

ПАРУС — ПЕРВОЕ В УКРАИНЕ МНОГОЦЕНТРОВОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СОСТОЯНИЯ РЕЗИСТЕНТНОСТИ РЕСПИРАТОРНЫХ ПАТОГЕНОВ

В связи с появлением и распространением в ряде стран пенициллинорезистентных пневмококков, а также штаммов, устойчивых к другим антибиотикам, в Украине было инициировано мультицентровое исследование резистентности респираторных патогенов. На базе Национального института фтизиатрии и пульмонологии им. Ф. Г. Яновского АМН Украины, Смоленской государственной медицинской академии и при поддержке компании Сандоз д.д. во втором полугодии 2008 года стартовал проект "ПАРУС".

Мы нашли врага, и враг — это мы
Poge

(из декларации по борьбе с антимикробной резистентностью)

11 сентября 2001 г. Всемирная Организация Здравоохранения опубликовала Глобальную стратегию по сдерживанию резистентности к противомикробным препаратам. Эта программа направлена на обеспечение гарантий эффективности таких жизненно важных препаратов как антибиотики не только для нынешнего поколения людей, но и в будущем. Без согласованных действий всех стран многие великие открытия, сделанные учеными-медиками за последние 50 лет, могут утратить свое значение из-за распространения антибиотикорезистентности.

Принятая на Всемирном Дне Резистентности 16 сентября 2000 года (Торонто, Онтарио, Канада) декларация по борьбе с антимикробной резистентностью гласит: антимикробные препараты (АП) — это невозстановимые ресурсы; резистентность коррелирует с клинической неэффективностью; резистентность создается человеком, и только человек может решить эту проблему; антибиотики — это социальные препараты; избыточное применение АП населением, неправильные представления и недооценка проблемы резистентности врачами и фармацевтами, назначающими АП, ведёт к распространению резистентности; применение АП в сельском хозяйстве и ветеринарии способствует накоплению резистентности в окружающей среде.

Первым рекомендованным действием было то, что мониторинг резистентности и эпидемиологический надзор должны стать рутинными как в поликлинике, так и в стационаре.

ПАРУС — первое в Украине многоцентровое исследование резистентности респираторных патогенов: пневмококков (*S. pneumoniae*), гемофил (*H. influenzae*). Исследование было начато в июле 2008 г. В проекте участвуют 4 микробиологические лаборатории в различных регионах Украины.

В референтной микробиологической лаборатории (микробиологическая лаборатория кафедры клинической фармакологии и антимикробной химиотерапии СГМА, г. Смоленск) проводится реидентификация собранных клинических штаммов и определение их чувствительности к антимикробным препаратам в соответствии с международными стандартами.

Цель исследования: создание карты резистентности Украины в отношении респираторных патогенов и мо-

ниторинг ситуации, с целью сдерживания резистентности к антибиотикам.

Пневмококк (*S. pneumoniae*), гемофильная палочка (*H. influenzae*) являются одними из ведущих бактериальных возбудителей внебольничных инфекций. В последние годы особую тревогу вызывает рост их устойчивости — частоты пенициллин-резистентных пневмококков, ампициллин-резистентных гемофил.

Определение чувствительности этих "привередливых" микроорганизмов представляет значительные трудности, так как международные рекомендации требуют использования специальных питательных сред, приобретение которых недоступно для большинства лабораторий.

Схема исследования



Участники исследования:

Руководитель: проф. Фещенко Ю.И.

Участники проекта:

НИФП, ГВКГ, проф. Дзюблик А. Я. (Киев);
ДГМА, чл-корр. Перцева Т. А. (Днепропетровск);
ВГМУ, проф. Мостовой Ю. М. (Винница);
ЛГМУ, проф. Ильницкий И. Г. (Львов);
НИИ АХ, проф. Козлов Р. С. (Смоленск, Россия).

