

## ОБГРУНТУВАННЯ ДОЦІЛЬНОСТІ ЗАСТОСУВАННЯ ДЕКАМЕТОКСИНУ ПРИ АНТИБІОТИКО– ТА ФАГОРЕЗИСТЕНТНОСТІ ПСЕВДОМОНАДНОЇ ХІРУРГІЧНОЇ ІНФЕКЦІЇ

Г. К. Палій, О. А. Назарчук, В. І. Нагайчук, І. М. Вовк, Г. Г. Назарчук

Вінницький національний медичний університет імені М. І. Пирогова

## SUBSTANTIATION OF EXPEDIENCY TO APPLY DECAMETOXINUM IN ANTIBIOTICO– AND PHAGORESISTENCE OF PSEUDOMONADE SURGICAL INFECTION

G. K. Paliy, O. A. Nazarchuk, V. I. Nagaychuk, I. M. Vovk, G. G. Nazarchuk

Vinnitsya National Medical University named after M. I. Pyrogov

### Реферат

**Мета.** Обгрунтувати доцільність використання декаметоксину (ДМ) при резистентності *P. aeruginosa* до цефалоспоринів.

**Матеріали і методи.** Вивчено ефективність використання ДМ в подоланні резистентності *P. aeruginosa* до цефалоспоринів, псевдомонадного бактеріофагу на 50 клінічних штамів, виділених у постраждалих з опіками.

**Результати.** Встановлено, що штами *P. aeruginosa*, що спричиняли інфекційні ускладнення у постраждалих з опіками, мали виражену резистентність до цефтазидиму (у 80% спостережень), цефепіму (у 80%), цефоперазону/сульбактаму (у 68%). Визначено ефективну бактерицидну дію ДМ на 66% штамів *P. aeruginosa*, мінімальна бактерицидна концентрація (МБЦК) становила у середньому (106,1 ± 5,6) мкг/мл.

**Обговорення.** Чутливість *P. aeruginosa* до бактеріофагу та цефалоспоринів підвищувалася в присутності ДМ у суббактеріостатичній концентрації (СК).

**Висновки.** Резистентні до цефалоспоринів штами *P. aeruginosa* не мали перехресної стійкості до ДМ, бактеріофагу. Застосування антисептика ДМ у СК підвищувало чутливість *P. aeruginosa* до цефалоспоринів в 7 – 8,5 рази; покращувало чутливість помірно стійких фаголізабельних культур *P. aeruginosa* до бактеріофагу.

**Ключові слова:** опіки; антибіотики; антисептики; бактеріофаг; декаметоксин; *Pseudomonas aeruginosa*.

### Abstract

**Objective.** To substantiate expediency of decamethoxinum application in *P. aeruginosa* resistance towards cephalosporines.

**Materials and methods.** Efficacy of decamethoxinum application in overcoming of *P. aeruginosa* resistance towards cephalosporines, pseudomonadal bacteriophage on 50 clinical strains, taken in the injured persons, suffering burns, was studied.

**Results.** There was established, that *P. aeruginosa* strains, which caused infection complications in injured persons with burns, have had pronounced resistance towards ceftazidim (in 80% of observations), cefepim (in 80%), cefoperazon/sulbactam (in 68%). Effective bactericidal action of decamethoxinum towards 66% strains of *P. aeruginosa* was studied, minimal bactericidal concentration had constituted (106.1 ± 5.6) mcg/ml at average.

**Discussion.** Sensitivity of *P. aeruginosa* towards bacteriophage and cephalosporines has been enhanced in presence of decamethoxinum in subbacteriostatic concentration.

**Conclusion.** Resistance towards cephalosporins strains of *P. aeruginosa* did not have cross sustainability towards decamethoxine, bacteriophage. Application of antiseptic decamethoxinum in subbacteriostatic concentration have raised sensitivity of *P. aeruginosa* towards cephalosporines in 7 – 8.5 times; improved sensitivity of moderately stable phageleasable cultures of *P. aeruginosa* towards bacteriophage.

