

© Назарчук О. А., Палій Д. В., Осадчук Н. І., Коваленко І. В., Буркот В. М.

УДК: 577.182:579.841.1

Назарчук О. А., Палій Д. В., Осадчук Н. І., Коваленко І. В., Буркот В. М.

## АНАЛІТИЧНЕ ПРОГНОЗУВАННЯ ЧУТЛИВОСТІ ДО ФТОРХІНОЛОНІВ *PSEUDOMONAS AERUGINOSA*, ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ

Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова (м. Вінниця)

nazarchukoa@gmail.com

Дана робота виконана в рамках НДР «Вивчення багатовекторності властивостей лікарського антимікробного препарату декаметоксину», № державної реєстрації 0115U006000.

**Вступ.** В сучасній медицині проблема інфекційних ускладнень у важких хворих залишається актуальною, набуваючи все більшого медичного, соціального значення. Високий ризик інфекційних ускладнень існує в пацієнтів з опіковою хворобою, що належать до категорії хворих, які знаходяться в критичному стані. Провідну роль у виникненні інфекційних ускладнень відіграють умовнопатогенні мікроорганізми, збудники опортуністичних інфекцій. Серед яких ведучі позиції займає *Pseudomonas aeruginosa*, грамнегативна бактерія з високими адаптаційними властивостями, що забезпечують збудникам здатність швидко утворювати резистентні варіанти збудників до лікарських протимікробних засобів [5].

Антибіотикотерапію вважають тепер найважливішою невід'ємною складовою профілактики, лікування інфекційних ускладнень в пацієнтів з опіковою хворобою. Особливості опікових ран, динамічні зміни якісного та кількісного складу їх мікрофлори в процесі лікування пацієнтів потребують уважно підходити до застосування протимікробних препаратів. Відомо, що *P. aeruginosa* володіє природною та набутою стійкістю до антибіотиків. Враховуючи природну стійкість *P. aeruginosa* до ряду антибактеріальних препаратів, в опікових хворих застосовують фторхінолонові лікарські засоби для профілактики, лікування інфекційних ускладнень [9].

В умовах повсякденного застосування фторхінолонів клінічні штами *P. aeruginosa* легко набули здатність формувати стійкість до цих ліків. Виникнення в мікроорганізмів стійкості до фторхінолонів реалізується через такі механізми як зміна структури ферментів-мішеней ДНК-гірази і топоізомерази IV, порушення транспортування препаратів у клітину, активне його виведення назовні. Резистентність до фторхінолонів має хромосомну природу, яка відбувається ступенево та є перехресною для фторхінолонів [2,4].

Значний науковий інтерес представляє вивчення чутливості клінічних штамів *P. aeruginosa*, які спричиняють інфекційні ускладнення у хворих з опіковою хворобою, до фторхінолонових хіміотерапевтичних лікарських засобів. Актуальним, перспективним за-

лишається математико-аналітичне прогнозування чутливості клінічних штамів багатьох бактерій, в тому числі *P. aeruginosa*, до фторхінолонів для поглибленого розуміння механізмів ефективності фторхінолонового ряду [8].

**Мета дослідження.** Виконати математичне аналітичне прогнозування чутливості до фторхінолонів клінічних штамів *P. aeruginosa*, ізольованих від хворих з опіковою хворобою.

