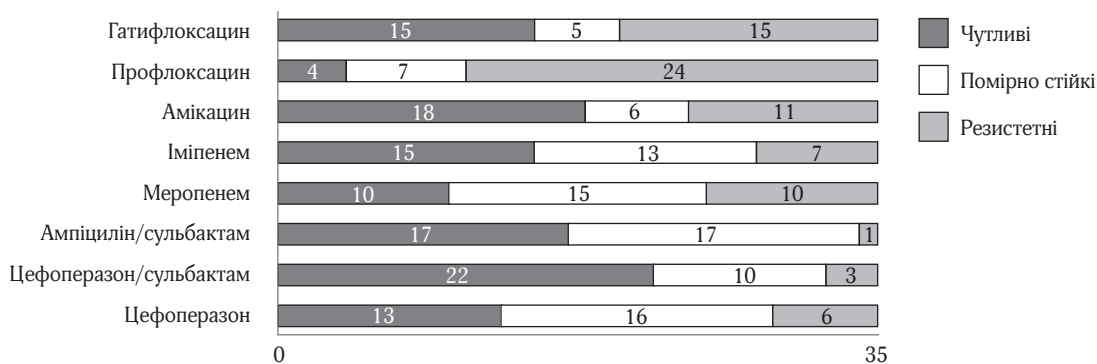
1. В результаті селективного впливу антибіотикотерапії захищеними β-лактамами, карбапенемами, фторхінолонами, аміноглікозидами відзначається зростання антибіотикорезистентності *A. baumannii* як збудників інфекційних ускладнень у хворих з опіками.

Таблиця 1. Характеристика протимікробної активності антибіотиків, антисептика ДКМ® щодо *A. baumannii* (n = 35)

Антибіотик	Чутливі		Помірно стійкі		Резистентні	
	К-сть штамів (n)	МІК (M ± m, мкг/мл)	К-сть штамів (n)	МІК (M ± m, мкг/мл)	К-сть штамів (n)	МІК (M ± m, мкг/мл)
Цефоперазон	2	7,8 ± 0	13	22,8 ± 2,25	20	322,4 ± 76,9
Цефоперазон-сульбактам	9	7,8 ± 0	15	26,03 ± 1,97	11	287,5 ± 61,23
Ампіцилін-сульбактам	5	6,03 ± 0,61	18	25,2 ± 1,85	12	90,9 ± 9,84
Меропенем	9	1,85 ± 0,41	2	15,6 ± 0	24	107,3 ± 22,21
Іміпенем	14	2,18 ± 0,4	2	15,6 ± 0	19	123,3 ± 33,3
Амікацин	6	12,48 ± 1,91	9	31,25 ± 0	20	227,0 ± 27,9
Ципрофлоксацин	2	0,98 ± 0	2	3,9 ± 0	31	127,3 ± 21,68
Гатифлоксацин	4	1,22 ± 0,24	8	4,39 ± 0,49	23	125,0 ± 27,28
Декаметоксин	15	6,07 ± 0,47	15	18,7 ± 1,67	5	200 ± 82,4

Таблиця 2. Характеристика протимікробної активності антибіотиків щодо ізолятів *A. baumannii* (n = 35) під впливом суббактеріостатичних концентрацій ДКМ

Антибіотик	Чутливі		Помірно стійкі		Резистентні	
	К-сть штамів (n)	МІК ^{ДКМ} (M ± m, мкг/мл)	К-сть штамів (n)	МІК ^{ДКМ} (M ± m, мкг/мл)	К-сть штамів (n)	МІК ^{ДКМ} (M ± m, мкг/мл)
Цефоперазон	13	6,18 ± 0,58	16	26,03 ± 1,97	6	72,9 ± 10,4
Цефоперазон-сульбактам	22	4,92 ± 0,59	10	26,03 ± 2,6	3	62,5 ± 0
Ампіцилін-сульбактам	17	5,85 ± 1,13	17	19,5 ± 1,75	1	62,5 ± 0
Меропенем	11	0,73 ± 0,17	14	11,4 ± 1,12	10	59,4 ± 11,8
Іміпенем	15	1,09 ± 0,28	13	12,35 ± 1,16	7	89,3 ± 29,3
Амікацин	18	9,41 ± 1,06	6	31,25 ± 0	11	79,5 ± 8,8
Ципрофлоксацин	4	0,4 ± 0,08	7	3,25 ± 0,4	24	32,5 ± 5,73
Гатифлоксацин	15	0,9 ± 0,19	5	4,88 ± 0,98	15	31,24 ± 4,58

**Рис. 2.** Чутливість ізолятів *A. baumannii* до антибіотиків (n = 35, абсолютні числа)**Рис. 3.** Чутливість до антибіотиків ізолятів *A. baumannii* в присутності декаметоксину® (n = 35, абсолютні числа)

2. Застосування лікарського антисептичного препарату декаметоксину сприяє підвищенню антибіотико-чутливості ізолятів *A. baumannii*, наділених високою природною резистентністю та здатністю швидко її формувати в умовах стаціонару. Такі властивості декаметоксину при його застосуванні в комплексному лікуванні хворих відкривають нові перспективи підвищення ефективності боротьби з ускладненням опікової хвороби, викликаних неферментуючими грамнегативними бактеріями *A. baumannii*.

