

УДК 616.98:578.828.6

ВИВЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ЗБУДНИКІВ БАРТОНЕЛЬОЗУ ДО АНТИБАКТЕРІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ

Бондаренко А.В.

Харківський національний медичний університет
МОЗ України

Вступ

В теперішній час під терміном бартонельоз об'єднують досить велику групу відмінних за клінічним перебігом синдромів, етіологічними агентами яких є бактерії роду *Bartonella*. Якщо при хворобі від котячої подряпини (ХКП) антибактеріальна терапія у більшості випадків не потрібна і захворювання є самоелімінуючим, то при генералізованих формах бартонельозу (бацилярний ангіоматоз, бацилярний пеліоз та ін.), особливо в осіб з імунodefіцитами, захворювання без адекватної етіотропної терапії є фатальним. Однак, в даний час підходи до антибактерійної терапії бартонельозу знаходяться ще на етапі розробки і поки що не отримали спільного визнання. Дані чутливості бартонел до різних груп антимікробних препаратів надзвичайно суперечливі.

Метою цієї роботи було вивчення чутливості регіональних штамів бартонел до антибактерійних препаратів.

Матеріали та методи

Об'єктом дослідження були сім штамів бактерій роду *Bartonella*. В якості типового використовували штам *Bartonella henselae* CCUG 30454 BT (отриманий із Culture Collection, University of Göteborg, Department of Clinical Bacteriology), який був виділений науковцями США у 1992 року [1]. Шість інших референтних штамів *Bartonella* spp. були виділені у 2005-2006 рр. в лабораторії нових та маловивчених інфекційних захворювань Інституту мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України від хворих на бартонельоз, які перебували на лікуванні у Обласній клінічній інфекційній лікарні, м. Харків.

Як поживне середовище для вирощування бартонел використовували оптимізований шоколадний агар (ОША) [2]. Для ОША поживною основою був 2%-ий агар із мозково-серцевим екстрактом (ВНІА – Brain Heart Infusion Agar фірми “Fluka BioChemica”, Switzerland, Lot and Filling codei 425065/1, 40203177). Середовище ОША містить: в 1 літрі: D-глюкозу (5,0 г); дефібриновану кров (80,0 мл); поживну агаризовану основу (915,0 мл). Поживну агаризовану основу (2%-ий м'ясо-пептонний агар, 2%-ий ВНІА) готували у відповідності із настановами підприємств-виробників. До розплавленої і охолодженої до $t^{\circ}=(50-55)^{\circ}\text{C}$ агаризованої основи (з $\text{pH}=7,4$) із дотриманням правил асептики додавали: стерильний 40%-ий розчин глюкози до її кінцевої концентрації 0,5% (об'єм/об'єм) та дефібриновану кров кролика або барана (невеликими порціями при постійному струшу-

ванні ємкості із середовищем) до кінцевої концентрації 8,0% (об'єм/об'єм). Середовище прогрівали на водяній бані повільно підвищуючи температуру до 90°C . Оптимально прогріте середовище набуває червоно-коричневого кольору (недостатньо прогріте має світло-коричневий колір, надмірно прогріте – темно-коричневий). Розливали середовище ОША по 12-15 мл в стандартні стерильні чашки Петрі або готували скошений агар (по 4-6 мл середовища) в стерильних бактеріологічних пробірках.

Стандартизовані у стерильному 0,15 М фосфатно-сольовому буфері ($\text{pH}=7,0$) до 0,023 за показником одиниць оптичної щільності (вимірювання проводили на колориметрі фотоелектричному концентраційному КФК-2МП-УХЛЧ при $\lambda=590$ нм) суспензії штамів бартонел дозовано (по $10^{-1}-10^{-4}$ мл) висівали на поверхню поживних середовищ. Культивування посівів здійснювали при $t^{\circ}=(35\pm 0,5)^{\circ}\text{C}$ в атмосфері з 5% CO_2 впродовж від десяти до сорока діб (для створення необхідних умов використовували ексікатор) [3].