**Об'єкт і методи дослідження.** В дослідження було залучено 295 пацієнтів з опіковою хворобою, які знаходились на лікуванні в опіковому відділенні Вінницької обласної клінічної лікарні ім. М. І. Пирогова (2011-2015 рр.). Всебічне обстеження кожного пацієнта включало мікробіологічне вивчення патологічного матеріалу з опікових ран. Мікробіологічне дослідження виконували на кафедрі мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету імені М. І. Пирогова. Бактеріологічне обстеження пацієнтів передбачало виділення, ідентифікацію чистої культури *P. aeruginosa* на підставі морфологічних, культуральних, біохімічних властивостей; визначення чутливості до антибіотиків, антисептиків як можна раніше до початку лікування. Біохімічні властивості штамів *P. aeruginosa* вивчали з використанням тест-системи НЕ-ФЕРМтест-24 (PLIVA – Lachema a. s. Брно, Чеська республіка). Всього було виділено 127 штамів *P. aeruginosa*. В дослідженні використовували стандартні паперові диски з фторхінолонами (Oxoid Ltd., Basingstoke, Hampshire England; ЗАТ «НДЦФ», Санкт-Петербург, Росія). Для дослідження використовували готові лікарські форми декількох вітчизняних виробників препаратів норфлуксацину (ТОВ «Фармацевтична компанія «Здоров'я»; ОЗ ГНЦЛС ТОВ, Харків; Нико, ТОВ, Макіївка, Україна), офлуксацину (Юрія-Фарм ТОВ, Київ; Київмедпрепарат ВАТ, Київ, Україна), левофлуксацину (Корпорація Артеріум, Україна; Технолог ПАТ, Умань; Здоров'я ТОВ, Харків) Україна); гатифлуксацину (Юрія-Фарм ТОВ, Київ; Актівіс, Україна), які закупляли в аптеках. Чутливість до норфлуксацину (Norfloxacin), офлуксацину (Ofloxacinum), левофлуксацину (Levofloxacin), гатифлуксацину (Gatifloxacin), досліджували загальноприйнятим методом стандартних паперових дисків на щільному поживному середовищі та кількісним методом двократних серійних робведень, відповідно до рекомендацій МОЗ України та EUCAST.

В дослідженні не визначили достовірної різниці активності антипсевдомонадної активності досліджуваних лікарських препаратів різних виробників, що дозволило об'єктивно оцінити ефективність діючої речовини [1,7].

Результати дослідження чутливості клінічних штамів *P. aeruginosa* до фторхінолонів аналізували математико-статистичними методами з встановленням цілком закономірного зв'язку між числовими значеннями ознак, які змінювались та ймовірністю реалізації цих значень у масі проведених спостережень [6]. Математичне аналітичне прогнозування передбачало визначення реальної чутливості *P. aeruginosa* та перенесення результатів на досліджувану систему шляхом побудови серії гіпотетичних математичних моделей прогнозованої чутливості синьогнійної палички до фторхінолонів за методами нормативного аналізу з конкретизацією значень абсолютного та відносного оптимуму.

Нами були розроблені прогностичні моделі. Прогностичне моделювання реальної чутливості *P. aeruginosa* до антибіотиків представляє сукупність математичних формул, що визначали такі властивості у збудників інфекційних ускладнень залежно від їх значень, зовнішніх та початкових умов і часу. Оцінку достовірності, точності кожної розробленої математичної моделі, обґрунтування прогнозу чутливості до протимікробних засобів оцінювали за коефіцієнтом детермінації ( $r^2$ ). Обробку одержаних даних проводили з використанням ліцензійних пакетів оригінальних комп'ютерних програм «STATISTICA 7»; «Matlab 7.11» [3].

Для кожної вибірки клінічних ізолятів *P. aeruginosa* з інтервалом в один рік визначали середньоарифметичну величину ( $M$ ), похибку середньої арифметичної ( $m$ ), середнє квадратичне відхилення ( $\sigma$ ). В ході досліджень за допомогою методів прикладної математики було проведено апроксимацію та інтерполяцію даних. На їх основі вперше отримали аналітичну залежність динамічних прогностичних показників зміни чутливості клінічних ізолятів *P. aeruginosa*, як збудників інфекційних ускладнень у важкохворих з опіками.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Всі виділені від пацієнтів з опіковою хворобою штами (2011 р. – n 27; 2012 р. – n 26; 2013 р. – n 26; 2014 р. – n 23; 2015 р. – n 25) володіли типовими тинкторіальними, морфологічними, культуральними властивостями. Всі клінічні штами *P. aeruginosa* (n 127) проявляли оксидазну, калазну,  $\gamma$ -глутамілтрансферазну,  $L_1$ -пролінариламідазну активність. Досліджувані псевдомонади ферментували глюкозу, D-манніт, малонат; в більшості випадків проявляли уреазну, фосфатазну активність. При тестуванні ферментативних властивостей у всіх штамів не відмічали активності щодо D-целобіози. Негативними були тести на L-лактат, N-ацетіл-бета-глюкозамінідазу, D-маннозу, ліпазу, L-гістидін. Здатність до пігментоутворення мали 123 штами *P. aeruginosa*. Чотири штами, які не утворювали пігменту володіли всіма біохімічними властивостями, притаманними для *P. aeruginosa*.

