

І. В. Чопей, Я. О. Михалко, Т. В. Духович
ДВНЗ «Ужгородський національний університет»

Динаміка антибіотикорезистентності *Staphylococcus aureus* до лікарських засобів фторхінолонової групи *in vitro*

Вступ. Грампозитивні мікроорганізми посідають одне з чільних місць у структурі етіологічних збудників гнійно-запальних захворювань людини. Найбільш поширеними серед них є представники роду *Staphylococcus*, зокрема *Staphylococcus aureus* (*S. aureus*). Цей патоген належить до основних збудників хвороб шкіри, м'яких тканин, ЛОР-органів, а також призводить до виникнення остеомієліту, менінгіту й ендокардиту [1,5]. Основним методом лікування бактеріальних інфекцій є антибіотикотерапія.

Проте в деяких випадках лікування стафілокової інфекції стає серйозною проблемою, що зумовлено зростанням частоти виникнення антибіотикорезистентних штамів. Із огляду на застосування сучасних методів боротьби зі стафілоковою інфекцією проблема резистентності до антибактеріальних лікарських засобів постає досить гостро. З опублікованих праць відомо про велику поширеність стафілококових штамів, які набули резистентності до антибактеріальних лікарських засобів пеніцилінової групи, цефалоспоринів, макролідів, аміноглікозидів тощо. Лікарів-клініцистів найбільше турбують метицилінрезистентні штами *S. aureus* [8].

Проблема антибіотикорезистентності ускладнюється змінами загального спектра збудників і їх чутливості до хіміопрепаратів [2]. Спостереження останніх років свідчать про виникнення стійкості до кожного нового антибактеріального лікарського засобу приблизно через 5 років його інтенсивного використання [9]. Із досліджень, які проводили в Україні, відомо, що стійкість *S. aureus* до лікарських засобів фторхінолонової групи в різних регіонах неоднакова і в середньому коливається у межах від 4,00–6,00 % для гатифлоксацину до 46,20–49,00 % для норфлоксацину та пефлоксацину [4]. Із огляду на те що антибактеріальні лікарські засоби призначають здебільшого емпірично, важливою передумовою успішної антибіотикотерапії є врахування регіональних особливостей чутливості збудників до них.

Мета дослідження. Вивчити особливості динаміки антибіотикорезистентності *S. aureus* до лікарських засобів фторхінолонової групи впродовж 2011–2016 рр.

Матеріали й методи дослідження. Опрацьовували результати мікробіологічного дослідження 355 штамів *S. aureus*, виділених із ротоглотки дорослих пацієнтів, які лікувалися з приводу бактеріальних тонзилітів і фарингітів у медичних закладах м. Ужгорода у 2011–2016 рр. Мікробіологічне дослідження виділених збудників проводили на базі бактеріологічного відділення клініко-діагностичної лабораторії Обласної клінічної інфекційної лікарні (м. Ужгород). Для культивування стафілокока використовували 5,00% кров'яний агар, на якому спостерігався гемоліз, або жовтково-сольовий агар (поживний агар + NaCl + жовткова суміш, HiMedia, Індія). Після виділення чистої культури визначали патогенність стафілокока за такими показниками, як здатність розкладати глюкозу і маніт у анаеробних умовах. Чутливість до антимікробних лікарських засобів досліджували за допомогою диск-дифузійного методу на середовищі Д. Г. Мюллера – Д. Хінтона (Biolife, Італія) з 5,00% дефібринованою кров'ю. Для визначення чутливості збудників до антибіотиків застосовували диски з офлоксацином (5,0 мкг), ципрофлоксацином (5,0 мкг), левофлоксацином (5,0 мкг), гатифлоксацином (5,0 мкг), спарфлоксацином (10,0 мкг), пефлоксацином (10,0 мкг), а також норфлоксацином (10,0 мкг) (Biolife, Італія).