**Keywords:** burns; antibiotics; antiseptics; bacteriophage; decamethoxinum; *Pseudomonas aeruginosa*.

Інфекційні ускладнення, пов'язані з наданням медичної допомоги, набувають надзвичайно важливого значення в умовах сучасної медицини, оскільки суттєво погіршують результати лікування, підвищують летальність. Як правило, такі ускладнення виникають у тяжко хворих, що тривало перебувають в умовах лікувального закладу. Пацієнти з опіковою хворобою належать до групи підвищеного ризику виникнення інфекційних ускладнень. *P. aeruginosa* посідає провідне місце серед збудників інфекційних ускладнень у постраждалих з опіками [1]. Проблема профілактики, лікування інфекцій-

них ускладнень, спричинених *P. aeruginosa*, ускладнюється високими адаптаційними властивостями збудника, що проявляються швидким формуванням антибіотикорезистентності. Поряд з природною стійкістю до протимікробних засобів внаслідок їх широкого застосування, клінічні штами *P. aeruginosa* набули резистентності до бета-лактамних антибіотиків. Так, встановлене зниження чутливості псевдомонад до таких антибіотиків широкого спектру дії, як цефалоспоринони [2, 3]. В наш час активно ведеться пошук можливих шляхів подолання резистентності *P. aeruginosa* до антибіоти-

ків з використанням різних підходів. На шляху подолання стійкості мікроорганізмів до антибіотиків перспективним вважають застосування антисептичних засобів. Водночас, за комбінованого застосування антибіотиків та бактеріофагів відзначені обнадійливі результати у боротьбі з бактеріальними інфекціями. Застосування комбінованого впливу антимікробних препаратів з різними механізмами дії створює перспективу ефективного подолання резистентних до терапії псевдомонадних інфекцій [4].

Мета дослідження: обгрунтувати доцільність використання ДМ

для подолання резистентності *P. aeruginosa* до цефалоспоринів, довести ефективність комбінованої антипсевдомонадної дії антисептика, антибіотиків та препаратів псевдомонадного бактеріофагу *in vitro*.

**МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ**

В бактеріологічній лабораторії кафедри мікробіології досліджені 50 клінічних штамів *P. aeruginosa*, виділених від пацієнтів, яких лікували в опіковому відділенні Вінницької обласної клінічної лікарні ім. М. І. Пирогова. В дослідження включені постраждали з глибокими опіками III ступеня (10 – 80% поверхні тіла). Матеріал для мікробіологічного дослідження забирали з ранової поверхні. Первинно виділені клінічні штами *P. aeruginosa* ідентифікували за морфологічними, тинкторіальними, культуральними властивостями за стандартними методиками.

Як референс-штам використаний *P. aeruginosa* ATCC 27853. В ізольованих, ідентифікованих як *P. aeruginosa* клінічних штамів визначали чутливість до цефтазидиму (ЦТ), цефоперазону/сульбактаму (ЦПС), цефепіму (ЦП) стандартним методом дворазових серійних розведень відповідно до методичних рекомендацій (Наказ МОЗ України №167 від 05.04.2007) [5, 6]. Вивчали чутливість *P. aeruginosa* до цефалоспоринів в присутності антисептика ДМ в СК [7]. Вплив ДМ на чутливість клінічних штамів до антибіотиків досліджували шляхом порівняння мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) антибіотика, визначеної методом серійних розведень в поживному бульйоні, та МІК антибіотика в поживних середовищах, що містили ДМ у СК, в кожного штаму (МІК<sub>ДМ</sub>).

Чутливість клінічних штамів *P. aeruginosa* і референс-штаму *P. aeruginosa* ATCC 27853 до препарату «Бактеріофаг псевдомонас аеруриноза» визначали шляхом додавання фагу в об'ємі, необхідному для остаточного титру 1:10, в м'ясо-пептонний бульйон (МПБ), засіяний добовою культурою *P. aeruginosa* (0,2 мл інокуляту в концентрації 10<sup>7</sup> – 10<sup>8</sup> КУО/мл в 2 мл МПБ). Чутливість культури до бактеріофагу визначали через 18 – 20 год інкубації в термостаті при температурі 35° С по ві-