Результати математико-статистичної обробки результатів багаторічного дослідження чутливості *P. aeruginosa* до захищених амінопеніцилінів дозволили побудувати прогностичні моделі чутливості клінічних штамів до фторхінолонів (**формула 1, рис. 1**).

$$\text{Norfloxacin} = a + bx^2 + c/x, \text{ де} \quad (1)$$

$$a = -7155999.5;$$

$$b = 0.58789441;$$

$$c = 9.6096076e+9;$$

$$x - \text{роки,}$$

$$r^2 = 0,980; \text{ похибка } 0,02\%.$$

Встановили згладжені показники експоненційного зниження чутливості до норфлоксацину *P. aeruginosa* як збудників інфекційних ускладнень в пацієнтів з опіковою хворобою. Зниження ефективності норфлоксацину щодо *P. aeruginosa* відмічали впродовж 2011 – 2013 рр. З 2014 – 2015 рр. відбулось деяке припинення падіння чутливості штамів псевдомонад до норфлоксацину, проте відсоток чутливих ізолятів знизився нижче 20%. Така чутливість вказує на несприятливий прогноз ефективності даного препарату (**рис. 1**).

Встановлені експоненційно згладжені показники за п'ять років спостереження (2011-2015 рр.) екстраполюють тенденцію зниження рівня чутливості *P. aeruginosa* до офлоксацину менше 10% в найближчому майбутньому (**формула 2, рис. 2**).

$$\text{Ofloxacinum} = a + bx + cx^2 \ln x + dx^3, \text{ де} \quad (2)$$

$$a = 5.8567552e+8;$$

$$b = -812696.99; c = 56.580819;$$

$$d = -0.085067767;$$

$$x - \text{роки,}$$

$$r^2 = 0,9598; \text{ похибка } 0,05\%.$$

Математична екстраполяція закономірності характеру чутливості вказує на зниження чутливості *P. aeruginosa* до левофлоксацину (2011-2014 рр.) в межах 37,0 – 15,4% (**формула 3, рис. 3**).

$$\text{Levofloxacin} = a + bx / \ln x + cx^3, \text{ де} \quad (3)$$

$$a = -12798827;$$

$$b = 33709.483;$$

$$c = 1.5718088e+13;$$

$$x - \text{роки,}$$

$$r^2 = 0,985; \text{ похибка } 0,02\%$$

Подальший аналіз математичної моделі показав поступовий підйом чутливості по типу параболічної кривої. Проте, левофлоксацин залишається прогностично неефективним щодо клінічних штамів *P. aeruginosa*, оскільки кількість чутливих до нього ізолятів не перевищувала 20,0% у 2015 р (**формула 3, рис. 3**).

Одержані дані свідчать про суттєве зниження чутливості до гатіфлоксацину клінічних штамів *P. aeruginosa*, ізольованих від пацієнтів з опіковою хворобою, до фторхінолонового лікарського препарату четвертого покоління (**формула 4, рис. 4**).

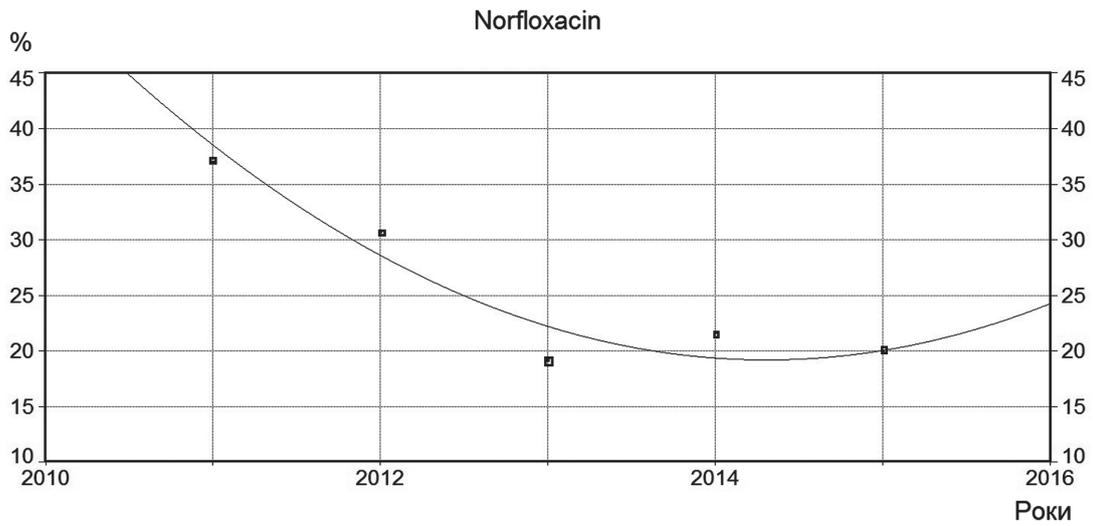


Рис. 1. Прогностична характеристика чутливості до норфлораксину *P. aeruginosa*.