Дослідження, облік та інтерпретацію результатів проводили згідно з наказом МОЗ України від 05.04.2007 № 167 [3], рекомендаціями Інституту клінічних і лабораторних стандартів (Clinical and Laboratory Standards Institute, CLSI) [6] та Європейського комітету щодо визначення чутливості до антимікробних лікарських засобів (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, EUCAST) [7]. За отриманими результатами ізоляти поділили на три категорії: чутливі (S), помірно резистентні (I) та резистентні (R).

Нечутливими до антимікробних лікарських засобів вважали резистентні й помірно резистентні ізоляти.

Методи дослідження використовували з дотриманням прав людини, відповідно до чинного законодавства України та міжнародних етичних вимог. Вони не порушують етичних норм у науці та стандартів проведення біомедичних досліджень, не містять відомостей, опублікування яких може заподіяти шкоду оборонним, науково-технічним і економічним інтересам країни.

Статистичне опрацювання результатів проведено з використанням пакета прикладних програм STATISTICA 8 (StatSoft, USA). Для визначення статистичної вірогідної різниці між показниками частоти резистентних, помірно резистентних і чутливих штамів у різні роки застосовували двосторонній точний критерій Р. Фішера. Статистично вірогідною вважали відмінність за $p < 0,05$.

Результати дослідження та їх обговорення. Дослідження показали, що частота *S. aureus* з-поміж усіх інших бактеріальних збудників фарингитів становила 25,18 %, що лише на 4,89 % менше від частоти виявлення пневмокока, який вважається найпоширенішим серед інфекцій дихальних шляхів (рис. 1).

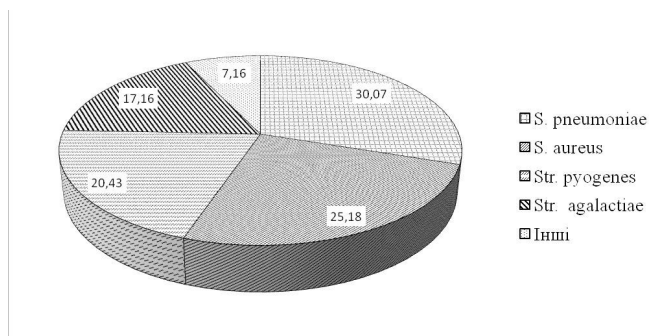


Рис. 1. Структура бактеріальних збудників фарингітів і тонзилітів упродовж 2011–2016 рр., %.

Аналіз антибіотикорезистентності *S. aureus* до лікарських засобів фторхінолонової групи показав, що цей показник досить низький і здебільшого не перевищував 12,00 % (табл. 1).

Таблиця 1

Динаміка показників резистентності штамів *S. aureus* до досліджуваних антибіотиків упродовж 2011–2016 рр., %

Лікарські засоби	2011 (n=65)	2012 (n=84)	2013 (n=58)	2014 (n=53)	2015 (n=44)	2016 (n=51)
Норфлоксацин	0,00	3,61	11,86	16,98	22,73	11,76*
Офлоксацин	3,08	0,00	-	0,00	2,27	11,76
Пефлоксацин	0,00	1,20	6,75	5,66	-	0,00
Спарфлоксацин	0,00	1,20	1,69	11,32	6,82	-
Левовфлоксацин	0,00	1,20	1,69	7,55	9,09	13,73*
Гатифлоксацин	0,00	0,00	1,69	7,55	2,27	1,96
Ципрофлоксацин	1,54	1,20	3,39	1,89	9,09	9,80*

Примітка. * – різниця статистично вірогідна за умов порівняння показників 2011 та 2016 рр.

Проте привертає увагу зростання антибіотикорезистентності до фторхінолонів у досліджуваній період. Якщо в 2011 р. резистентності до більшості лікарських засобів, що їх вивчали в дослідженні, взагалі не спостерігалось, то в 2016 р. цей показник становив близько 10,00 %. Водночас до деяких антибіотиків показник резистентності зростав досить швидко. Зокрема, антибіотикорезистентність до норфлоксацину за останніх шість років вірогідно зросла на 11,76 %, до левофлоксацину – на 13,73 %, до ципрофлоксацину – на 8,26 %. Спостерігалось підвищення резистентності до спарфлоксацину, пефлоксацину та гатифлоксацину в 2011–2014 рр., після цього зауважували тенденцію до її зниження.