**Характеристика чутливості штамів *P. aeruginosa* до цефалоспоринів, ДМ**

Препарат	Клінічні штами <i>P. aeruginosa</i> ( $\bar{x} \pm m$ )			
	чутливі		резистентні	
	МІК	МБцК	МІК	МБцК
ЦТ	7,8 ± 1,42	20,3 ± 5,11	153,13 ± 16,74	374,22 ± 48,5
ЦПС	9,75 ± 1,38	100,58 ± 32,58	149,89 ± 18,55	345,59 ± 41,74
ЦП	7,22 ± 1,16	44,13 ± 23,07	173,44 ± 26,17	413,28 ± 68,85
ДМ	52,08 ± 2,86	106,1 ± 5,6	164,06 ± 24,8	289,1 ± 27,3

зуальних ознаках росту культури в порівнянні з контролем культури. За відсутності видимих ознак росту в поживному середовищі з бактеріофагом штаму визначали як фаголізабельний (чутливий до бактеріофагу). Помірно чутливими штамми вважали такі, що проявляли ознаки росту, проте, меншою мірою, ніж в контролі. Культури, в яких після контакту з фагом виявляли тотожні з контролем ознаки росту (помутніння, плівка), вважали фагорезистентними.

Для визначення ефективності фаголізу фаголізат бульйонних культур висівали на м'ясо-пептонний агар. Фагорезистентну субпопуляцію штамів досліджували в подальшому при вивченні комбінованої дії антисептика ДМ, бактеріофагу та цефалоспоринів.

Для вивчення комбінованої дії ДК, цефалоспоринів та фагу на клінічні штами псевдомонад їх вносили у поживні середовища, що містили ДМ у СК і/або антибіотик, псевдомонадний бактеріофаг у титрі 1:10.

Статистична обробка даних проведена з використанням комп'ютерної програми Statistica 7 за стандартною методикою [8].

Дослідження проведені за поінформованої згоди пацієнтів на участь у дослідженні, з дотриманням правил їх безпеки, збереження прав та принципів людської гідності, морально-етичних норм, відповідно до основних положень GSP (1996), Конвенції Ради Європи про права людини та біомедицину (1997), Гельсінської декларації Всесвітньої медичної асоціації про етичні принципи проведення наукових медичних досліджень за участю людини (1964 – 2000), нормативних документів України. Протокол дослідження схвалений комітетом з біоетики Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України.

**РЕЗУЛЬТАТИ**

За даними дослідження встановлено МІК цефалоспоринових антибіотиків. Так, ЦТ, ЦПС діяли на музейний штам *P. aeruginosa* ATCC 27853 в МІК 3,9 мкг/мл, ЦП – 1,95 мкг/мл. Бактеріостатичний вплив ДМ на *P. aeruginosa* ATCC 27853 визначали в концентрації 62,5 мкг/мл, бактерицидний – 125 мкг/мл. Клінічні штами *P. aeruginosa* проявляли різну чутливість до ДМ. Так, 66% штамів *P. aeruginosa* були чутливі до ДМ в МІК (52,08 ± 2,86) мкг/мл. Бактерицидна дія ДМ на ізоляти *P. aeruginosa* встановлена в МБцК (106,1 ± 5,6) мкг/мл. З ізольованих у постраждалих з опіками штамів *P. aeruginosa* 34% – проявляли більшу стійкість до ДМ, МБцК становила (289,1 ± 27,3) мкг/мл.

Для об'єктивного аналізу чутливості *P. aeruginosa* до цефалоспоринів клінічні ізоляти розподілені залежно від МІК антибіотика на чутливі, помірно стійкі, резистентні. Штами, чутливі до МІК, що не перевищувала 7,8 мкг/мл, відносили до чутливих, до 15,6 мкг/мл – помірно стійких понад 31,25 мкг/мл – резистентних (див. таблицю).

З клінічних штамів *P. aeruginosa* більшість проявляли низьку чутливість до цефалоспоринів (рис. 1).

Високу резистентність *P. aeruginosa* проявляла до ЦТ (80%), ЦП (80%), ЦПС (68%). Встановлено, що ЦТ проявляв протимікробну ефек-

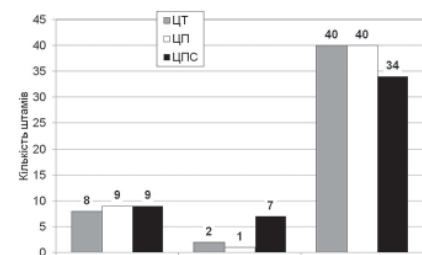


Рис. 1. Розподіл клінічних штамів *P. aeruginosa* за чутливістю до цефалоспоринів (абсолютні значення).