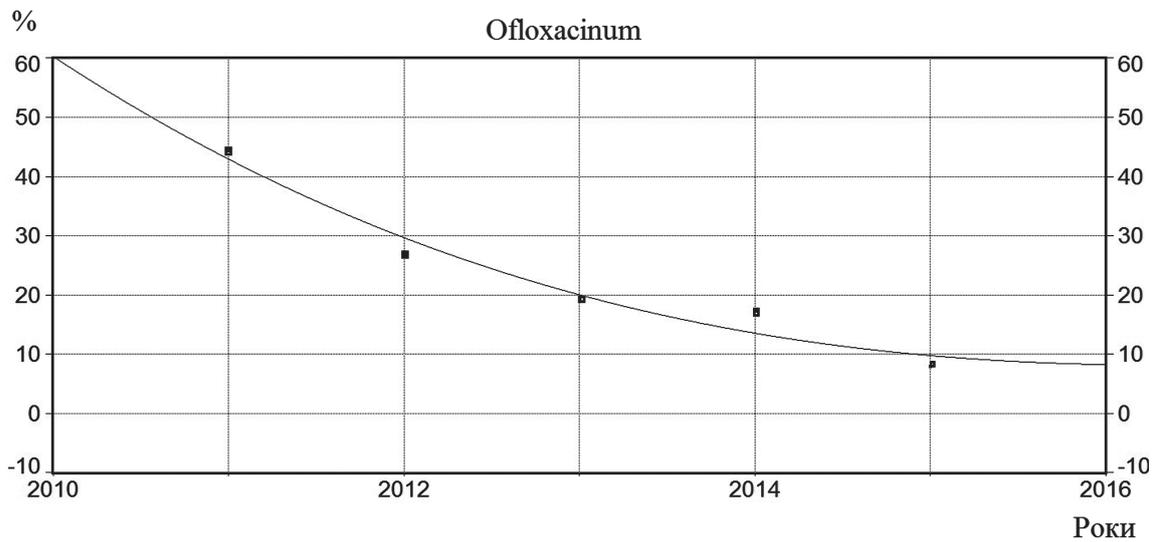


Рис. 2. Характеристика прогностичної чутливості до офлораксину *P. aeruginosa*.

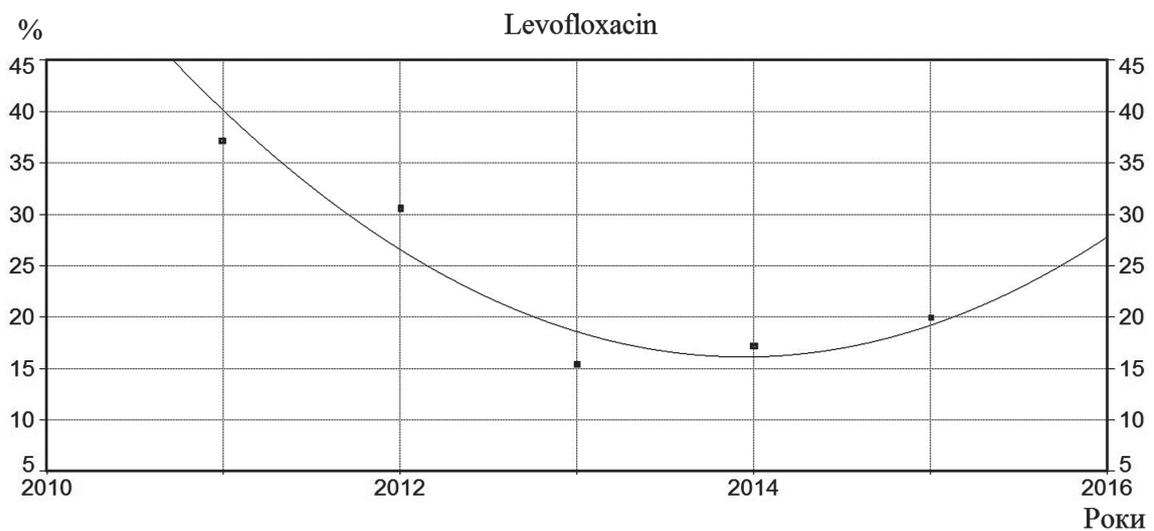


Рис. 3. Прогностична характеристика чутливості до левофлораксину *P. aeruginosa*.