Література

- Howard A, O'Donoghue M, Feeney A, Sleator RD. *Acinetobacter baumannii*. Virulence [Internet]. Informa UK Limited; 2012 May;3(3):243–50. Available from: <https://doi.org/10.4161/viru.19700>
- Nagajchuk VI, Nazarchuk OA, Paliy VG et al. The study of qualities of microflora from burn surfaces in patients with burns // Biomedical and Biosocial Anthropology. 2014(1): 194–9.
- Owlia P, Azimi L, Gholami A, Asghari B, Lari AR. ESBL- and MBL-mediated resistance in *Acinetobacter baumannii*: a global threat to burn patients. *Infez Med*. 2012 Sep;20(3):182-7.

4. Bondar MV, Pylypenko MM, Kharchenko LA, Ovsienko TV, Domoratskiy OE, Svintukovskyy MY, et al. Evolution of the microbial landscape and current trends of antibiotic resistance formation in pathogenic microorganisms in general intensive care units. EMERGENCY MEDICINE [Internet]. Publishing House Zaslavsky; 2017 Mar 20;0(1.80):102–5. Available from: <https://doi.org/10.22141/2224-0586.1.80.2017.94460>
5. Decamethoxinum®. State register of medicines Ministry of Health of Ukraine. Registration certificate No UA/14444/01/01 since 24.06.2015. Order No 373.
6. Necrasova LS, Svita VM, Glushkevich TG et al. The study of sensitivity of microorganisms to antibiotics: methodical recommendations MB 9.9.5–143. K, 2007.
7. Leclercq R, Cant n R, Brown DFJ, Giske CG, Heisig P, MacGowan AP, et al. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing. Clinical Microbiology and Infection [Internet]. Elsevier BV; 2013 Feb;19(2):141–60. Available from: <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03703>.

Antibiotic resistance in *Acinetobacter baumannii* as agent of surgery infection and approaches to its overcoming by means of decamethoxinum antiseptic

Nazarchuk O. A., Nahaichuk V. I.

National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsia

Introduction. Non-fermenting Gram-negative bacilli are known as one of the most frequent causative agents of hospital-acquired infections. *Acinetobacter baumannii*, as causative agent of infection complications of different localization, has obtained recently high resistance to antibiotics and has belonged to ESKAPE group of pathogens. Antimicrobials, recommended for the prophylaxis and therapy of hospital-acquired infections, have been failing in their effectiveness and lead to selection of antibiotic resistant strains of *A. baumannii*.

The aim of this research was to substantiate the way of overcoming of resistance in clinical strains of *A. baumannii*, by means of synergic antimicrobial activity of antibiotics and antiseptic decamethoxinum®.

Material and methods. The research was carried out on 190 clinical strains of *A. baumannii*, isolated from patients with burn disease during the period 2011–2015. The sensitivity of clinical strains of *A. baumannii* was determined to such antibiotics as ampicillin/sulbactam, cefoperazone, cefoperazone/sulbactam, meropenem, imipenem, amikacin, ciprofloxacin, gatifloxacin and antiseptic decamethoxinum® (DCM; Registration certificate № UA/14444/01/01 since 24.06.2015. Order of the Ministry of Health of Ukraine № 373). The sensitivity of *A. baumannii* to antibiotics and DCM was determined by means of disk diffusion test and serial dilution (Order of the Ministry of Health of Ukraine №167 since 05.04.2007; EUCAST expert rules).

The study of the influence of antiseptic DCM on the sensitivity of acinetobacteria to antibiotics was studied on 35 clinical strains of *A. baumannii*, drafted from the general number of isolates enrolled in the research. For this, the sensitivity of *A. baumannii* to antibiotics in the presence of subminimal inhibitory concentrations (subMIC) of DCM was identified. The received experimental data were analyzed by “Statistica 6.0”.

Results and discussion. The changes of antibiotic sensitivity profile of *A. baumannii* during five years were shown. It was found that the sensitivity of *A. baumannii* to majority of antibiotics, selected for study, decreased significantly. But the only ampicillin/sulbactam was found to have vice versa tendency. We found the rising quantity of antibiotic resistant strains of *A. baumannii*. At the same time, high resistance of acinetobacteria to fluoroquinolones (ciprofloxacin – 96,1%; gatifloxacin – 95,8%) was found in 2015.