Аналіз чутливості *S. aureus* до досліджуваних фторхінолонів показав, що цей показник коливався у межах 80,00–90,00 % упродовж 2011–2016 рр. (табл. 2). Однак чутливість до більшості антибіотиків поступово знижувалася.

Таблиця 2

Динаміка показників чутливості *S. aureus* до досліджуваних антибіотиків упродовж 2011–2016 рр., %

Лікарські засоби	2011 (n=65)	2012 (n=84)	2013 (n=58)	2014 (n=53)	2015 (n=44)	2016 (n=51)
Норфлоксацин	93,85	93,98	88,14	83,02	68,18	80,39*
Офлоксацин	96,92	100,00	-	100,00	95,45	88,24*
Пефлоксацин	90,77	96,39	93,22	84,91	-	100,00*
Спарфлоксацин	100,00	97,59	98,31	88,68	93,18	-
Левовфлоксацин	100,00	98,80	98,31	92,45	90,91	84,31*
Гатифлоксацин	100,00	100,00	98,31	90,57	97,73	94,12
Ципрофлоксацин	95,38	93,98	92,22	90,57	81,82	78,43

Примітка. * – різниця статистично вірогідна за умов порівняння показників 2011 та 2016 рр.

Так, чутливість до норфлоксацину, офлоксацину та левофлоксацину в 2016 р. вірогідно знизилася на 13,46, 8,68 і 15,69 % відповідно порівняно з аналогічним показником 2011 р. Чутливість до ципрофлоксацину та гатифлоксацину також знизилася, проте ці зміни не були статистично вірогідними. Водночас зниження чутливості до вказаних лікарських засобів мало нелінійний характер. Зазначмо, що чутливість до пефлоксацину вірогідно зросла майже на 10,00 % станом на 2016 р.

Наведені вище зміни чутливості *S. aureus* до досліджуваних лікарських засобів частково пояснюються змінами резистентності цього збудника, а частково – наявністю помірно резистентних штамів. Так, аналіз частоти помірно резистентних ізолятів *S. aureus* показав, що в досліджуваній період цей показник був незначним і таких збудників переважно не виявлено (табл. 3).

Таблиця 3

Динаміка показників помірної резистентності *S. aureus* до досліджуваних антибіотиків упродовж 2011–2016 рр., %

Лікарські засоби	2011 (n = 65)	2012 (n = 84)	2013 (n = 58)	2014 (n = 53)	2015 (n = 44)	2016 (n = 51)
Норфлоксацин	6,15	2,41	0,00	0,00	9,09	7,84
Офлоксацин	0,00	0,00	-	0,00	2,27	0,00
Пефлоксацин	9,23	2,41	0,00	9,43	-	0,00*
Спарфлоксацин	0,00	1,20	0,00	0,00	0,00	-
Левовфлоксацин	0,00	0,00	0,00	0,00	0,00	1,96
Гатифлоксацин	0,00	0,00	0,00	1,89	0,00	3,92
Ципрофлоксацин	3,08	4,82	3,39	7,55	9,09	11,77

Примітка. * – різниця статистично вірогідна за умов порівняння показників 2011 та 2016 рр.

Проте слід зауважити, що до ципрофлоксацину спостерігалось майже щорічне зростання цього показника, тоді як до норфлоксацину помітне зростання зафіксовано впродовж 2015–2016 рр. Натомість помірно резистентні до левофлоксацину штами з'явилися лише в 2016 р., а до гатифлоксацину – такі ізоляти траплялися у 2014 та 2016 рр., проте їх кількість не перевищувала 4,00 %.

Висновки. Невелика частота резистентності й досить висока чутливість дає змогу рекомендувати призначення фторхінолонів як емпіричне лікування інфекцій дихальних шляхів, спричинених *S. aureus*. Однак поступове зростання резистентності та помірної резистентності, а також зниження чутливості цього збудника до фторхінолонів вимагає неухильного дотримання правил раціонального призначення антибіотикотерапії.