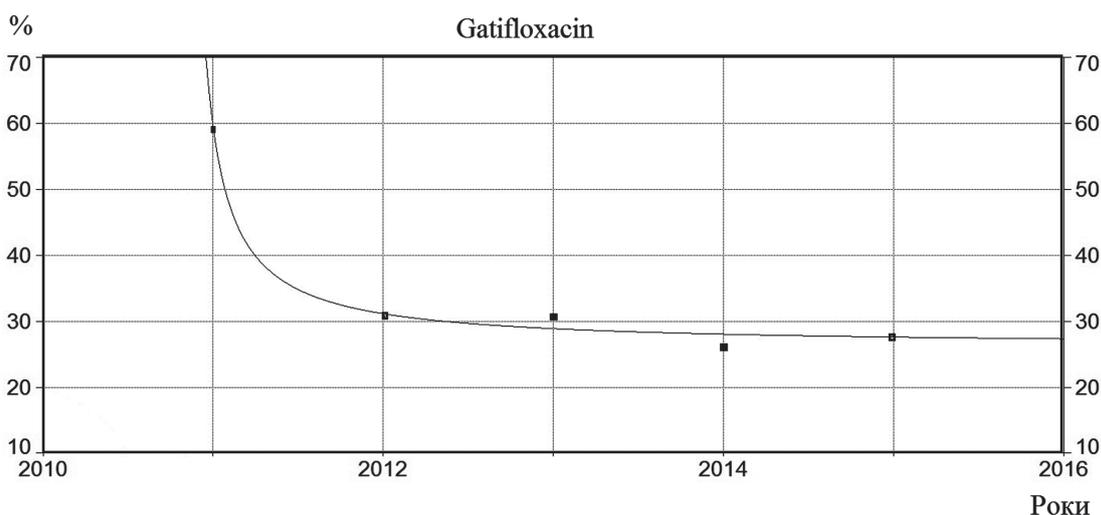


Рис. 4. Характеристика прогностичної чутливості до гатіфлоксацину клінічних штамів *P. aeruginosa*.

$$\text{Levofloxacin} = \frac{a + c \ln x}{1 + b \ln x}, \text{ де} \quad (4)$$

$a = 26.233693$ ;

$b = -0.13146996$ ;

$c = -3.4489924$ ;

$x$  – роки;

$r^2 = 0,989$ ; похибка 0,02%.

Клінічні штами *P. aeruginosa* були чутливими до гатіфлоксацину в 59,3% випадків (2011 р.). В подальшому, математичний аналіз результатів продемонстрував прогностичну тенденцію до різкого зниження загальної чутливості *P. aeruginosa* при застосуванні гатіфлоксацину. Прогностична модель чутливості має вигляд «експоненційного згасання» і свідчить про очікувану низьку ефективність даного антимікробного лікарського препарату для профілактики, лікування інфекційних ускладнень у пацієнтів з опіковою хворобою, спричинених *P. aeruginosa*.

**Висновок.** Прогностичні аналітичні вирази характеризують суттєве зниження в динаміці чутливості клінічних штамів *P. aeruginosa*, які спричиняють інфекційні ускладнення у пацієнтів з опіковою хворобою, до норфлуксацину, левофлуксацину (на 17%), офлуксацину (на 36%). Чутливість до гатіфлоксацину клінічних ізолятів *P. aeruginosa* зменшилась на 31,3%, прогностично має вигляд тенденцію до подальшого експоненційного зниження в найближчому майбутньому.

**Перспективи подальших досліджень.** Низька чутливість до фторхінолонів *P. aeruginosa* та її прогностичне зниження свідчать про загрозу ефективного емпіричного призначення без попереднього визначення чутливості госпітальних штамів цих бактерій до антимікробних препаратів; потребують розробки нових протимікробних лікарських засобів для профілактики, лікування інфекційних ускладнень в пацієнтів з опіковою хворобою.