Для виготовлення поживних середовищ і вирощування *Bartonella* spp. використовувалось типове для бактеріологічних лабораторій обладнання, прилади і лабораторний посуд: стерилізатор ВК-75, сушильно-стерилізаційна шафа ШСС-80П, центрифуга ОПН-ЗУХЛ42, прилад для рахування колоній бактерій ПСБ, мікроскоп С-11 серії “Біолам”, рН-метр-мілівольтметр рН-410, колориметр фотоелектричний концентраційний КФК-2МП-УХЛ, аквадистилятор ДЕ-42 модель 818, ваги технічні ВЛТ-1000, термостат електричний сухоповітряний ТС-80М-2, холодильник побутовий “Снайге”, прилад для спостереження методом фазових контрастів КФ1 та інше.

Чутливість досліджуваних *Bartonella*-like штамів до антибактерійних препаратів визначали методом дифузії в агар, застосовуючи стандартні диски [4]. В дослідженнях було використано тридцять антибіотиків, які представляли різні хімічні групи: β -лактамі антибіотики груп пеніцилінів (бензилпеніцилін, оксацилін, метицилін), амінопеніцилінів (ампіцилін, амоксицилін), карбоксипеніцилінів (карбеніцилін); цефалоспориної (цефалексин, цефазолін, цефаклор, цефотаксим, цефтриаксон); карбопенемі (іміпенем); аміноглікозиди (амікацин, стрептоміцин, тобраміцин, канаміцин); макроліди (еритроміцин, кларитроміцин, азитроміцин); тетрацикліни (тетрациклін, доксициклін); фторхінолони (офлоксацин, гатифлоксацин, ципрофлоксацин, норфлоксацин); глікопептиди (ванкоміцин); похідні рифампіцину (рифампіцин); стероїди (фузидин); поліпептиди (поліміксин В); нітробензоли (хлорамфенікол).

Результати та обговорення

Досліджена чутливість до антибактерійних препаратів типового штамів *B.henselae* CCUG 30454 BT і шести регіональних штамів *Bartonella* spp., виділених із клінічного матеріалу від хворих на бартонельоз. Результати визначення чутливості штамів бартонел до протимікробних препаратів представлено в

таблиці.

Досліджені штами бартонел в цілому характеризувались високою чутливістю до дії антибактерійних препаратів, що належали до різних хімічних груп. Всі сім взятих в експеримент штамів *Bartonella* spp. виявились чутливими до 80% протестованих антибіотиків (амікацину, амоксициліну, ампіциліну, бензилпеніциліну, ванкоміцину, доксицикліну, імipенему, канаміцину, карбеніциліну, норфлуксацину, оксациліну, офлуксацину, рифампіцину, стрептоміцину, тобраміцину, хлорамфеніколу, цефазоліну, цефаклору, цефтриаксону, ципрофлуксацину, цефалексину, неоміцину, фузидину, гатифлуксацину). Найчастіше ($p < 0,05$) резистентність *Bartonella* spp. виявлялась до цефотаксиму і еритроміцину (відповідно, у 71% і 57% штамів). Від 14% до 43% досліджених культур *Bartonella* spp. характеризувались резистентністю до тетрацикліну, кларитроміцину, азитроміцину. Вперше досліджена чутливість бартонел до поліміксину В і виявлено, що 50% клінічних ізолятів були резистентними до нього.

Результати визначення чутливості штамів бартонел до антимікробних препаратів співпадають із загальноновизнаним положенням в тім, що ця група бактерій в цілому *in vitro* характеризується досить високою чутливістю до більшості широко вживаних в медичній практиці антибіотиків. Проте, дані щодо чутливості бартонел до антимікробних препаратів різних хімічних груп надзвичайно суперечні [5-9]. Найчастіше розбіжності стосуються питання чутливості бартонел до дії антибіотиків груп макролідів (еритроміцину, кларитроміцину, азитроміцину) і тетрациклінів (тетрацикліну), тобто саме тих препаратів етіотропно-го спрямування, які традиційно застосовуються для лікування бартонельозу, у т.ч. ХКП. Виявлена нами резистентність до цих препаратів входять в суперечність з клінічною ефективністю вживання вище вказаних препаратів для лікування ХКП, що відмічене у ряді публікацій [5, 8].