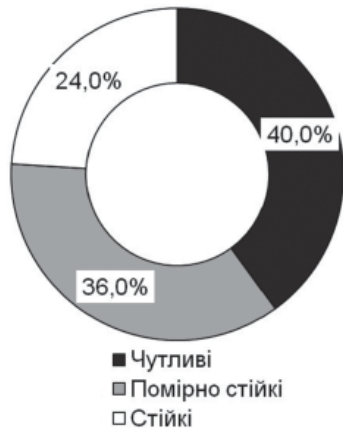


Рис. 2.  
Характеристика чутливості клінічних штамів *P. aeruginosa* до бактеріофагу.

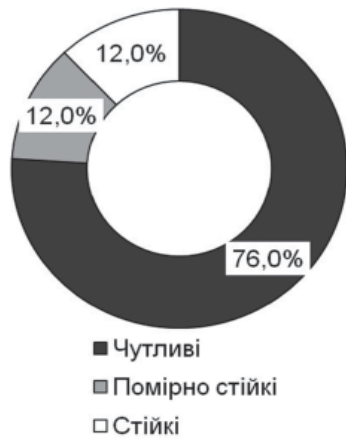


Рис. 3.  
Характеристика чутливості клінічних штамів *P. aeruginosa* до дії бактеріофагу в присутності ДМ.

тивність лише до 8 (16%) клінічних штамів *P. aeruginosa*. Виявлено високу МІК ЦТ щодо клінічних ізолятів *P. aeruginosa*. Так, МІК цього антибіотика до 40 (80%) штамів псевдомонад становила ( $153,13 \pm 16,73$ ) мкг/мл. Протимікробну ефективність ЦПС щодо *P. aeruginosa* встановлено лише в 9 (18%) спостереженнях. Більшість – 34 (68%) клінічних штамів *P. aeruginosa* були резистентні до ЦПС, про що свідчила висока МІК – ( $149,82 \pm 18,55$ ) мкг/мл.

Протимікробні властивості ЦП щодо *P. aeruginosa* суттєво не різнилися від активності інших цефалоспоринів. Так, чутливими були тільки 9 (18%) клінічних штамів. Бактеріостатичну дію ЦП на резистентні штамів *P. aeruginosa* відзначали в МІК ( $173,44 \pm 26,17$ ) мкг/мл.

Всі виділені штамів *P. aeruginosa* протестовані для визначення чутли-

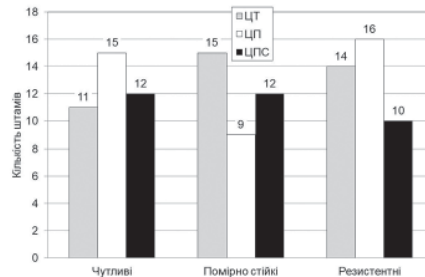


Рис. 4.  
Характеристика чутливості резистентних до цефалоспоринів штамів *P. aeruginosa* в присутності ДМ в СК.

вості до псевдомонадного бактеріофагу. Фаголізабельними виявились 40% штамів, помірно чутливими та стійкими до дії фагу – відповідно 36 і 24% (рис. 2).

Чутливість до бактеріофагу в присутності антисептика ДМ у СК зберігалась у фаголізабельних культур, а також підвищувалась у помірно стійких штамів, що переходили в категорію фаголізабельних. У 45% фагорезистентних штамів чутливість до дії фагу в присутності антисептика підвищилась (рис. 3).

У клінічних штамів *P. aeruginosa*, резистентних до ЦТ (n = 40), ЦП (n = 40), ЦПС (n=34), досліджено ефективність комбінованої дії цих антибіотиків та антисептичного препарату ДМ. При комбінованому застосуванні антибіотиків та ДМ у СК встановлено їх синергічну дію на *P. aeruginosa*. В присутності ДМ в СК відзначали відновлення чутливості до цефалоспоринів резистентних штамів *P. aeruginosa*, що спричинили інфекційні ускладнення (рис. 4).