## Література

1. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів: методичні вказівки МВ 9.9.5 – 143 / Л.С. Некрасова, В.М. Свита, Т.Г. Глушкевич [та ін.]. – К. – 2007. – 74 с.
2. Медична мікробіологія, вірусологія та імунологія: підручник для студ. вищ. мед. навч. заклад. [Текст] / за ред. В.П. Широбова / Видання 2-е. – Вінниця: Нова Книга, 2011. – 952 с.
3. Потемкин В.Г. Система инженерных и научных расчетов MATLAB 5.x.: [в 2-х т.] / Валерий Георгиевич Потемкин. – М.: ДИАЛОГ-МИФИ, 1999. – Том 1. – 1999. – 366 с.
4. Фещенко Ю.І. Антибіотикорезистентність мікроорганізмів. Стан проблеми та шляхи її вирішення / Ю.І. Фещенко, М.І. Гуменюк, О.С. Денисов // Український хіміотерапевтичний журнал. – 2010. – № 1-2 (23). – С. 4-10.
5. Фрич Н.І. Аналіз чутливості до антибіотиків клінічних штамів мікроорганізмів виділених в хірургічних та урологічних стаціонарах м. Івано-Франківська [Електронний ресурс] / Н.І. Фрич // Аналіз Мечниковського інституту. – 2011. – № 2. – С. 39-47. – Режим доступу: [http://nbuv.gov.ua/UJRN/ami\\_2011\\_2\\_9](http://nbuv.gov.ua/UJRN/ami_2011_2_9).
6. Юнкеров В.И. Математико-статистическая обработка данных медицинских исследований / В.И. Юнкеров, С.Г. Григорьев, М.В. Резванцев. – СПб.: ВМедА, 2011. – 318 с.
7. EUCAST expert rules in antimicrobial susceptibility testing / R. Leclercq, R. Canton, D.F.J. Brown [et al.] // Clinical Microbiology Infection. – 2013. – Vol. 19, № 2. – P. 141-160.
8. Prevalence of multidrug-resistant organisms recovered at a military burn center / E. Keen, B.J. Robinson, D.R. Hospenthal [et al.] // Burns. – 2010. – Vol. 36, № 6. – P. 819-825.
9. Prophylactic antibiotics for burns patients: systematic review and meta-analysis [Електронний ресурс] / Т. Avni, А. Levcovich, D.D. Ad-El [et al.] // British Medical Journal. – 2010. – 15. – 340. P. 241. – Режим доступу: <http://www.bmj.com/content/bmj/340/bmj.c241.full.pdf>.

УДК: 577.182:579.841.1

### АНАЛІТИЧНЕ ПРОГНОЗУВАННЯ ЧУТЛИВОСТІ ДО ФТОРХІНОЛОНІВ PSEUDOMONAS AERUGINOSA, ЗБУДНИКІВ ІНФЕКЦІЙНИХ УСКЛАДНЕНЬ

Назарчук О.А., Палий Д.В., Осадчук Н.І., Коваленко І.В., Буркот В.М.

**Резюме.** В роботі наведені нові дані щодо чутливості до фторхінолонів клінічних штамів *Pseudomonas aeruginosa*, ізольованих від пацієнтів з опіковою хворобою класичною методикою. За допомогою методів математичного прогнозування вперше встановлено аналітичну залежність динамічних прогностичних критеріїв зміни чутливості *P. aeruginosa* до норфлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, гатифлоксацину. Встановлено низьку чутливість клінічних штамів *P. aeruginosa* до норфлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, гатифлоксацину. Визначено прогностичне зниження чутливості до фторхінолонів штамів синьогнійної палички, які в найближчому майбутньому можуть викликати інфекційні ускладнення при опіковій хворобі.

**Ключові слова:** чутливість, антимікробні засоби, фторхінолони, *Pseudomonas aeruginosa*, інфекційні ускладнення.

УДК: 577.182:579.841.1

### АНАЛИТИЧЕСКОЕ ПРОГНОЗИРОВАНИЕ ЧУВСТВИТЕЛЬНОСТИ К ФТОРХИНОЛОНАМ PSEUDOMONAS AERUGINOSA, ВОЗБУДИТЕЛЕЙ ИНФЕКЦИОННЫХ ОСЛОЖНЕНИЙ

Назарчук О.А., Палий Д.В., Осадчук Н.И., Коваленко И.В., Буркот В.М.