Список літератури

1. Беляев АВ. Механизмы антибактериальной резистентности. Клиническая антибиотикотерапия. 2003;2(22):4-7 (Belyaev AV. Mechanisms of antibacterial resistance. Clinical antibiotic therapy. 2003;2(22):4-7) (Russian).
2. Косенко ИМ. Антимикробная терапия внебольничных респираторных и ЛОР-инфекций: новые возможности в преодолении резистентности. Фарматека. 2011;18(231):15-20 (Kosenko IM. Antibacterial therapy of community-acquired respiratory and ENT-infections: new potentials for overcoming resistance. Pharmateca. 2011;18(231):15-20) (Russian).
3. Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.2007 р. Про затвердження методичних вказівок «Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів». [Електронний ресурс]. - Режим доступу: <http://www.moz.gov.ua> (Mandate of the Ministry of Health of Ukraine from 05.04.2007 N 167 On the approval of the methodological guidelines "Determination of the sensitivity of microorganisms to antibacterial drugs". Access mode: <http://www.moz.gov.ua>) (Ukrainian).
4. Салманов АГ, Марієвський ВФ. Антибіотикорезистентність штамів *S. aureus*, виділених від хірургічних хворих, які перебували у відділеннях реанімації та інтенсивної терапії хірургічних стаціонарів України в 2008 р. Україна. Здоров'я нації. 2011;1(17):83-88 (Salmanov AG, Mariyevskiy VF. Antibiotic Resistance of Nosocomial Strains of *S. aureus* in ICU of surgical Department of Ukraine in 2008. Ukraine. The Health of the Nation. 2011;1(17):83-88) (Ukrainian).
5. Широбоков ВП. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підруч. для студентів вищих мед. закл. освіти. Вінниця: Нова Книга, 2011. 952 с. (Shirobokov VP. Medical microbiology, virology and immunology: a textbook for students of higher medical schools. Vinnitsa, 2011. 952 p.) (Ukrainian).
6. Clinical and Laboratory Standards Institute. Performance standards for antimicrobial susceptibility testing; twenty-third informational supplement. CLSI document M100-S23. 2013;33(1):104-109.
7. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 1.3. 2011, January 5.
8. Naumenko ZS, Rozova LV, Kliushin NM. Dynamics of antibiotic resistance of *Staphylococcus aureus* isolated from chronic osteomyelitis patients. Journal of Microbiology, Epidemiology and Immunology. 2003, Mar-Apr 2: 70-72.
9. Wilcox MH. The tide of antimicrobial resistance and selection. Int J Antimicrob Agents. 2009;34(3 Suppl):6-10. [https://doi.org/10.1016/S0924-8579\(09\)70550-3](https://doi.org/10.1016/S0924-8579(09)70550-3)

Стаття надійшла до редакції журналу 12 грудня 2017 р.

Динаміка антибіотикорезистентності *Staphylococcus aureus* до лікарських засобів фторхінолонової групи *in vitro*

І. В. Чопей, Я. О. Михалко, Т. В. Духович

Вступ. За останні роки значення *S. aureus* у виникненні бактеріальних інфекцій дихальних шляхів зросло не тільки внаслідок його поширеності, а й через виникнення стійкості цього збудника до лікарських засобів. Зазвичай антибіотики призначають емпірично, тому важливо брати до уваги регіональні особливості чутливості збудників до препаратів.

Мета. Вивчити особливості динаміки антибіотикорезистентності *S. aureus* до препаратів фторхінолонового ряду впродовж 2011–2016 рр.

Матеріали й методи. Проаналізовано результати мікробіологічного дослідження 355 штамів *S. aureus*, виділених із ротоглотки дорослих пацієнтів, які лікувалися з приводу бактеріальних тонзилітів і фарингітів у медичних закладах м. Ужгорода в 2011–2016 рр. Чутливість *S. aureus* визначали з використанням диск-дифузійного методу.

Результати. Резистентність *S. aureus* до фторхінолонів не перевищувала 12 %. Спостерігалася тенденція до зростання цього показника. Чутливість *S. aureus* коливалася в межах 80,00–90,00 %, проте зауважено її поступове зниження. Помірна резистентність ізолятів *S. aureus* була незначною, переважно таких збудників не фіксували взагалі.