Встановлено, що деякі резистентні до цефалоспоринів штамів *P. aeruginosa* повністю відновили чутливість до антибіотиків в присутності ДМ в СК. Так, чутливість до ЦТ відновлена у 27,5% резистентних штамів, до ЦПС – у 37,3%, до ЦП – у 37,5%. У клінічних штамів *P. aeruginosa*, помірно резистентних до антибіотиків, спостерігали зменшення МІК антибіотиків після застосування ДМ в СК, зокрема, до ЦТ – у ( $7,3 \pm 0,78$ ) разу, ЦПС – у ( $8,5 \pm 1,05$ ) разу, ЦП – у ( $8,3 \pm 1,1$ ) разу, що свідчило про підвищення чутливості збудників до антимікробних препаратів.

При визначенні синергічного антимікробного впливу антибіотиків, антисептиків та бактеріофагу встановлено, що в присутності цефа-

лоспоринів і/або ДМ в СК підвищується фаголізабельність дослідних культур. Разом з тим, подібний ефект відзначали щодо помірно стійких клінічних штамів, які не проявляли абсолютну резистентність до бактеріофагу.

## ОБГОВОРЕННЯ

Клініцисти все частіше спостерігають антибіотикорезистентність мікроорганізмів. Від інфекційних захворювань, спричинених полірезистентними мікроорганізмами, в країнах Європейського Союзу щороку вмирають 25 тис хворих. Детального моніторингу потребує поширення мікроорганізмів ESKAPE групи, що мають природну стійкість до антибіотиків або швидко її набувають. Серед них важливе місце посідає *P. aeruginosa* [9].

В Україні майже 45,5% рефрактерних до терапії інфекційних процесів зумовлені *P. aeruginosa*, і майже 50% її нозокоміальних ізолятів в хірургічних стаціонарах резистентні до цефалоспоринів III – IV покоління [10]. Існують різні підходи до подолання антибіотикорезистентності *P. aeruginosa*: синтез нових ефективних антибіотиків, застосування комбінованої антибактеріальної терапії, місцеве призначення антисептиків, використання бактеріофагів [1, 11].

*P. aeruginosa*, що спричиняє інфекційні ускладнення у пацієнтів при опіковій хворобі, проявляє виражену резистентність до цефалоспоринів III – IV покоління, в тому числі захищених сульбактамом (у 68 – 80% спостережень). Проте, резистентні до цефалоспоринів останніх поколінь штамів зберігають чутливість до антисептика ДМ і специфічного бактеріофагу [11]. Доведене відновлення чутливості до цефалоспоринів та покращення фаголізабельності *P. aeruginosa* в присутності ДМ в СК. Отже, антисептик ДМ, крім власне протимікробних властивостей, сприяє відновленню чутливості збудників до цефалоспоринів.

## ВИСНОВКИ

1. *P. aeruginosa*, що спричиняє інфекційні ускладнення у пацієнтів при опіковій хворобі, проявляє виражену резистентність до ЦТ (у 80% спостережень), ЦП (у 80%), ЦПС (у 68%).

2. Резистентні до цефалоспори- нів штами *P. aeruginosa* не мають пер- рехресної стійкості до ДМ і бактери- офагу, їх фаголізабельність підвищу- ється в присутності ДМ.

3. Комбіноване застосування ДМ у СК та цефалоспоринів забезпечує

відновлення втраченої чутливості або підвищує у 7 – 8,5 разу чутливість резистентних ізолятів *P. aeruginosa* до ЦТ, ЦПС, ЦП, а також полівалент- ного псевдомонадного бактериофа- гу, це відкриває перспективи вико- ристання ДМ, має багатовекторні

властивості в подоланні антибіоти- корезистентності *P. aeruginosa* в хі- рургії.