Протилежні погляди висловлюють дослідники і стосовно чутливості бартонел до антибіотиків β -лактамної групи [10 - 12]. Результати наших досліджень показали, що культури *Bartonella* spp. у 100 % випадків характеризувалися чутливістю до пеніцилінів, амінопеніцилінів, карбоксипеніцилінів. Проте останні не знайшли широкого використання в терапії бартонельозу в зв'язку з їх клінічною неефективністю. Напроти, досить часто для лікування ХКП фахівці пропонують застосовувати цефалоспорини [10]. Результати наших досліджень показали варіацію чутливості бартонел до різних препаратів групи цефалоспоринів. Так, всі досліджені штами були чутливими до цефалексину, цефазоліну, цефаклору, цефтриаксону, але 71 % цих штамів виявився резистентним до цефотаксиму.

Такі розбіжності *in vitro* і *in vivo* можна пояснити недостатньою бактерицидною дією антибіотиків, а також внутрішньоклітинним паразитуванням бартонел (у еритроцитах і епітеліоцитах), що забез-

печує їм захисну нішу і тривалу персистенцію в організмі господаря.

Так при вивченні *in vitro* чутливості бартонел, вирощених на культурі еритроцитів доведено, що тетрациклін, фторхинолони і цефалоспорини не володіють бактерицидною дією до них. Тільки аміноглікозиди мають бактерицидний ефект. Проте, при досягненні гентаміцином бактерицидної концентрації до *B. quintana*, яка знаходиться поза еритроцитами, було виявлено, що він не дає бактерицидний ефект на внутрішньоклітинні бактерії навіть після 96 годин витримки [13].

Отримані нами дані підтверджують високу (100 %) чутливість бартонел до рифампіцину, що узгоджується із ефективністю клінічного застосування цього препарату для лікування бартонельозу [10].

Таким чином, враховуючи що ефективність застосування антибіотиків у імунокомпетентних пацієнтів на ХКП не доведена, а є високий ризик виникнення побічних реакцій і розвитку стійкої флори, хворим із легким і середнім ступенем важкості, на наш погляд, антибіотикотерапію проводити не доцільно.

Для лікування пацієнтів із ускладненим перебігом ХКП (ретиніт, енцефалопатія і вісцеральні форми), а також з іншими варіантами бартонельозу (баціальний ангіоматоз, пеліоз) особливо у пацієнтів з ослабленою імунною системою оптимальні схеми призначення антибактерійних препаратів тільки розробляються. Ускладнює вирішення цього питання встановлені відмінності, які виявляються при визначенні чутливості збудника до антибіотиків в експериментах *in vitro* та фактичною ефективністю етіотропної терапії *in vivo*.

Висновки

1. Типовий і регіональні штами *Bartonella* spp. характеризуються високою чутливістю *in vitro* до більшості застосовуваних в клінічній практиці антибактерійних препаратів: β -лактамів групи пеніцилінів, амінопеніцилінів, карбоксипеніцилінів, цефалоспоринів (за винятком цефотаксиму), аміноглікозидів, карбопенемів, фторхинолонів, глікопептидів, похідних рифампіцину, нітробензолів.
2. Результати експериментів показали, що *in vitro* 14-57% штамів *Bartonella* spp. були резистентними до макролідів (еритроміцину, кларитроміцину, азитроміцину) і тетрациклінів (тетрацикліну), які традиційно застосовуються при лікуванні бартонельозу.
3. Результати досліджень антибіотикочутливості бартонел, що проводились *in vitro*, не можна порівняти з результатами, що одержані при лікуванні пацієнтів.