Висновки. Досить низький рівень резистентності й порівняно високий рівень чутливості дає змогу рекомендувати призначення фторхінолонів як емпіричне лікування інфекцій, спричинених *S. aureus*, проте вимагає неухильного дотримання правил раціонального призначення лікарських засобів.

Ключові слова: антибіотикорезистентність, *S. aureus*, фторхінолони, тонзиліт, фарингіт.

Dynamics of *Staphylococcus Aureus* Antibiotic Resistance to Fluoroquinolones in Vitro

I. Chohey, Y. Mykhalko, T. Dukhovych

Introduction. *S. aureus* is the main pathogen of skin, soft tissues and otorhinolaryngological infections as well as the cause of osteomyelitis, meningitis and endocarditis. In recent years the importance of *S. aureus* mediated infections has grown not only because of their spreading, but also due to their antibiotic resistance. Recent observations showed that the resistance is developed to each new antibacterial agent after 5 years of its intensive use. Based on the studies conducted in Ukraine, it is known that the resistance of *S. aureus* to fluoroquinolones varies in different regions and ranges from 4.00–6.00 % to gatifloxacin to 45.20–49.00 % to norfloxacin and pefloxacin.

Considering that in the overwhelming majority of cases antibacterials are prescribed empirically, an important background for successful antibiotic therapy is taking into account the regional and mostly the local antimicrobial resistance patterns.

The **aim** of the study was to evaluate the antibiotic resistance profile of *S. aureus* isolates to fluoroquinolones and its changing during 2011–2016.

Materials and methods. 355 *S. aureus* strains isolated from adult patients who were treated in Uzhgorod medical institutions due to bacterial tonsillitis or pharyngitis during 2011–2016 were included in the study. After isolation of a pure culture, susceptibilities were tested by using the disk diffusion method. The following antimicrobial disks were tested on Müller-Hinton agar (Biolife, Italy): ofloxacin (5.0 µg), ciprofloxacin (5.0 µg), levofloxacin (5.0 µg), gatifloxacin (5.0 µg), Sparfloxacin (10.0 µg), pefloxacin (10.0 µg), and norfloxacin (10.0 µg).

Research methods were used with respect for human rights, according to the current legislation in Ukraine in accordance to international ethical requirements and do not violate the ethical standards in science and standards for conducting biomedical research.

Results. Analysis of *S. aureus* resistance to fluoroquinolones found that this parameter remained at a relatively low level and, in majority of cases, did not exceed 12.00 %. However, constant increasement of antimicrobial resistance was noticed during 2011–2016. Thus, the *S. aureus* resistance to norfloxacin, levofloxacin and ciprofloxacin increased significantly from 0.00 %, 0.00 % and 1.54 % in 2011 to 11.76 %, 13.73 % and 9.80 % in 2016 respectively. Resistance to ofloxacin and gatifloxacin in 2011–2016 rised from 3.08 % and 0.00 % to 11.76 % and 1.96 %, respectively, but this difference was not statistically significant. The *S. aureus* susceptibility to fluoroquinolones fluctuated within 80.00–90.00 % during 2011–2016 and gradually decreased. For instance, susceptibility to norfloxacin, ofloxacin and levofloxacin decreased significantly from 93.85 %, 96.92 % and 100.00 % to 80.39 %, 88.24 % and 84.31 % respectively over the past 6 years. However, for pefloxacin there was a significant increase in susceptibility from 90.77 % to 100.00 % during the investigated period.

The prevalence rates of intermediate resistant *S. aureus* isolates during the study period was negligible and in majority of cases this type of strains were not detected at all.

Conclusions. Relatively low rates of resistance and high rates of susceptibility allowed to recommend fluoroquinolones for the empirical therapy of *S. aureus* caused infections. However, the gradual increase of resistance to these antibiotics, requires strict compliance with the antimicrobial stewardship.

Keywords: antibiotic resistance, *S. aureus*, fluoroquinolones, tonsillitis, pharyngitis.