#### ЛІТЕРАТУРА/REFERENCES

1. Nahaychuk VI, Nazarchuk OA, Paliy IH, Burkot VM, Honchar OO. Do kharakterystyky suchasnykh infektsiynykh uskladnen' u khvoyrykh z opikamy. *Ukrayinsky medychnyy chasopys*. 2014 Ver–Zhov; 5(103):123–6. [In Ukrainian].
2. Nahaychuk VI, Nazarchuk OA, Paliy VH, Makats YeF, Burkot VM. Vyvchennya vlastyvostry mikroflory opikovoyi poverkhni u pat- siyentiv z opikamy. *Biomedical and Biosocial Anthropology*. [In- ternet]. 2014;22:194–9. Available from: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/bba\\_2014\\_22\\_54](http://nbuv.gov.ua/UJRN/bba_2014_22_54). [In Ukrainian].
3. Akhabue E, Synnestvedt M, Weiner MG, Bilker WB, Lautenbach E. Cefepime-resistant *Pseudomonas aeruginosa*. *Emerg Infect Dis*. [Internet]. 2011 Jun;17(6):1037–43. Available from: [www.cdc.gov/eid](http://www.cdc.gov/eid).
4. Kotsar OV Zastosuvannya antybiotyko– ta fahoterapiyi zakhvo- ryuvan', zumovlenykh patohennoyu ta umovno–patohennoyu mikrofloroyu. *Bukovyns'kyy medychnyy visnyk*. [Internet]. 2009; 13(3):123–7. Available from: <https://www.bsmu.edu.ua/files/BMV/BMV–2009–13–03/BMV–2009–13–03–123.pdf> [In Ukrainian].
5. Nekrasova LS, Svyta VM, Hlushkevych TH, Tomchuk VV, Zhrebko NM, Yanovska VV. MV 9.9.5–143–2007 Vyznachennya chutlyvosti mikroorganizmiv do antybakterial'nykh preparativ. *Metodychni vka- zivky*. Kyiv; 2007. 74 p. [In Ukrainian].
6. Leclercq R, Cantón R, Brown DF, Giske CG, Heisig P, MacGowan AP, Mouton JW, et al. EUCAST expert rules in antimicrobial sus- ceptibility testing. *Clin Microbiol Infect*. 2013 Feb;19(2):141–60. doi: 10.1111/j.1469–0691.2011.03703.x.
7. Decamethoxinum®. State register of medicines Ministry of Health of Ukraine. Registration certificate № UA/14444/01/01 since 24.06.2015. Order № 373. [In Ukrainian].
8. Statistica: Rukovodstvo polzovatelya. [Internet]. 2001.225 p. Available from: [ftp://ftp.vt.tpu.ru/study/Katsman/public/Statistica/Small%20Book/STATISTICA\\_Version6\\_SmallBook.pdf](ftp://ftp.vt.tpu.ru/study/Katsman/public/Statistica/Small%20Book/STATISTICA_Version6_SmallBook.pdf). [In Russian]
9. Duda OK, Horbal NB, Masalitina OV. Rol beta–laktamaz u formuvan- ni antybiotykozystentnosti. *Liky Ukrayiny*. 2015;191(5):4–8. Avail- able from: [www.health–medix.com/articles/liki\\_ukr/2015–07–25/LECTURES\\_1.pdf](http://www.health–medix.com/articles/liki_ukr/2015–07–25/LECTURES_1.pdf). [In Ukrainian].
10. Lazoryshynets VV, Mariyevskiy VF, Salmanov AT. Antybiotykozys- tentnist nozokomialnykh shtamiv *Pseudomonas aeruginosa* v kh- irurhichnykh statsionarakh Ukrayiny v 2009 rotsi. *Kharkivska khiru- richna shkola*. 2010;44(6):71–5. Available from: [www.zarifacenter.org/articles/article063.pdf](http://www.zarifacenter.org/articles/article063.pdf). [In Ukrainian].
11. Paliy HK, Vovk IM, Kovalenko IM, Nazarchuk OA, Burkot VM. Efektyvnist' antybakterialnoyi diyi antybiotyktiv, antyseptyka deka- metoksynu ta psevdomonadnoho bakteriofahu na klinichni shtamy *Pseudomonas aeruginosa*. *Visnyk Vinnyts'koho natsional'noho me- dychnoho universytetu*. 2016;20(1):16–21. Available from: [http:// nbuv.gov.ua/UJRN/vvnmu\\_2016\\_20\\_1%281%29\\_5](http://nbuv.gov.ua/UJRN/vvnmu_2016_20_1%281%29_5). [In Ukrainian].