Таблиця.- Результати визначення чутливості штамів бартонел до антимікробних препаратів

Антимікробний препарат	Кількість штамів бартонел чутливих до дії антимікробного препарату, абс.ч., (%)		
	<i>B. henselae</i> CCUG 30454 BT	клінічні штами <i>Bartonella</i> spp.	всього штамів
Азитроміцин	-	4 (67)	4 (57)
Амікацин	+	6 (100)	7 (100)
Амоксицилін	+	6 (100)	7 (100)
Ампіцилін	+	6 (100)	7 (100)
Бензилпеніцилін	+	6 (100)	7 (100)
Ванкоміцин	+	6 (100)	7 (100)
Гатифлоксацин	+	6 (100)	7 (100)
Доксициклін	+	6 (100)	7 (100)
Ерітроміцин	-	3 (50)	3 (43)
Імепенем	+	6 (100)	7 (100)
Канаміцин	+	6 (100)	7 (100)
Карбеницилін	+	6 (100)	7 (100)
Кларитроміцин	±	5 (83)	5 (71)
Неоміцин	+	6 (100)	7 (100)
Норфлоксацин	+	6 (100)	7 (100)
Оксацилін	+	6 (100)	7 (100)
Офлоксацин	+	6 (100)	7 (100)
Поліміксин В	±	3 (50)	3 (43)
Рифампіцин	+	6 (100)	7 (100)
Стрептоміцин	+	6 (100)	7 (100)
Тетрациклін	+	5 (83)	6 (86)
Тобраміцин	+	6 (100)	7 (100)
Фузидин	+	6 (100)	7 (100)
Хлорамфенікол	+	6 (100)	7 (100)
Цефазолін	+	6 (100)	7 (100)
Цефаклор	+	6 (100)	7 (100)
Цефалексин	+	6 (100)	7 (100)
Цефотаксим	-	2 (33)	2 (29)
Цефтриаксон	+	6 (100)	7 (100)
Ципрофлоксацин	+	6 (100)	7 (100)

Примітки:

+ - чутливий

- - резистентний

± - помірно-чутливий

Список літератури

1. Characterization of a novel *Rochalimaea* species, *R. henselae* sp. nov., isolated from blood of a febrile human immunodeficiency virus-positive patient [Текст] / R.L. Regnery, B.E. Anderson, J.E. Claridge [et al.] // J. Clin. Microbiol. – 1992. – 30. – P. 265-274.
2. Поживне середовище для вирощування мікроорганізмів роду *Bartonella* [Текст] : пат. № 37277 Україна : МПК C12N 1/20 / Похил С.І., Козько В.М., Бондаренко О.В. [та ін.]. – № u200806849; заявл. 19.05.2008; опубл. 25.11.08, Бюл. № 22.
3. Бактеріологічний метод діагностики бартонельозної інфекції [Текст] / А.В. Бондаренко, С.І. Похил, О.В. Бондаренко [та ін.] // Лабораторная диагностика. – 2007. – № 2 (40). – С. 51-56.
4. Основные методы лабораторных исследова-

- ний в клинической бактериологии [Текст] / J. Vandepitte, K. Engbaek, P. Piot, C.C. Heuck. – Всемирная организация здравоохранения. – Женева, 1994. – 132 с.
5. Ramirez Ramirez C.R. Bacillary angiomatosis: microbiology, histopathology, clinical presentation, diagnosis and management [Текст] / C.R. Ramirez Ramirez, S.Saavedra, C.H. Ramirez Ronda // Bol. Asoc. Med. P. R. – 1996. – Vol. 88. – P. 46-51.
6. Определитель бактерий Берджи [Текст]: в 2 т. пер. с англ. [Текст] / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейли, С. Уильямса. – М.: Мир, 1997. – Т.1. – 430 с.
7. Breitschwerdt E.B. *Bartonella* infection in animals: carriership, reservoir potential, pathogenicity, and zoonotic potential for human infection [Текст] /

E.V. Breitschwerdt, D.L. Kordick // Clin. Microbiol. Rev. – 2000. – 13. – P. 428-438.

8. Rolain J.M. Bactericidal effect of antibiotics on *Bartonella* and *Brucella* spp.: clinical implications [Текст] / J.M. Rolain, M. Maurin, D. Raoult // J. Antimicrob. Chemother. – 2000. – Vol. 46. – P. 811-814.

9. Богун Л.В. Болезнь кошацьей царапины [Текст] / Л.В. Богун // Клиническая антибиотикотерапия. – 2005. – №6. – С. 13-16.