The in vitro research of combined activity of DCM antiseptic remedy and early mentioned antibiotics against clinical strains of *A. baumannii* demonstrated the reveal antibiotic effectiveness. As follows, minimal inhibitory concentrations of antibiotics decreased in 1.5–4 times in the mediums which contained subMIC of DCM. Especially this tendency was found in resistant clinical strains.

Conclusion. Under selective influence of antibiotics protected by β -lactamase inhibitors, carbapenems, fluoroquinolones aminoglycosides increases the antibiotic resistance in *A. baumannii*, causative agents of infectious complications in patients with burn disease. The antiseptic remedy decamethoxinum® helps to improve antibiotic sensitivity in resistant *A. baumannii*.

Key words: antibiotics, acinetobacteria, decamethoxinum, resistance

Антибиотикорезистентность *Acinetobacter baumannii* как возбудителя хирургической инфекции и подходы к ее преодолению с использованием антисептика декаметоксина

Назарчук О. А., Нагайчук В. И.

Винницкий национальный медицинский университет им. Н. И. Пирогова

Вступление. Неферментирующие грамотрицательные бактерии известны как один из наиболее частых возбудителей внутрибольничных инфекций. *Acinetobacter baumannii*, как возбудитель инфекционных осложнений различной локализации, недавно приобрел высокую устойчивость к антибиотикам и относится к группе патогенов ESKAPE. Противомикробные препараты, рекомендованные для профилактики и лечения внутрибольничных инфекций, неэффективны и приводят к отбору устойчивых к антибиотикам штаммов *A. baumannii*.

Целью данного исследования было обоснование пути преодоления резистентности у клинических штаммов *A. baumannii* с помощью синергической антимикробной активности антибиотиков и антисептика декаметоксина®.

Материал и методы. Исследование проведено на 190 клинических штаммах *A. baumannii*, выделенных от пациентов с ожоговой болезнью в 2011–2015 гг. Чувствительность клинических штаммов *A. baumannii* определялась к таким антибиотикам, как ампициллин/сульбактам, цефоперазон, цефоперазон/сульбактам, меропенем, имипенем, амикацин, цiproфлоксацин, гатифлоксацин и антисептик декаметоксин® (DCM; сертификат регистрации № UA/14444/01/01 с 24.06.2015. Приказ Министерства здравоохранения Украины № 373). Чувствительность *A. baumannii* к антибиотикам и DCM определялась диско-диффузионным методом и серийным разведением (Приказ Министерства здравоохранения Украины №167 от 05.04.2007 года; правила EUCAST Expert).

Исследование влияния антисептического DCM на чувствительность ацинетобактерий к антибиотикам было изучено на 35 клинических штаммах *A. baumannii*, составленных из общего числа изолятов, включенных в исследование. Для этого была выявлена чувствительность *A. baumannii* к антибиотикам в присутствии субминимальных ингибирующих концентраций (subMIC) DCM. Полученные экспериментальные данные были проанализированы “Statistica 6.0”.

Результаты и обсуждение. Показано изменение профиля чувствительности к антибиотикам *A. baumannii* в течение пяти лет. Было обнаружено, что чувствительность *A. baumannii* к большинству антибиотиков, отобранных для исследования, значительно снижается. Но единственный ампициллин/сульбактам, как было обнаружено, имеет тенденцию к обратному. Мы обнаружили растущее количество устойчивых к антибиотикам штаммов *A. baumannii*. В то же время в 2015 году была обнаружена высокая резистентность ацинетобактерий к фторхинолонам (ципрофлоксацин – 96,1%; гатифлоксацин – 95,8%).

Исследование in vitro комбинированной активности антисептического препарата DCM и ранее упоминавшихся антибиотиков против клинических штаммов *A. baumannii* продемонстрировало эффективность антибиотиков. Как следует ниже, минимальные ингибирующие концентрации антибиотиков снижались в 1,5–4 раза в средах, содержащих Суб-ДМК. Особенно ярко эта тенденция была обнаружена у устойчивых клинических штаммов.

Заключение. Под избирательным влиянием применения антибиотиков, защищенных ингибиторами β -лактамов, карбапенемов, фторхинолонов, аминогликозидов, повышается антибиотикорезистентность *A. baumannii*, возбудителей инфекционных осложнений у пациентов с ожоговой болезнью. Антисептическое средство декаметоксин® помогает улучшить чувствительность к антибиотикам у резистентных *A. baumannii*.

Ключевые слова: антибиотики, ацинетобактерии, декаметоксин, резистентность