**Резюме.** В работе приведены новые данные о чувствительности клинических штаммов *Pseudomonas aeruginosa*, изолированных от ожоговых больных, к бета-лактамам фторхинолонам. При помощи методов математического прогнозирования, впервые установлена аналитическая зависимость динамических прогностических критериев изменения чувствительности *P. aeruginosa* к норфлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, гатифлоксацину. Установлено низкую чувствительность клинических штаммов *P. aeruginosa* к норфлоксацину, офлоксацину, левофлоксацину, гатифлоксацину. Определено прогностическое снижение чувствительности к фторхинолонам штаммов синегнойной палочки, которые вызывают инфекционные осложнения при ожоговой болезни, в ближайшем будущем.

**Ключевые слова:** чувствительность, антимикробные средства, фторхинолоны, *Pseudomonas aeruginosa*, инфекционные осложнения.

UDC: 577.182:579.841.1

### ANALYTIC PROGNOSTICATION OF SENSITIVITY TO FLUOROQUINOLONES IN PSEUDOMONAS AERUGINOSA, ISOLATED FROM BURN PATIENTS

Nazarchuk A. A., Paliy D. V., Osadchuk N. I., Kovalenko I. V., Burkot V. M.

**Abstract.** In the research, the new data of *Pseudomonas aeruginosa* clinical strains' sensitivity to fluoroquinolones are presented.

*The aim of the research* was to carry out analytic prognosis of sensitivity to fluoroquinolones in clinical strains of *Pseudomonas aeruginosa*, isolated from patients with burns.

*Materials and methods.* Our research was carried out in the period of 2011-2015 years. There were enrolled 295 patients with hard burn trauma (the 3<sup>rd</sup> - 4<sup>th</sup> stage of severity) in who purulent-inflammatory complications happened. All patients with burns were treated in Vinnitsa Regional Clinical Hospital named after N. I. Pirogov according to standard management guidelines. In their treatment, they had antimicrobial administrations (antibiotics, antiseptics). From patients there were isolated 127 clinical strains of *P. aeruginosa* (2011 p. – n 27; 2012 p. – n 26; 2013 p. – n 26; 2014 p. – n 23; 2015 p. – n 25). There was studied the sensitivity of *P. aeruginosa* clinical strains to such fluoroquinolones as norfloxacin, ofloxacinum, levofloxacin, gatifloxacin. We used by means of standard disc-diffusion method on dense medium and quantitative serial dilution one. The analytical dependence of dynamic prognostic changing criteria of *P. aeruginosa* clinical strains' sensitivity to fluoroquinolones was found by means of mathematical prognostication. Prognostic mathematical models were conducted. Authenticity of every model and substantiation of the prognosis of antibiotic sensitivity of *P. aeruginosa* were estimated due to determination criteria ( $r^2$ ). "STATISTICA 7"; "Matlab 7.11" programs were used.

*Results. Discussion.* In the result of the statistical analysis of the data, obtained in research, we found decreasing sensitivity of *P. aeruginosa* to norfloxacin, ofloxacinum, levofloxacin, gatifloxacin. The analysis of smoothed data series (2011-2015 years) of *P. aeruginosa* sensitivity have shown decreasing exponential tendency of the effectiveness of gatifloxacin against opportunistic pathogens of *P. aeruginosa* in patients with burns lower than 30%. The sensitivity to ofloxacinum in *P. aeruginosa* strains was found to be reduced the 36 % after last five years. As for norfloxacin and levofloxacin – they had similar tendency but their effectiveness became 17 % lower than five years ago. Mathematical extrapolation of previous normality testified decreasing sensitivity of *P. aeruginosa* in future even to ofloxacinum lower than 10 % and gatifloxacin lower than 30%.

*Conclusion.* Obtained formulas of analytical prognosis of sensitivity of *P. aeruginosa*, colonizing burn surfaces in patients, proved the decreasing effectiveness of fluoroquinolones in prophylaxis and treatment of infectious complications, caused by this opportunistic pathogen. That is why microbiological research at the beginning of management administration of antimicrobials in these patients is of great importance.

**Keywords:** sensitivity, antimicrobials, fluoroquinolones, *Pseudomonas aeruginosa*, infectious complications.

Рецензент – проф. Лобань Г. А.  
Стаття надійшла 25.02.2016 року