10. Rolain J.M., Brouqui P., Koehler J.E. Recommendations for Treatment of Human Infections Caused by *Bartonella* Species [Текст] / J.M. Rolain, P. Brouqui, J.E. Koehler // Antimicrob Agents Chemother. – 2004. – Vol. 48(6). – P. 1921-1933.

11. MICs of 28 antibiotic compounds for 14 *Bartonella* (formerly *Rochalimaea*) isolates [Текст] / M. Maurin, S. Gasquet, C. Ducco [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 1995. - Vol. 39. – P. 2387 – 2391.

12. In vitro susceptibilities of *Bartonella* and *Rickettsia* spp. to fluoroquinolone antibiotics as determined by immunofluorescent antibody analysis of infected Vero cell monolayers [Текст] / T.J. Ives, E.L. Marston, R.L. Regnery [et al.] // Int. J. Antimicrob. Agents. – 2001. – Vol. 18. – P. 217-222.

13. Culture and antibiotic susceptibility of *Bartonella quintana* in human erythrocytes [Текст] / J.M. Rolain, M. Maurin, M.N. Mallet [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2003. – Vol. 47. – P. 614-619.

УДК 616.98:578.828.6

ВИВЧЕННЯ ЧУТЛИВОСТІ ЗБУДНИКІВ БАРТОНЕЛЬОЗУ

ДО АНТИБАКТЕРІЙНИХ ПРЕПАРАТІВ

Бондаренко А.В.

Харківський національний медичний університет
МОЗ України

Вивчалась чутливість регіональних штамів бартонел до антибактерійних препаратів. Типовий і регіональні штами *Bartonella* spp. мали високу чутливість *in vitro* до більшості препаратів: пеніцилінам, амінопеніцилінам, карбоксипеніцилінам, цефалоспоринам (за винятком цефотаксиму), аміноглікозидам, карбопенемам, фторхінолонам, глікопептидам, рифампіцину, нітробензолам. 14-57% штамів *Bartonella* spp. були резистентними до макролідів (еритроміцину, кларитроміцину, азитроміцину) і тетрацикліну, які традиційно застосовуються при лікуванні бартонельозу.

Ключові слова: *Bartonella* spp., антибіотикочутливість

УДК 616.98:578.828.6

ИЗУЧЕНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ ВОЗБУДИТЕЛЕЙ БАРТОНЕЛЛЕЗА

К АНТИБАКТЕРИАЛЬНЫМ ПРЕПАРАТАМ

Бондаренко А.В.

Харьковский национальный медицинский университет
МОЗ Украины*

Изучалась чувствительность региональных штаммов

бартонелл к антибактериальным препаратам. Типовой и региональные штаммы *Bartonella* spp. обладали высокой чувствительностью *in vitro* к большинству препаратов: пеницилинам, аминопеницилинам, карбоксипеницилинам, цефалоспоринам (за исключением цефотаксима), аминоглюкозидам, карбопенемам, фторхинолонам, гликопептидам, рифампицину, нитробензолам. 14-57% штаммов *Bartonella* spp. были резистентными к макролидам (эритромицину, кларитромицину, азитромицину) и тетрациклину, которые традиционно применяются при лечении бартонеллеза.

Ключевые слова: *Bartonella* spp., антибиотикочувствительность

UDC 616.98:578.828.6

STUDY OF BARTONELLOSIS AGENTS SENSITIVENESS

TO ANTIBACTERIAL DRUGS

Bondarenko A.V.

Kharkiv National Medical University

The sensitiveness to antibacterial drugs of regional strains of *Bartonella* was studied. Typical and regional strains of *Bartonella* spp. had a high sensitiveness *in vitro* to most of the drugs: penicillins, aminopenicillins, carboxypenicillins, cephalosporins (except of cefotaximum), aminoglycosides, carbopenems, fluoroquinolones, glycopeptides, rifampicinum, nitrobenzenes. 14-57% strains of *Bartonella* spp. were resistant to macrolides (erythromycin, clarithromycin, azithromycin) and tetracycline, which are traditionally used at the treatment of bartonellosis.

Key words: *Bartonella* spp., antibiotic-sensitiveness