Поддержка:

компания Сандоз д.д. (Киев)



Рис. 1. Визначення чутливості мікроорганізмів диско-дифузійним методом

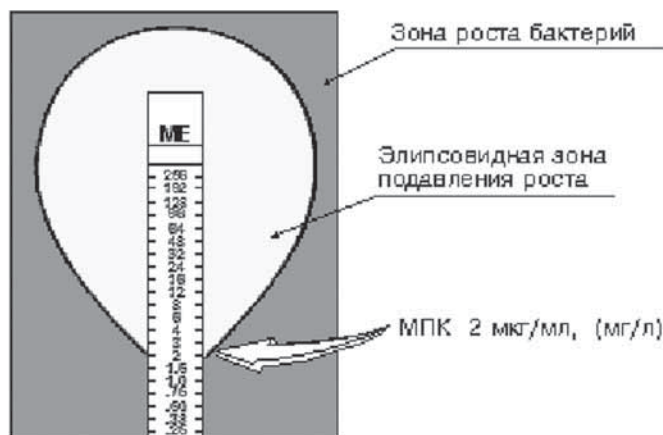


Рис. 2. Визначення чутливості мікроорганізмів за допомогою Е-тестів

Проект на першому етапі (Пневмококк) передбачає проведення наступної роботи:

1. Вибір клінічних штамів *S. pneumoniae* по регіонах України (кількість — всього 200).
2. Заповнення індивідуальної реєстраційної карти з клінічними даними про пацієнта для кожного виділеного штаму.
3. Надіслати штамми на базу Національного інституту фтизіатрії та пульмонології, м. Київ.
4. Далішній відправка в лабораторію НІІ антимікробної хіміотерапії (см. схему).

(Мікробіологічна лабораторія (центральна лабораторія) НІІ антимікробної хіміотерапії: забезпечує транспортними середовищами для пересилки культур).

5. Лабораторія НІІ проводить визначення чутливості *S. pneumoniae* до антибіотиків.

6. Предоставляет результаты определения чувствительности *S. pneumoniae* в Киев после получения основных результатов исследования.

Методи визначення чутливості до антибіотиків.

Методи визначення чутливості бактерій до антибіотиків діляться на 2 групи: дифузійні та методи розведення.

дифузійні методи:

- з використанням дисків з антибіотиками;
- з допомогою Е-тестів.

методи розведення:

- розведення в рідкій поживній середі (бульоні);
- розведення в агарі.

Дифузія антибіотика в агар призводить до формування зони подавлення росту мікроорганізмів навколо дисків. Після інкубації чашек в термостаті при температурі 35–37 °С в течение ночі учитывают результат путем измерения диаметра зони навколо диска в міліметрах (рис. 1).

Визначення чутливості мікроорганізму за допомогою Е-тесту проводиться аналогічно тестуванню диско-дифузійним методом. Відмінність полягає в тому, що замість диска з антибіотиком використовують стрічку Е-тесту, що містить градієнт концентрацій антибіотика від максимальної до мінімальної (рис. 2).

Методи розведення базуються на використанні подвійних послідовних розведень концентрацій антибіотика від максимальної до мінімальної (наприклад від 128 мкг/мл, 64 мкг/мл, і т.д. до 0,5 мкг/мл, 0,25 мкг/мл і 0,125 мкг/мл). При цьому антибіотик в різних концентраціях вносять в рідину поживного середовища (бульон) або в агар. Після інкубації в течение ночі при температурі 35–37 °С проводять учет отриманих результатів. Наявність росту мікроорганізму в бульоні (помутніння бульону) або на поверхні агару свідчить про те, що дана концентрація антибіотика недостатня, щоб придушити його життєздатність. По мірі збільшення концентрації антибіотика ріст мікроорганізму погіршується. Першу найменшу концентрацію антибіотика (з серії послідовних розведень), де візуально не визначається бактеріальний ріст, прийнято вважати мінімальною подавляючою концентрацією (МПК). Вимірюється МПК в мг/л або мкг/мл (рис. 3).

Мінімальна подавляюча концентрація (МПК) — найменша концентрація антибіотика (мг/л або мкг/мл), яка *in vitro* повністю придушує видимий ріст бактерій.

Інтерпретація результатів визначення чутливості

На основі отриманих кількісних даних (діаметра зони подавлення росту антибіотика або значення МПК) мікроорганізми поділяють на чутливі, помірно резистентні та резистентні. Для розмежування цих трьох категорій чутливості (або резистентності) між собою використовують так звані **пограничні концентрації (breakpoint)** антибіотика (або пограничні значення діаметра зони подавлення росту мікроорганізму).

Пограничні концентрації не є незмінними величинами. Вони можуть переглядатися, в залежності від змін чутливості популяції мікроорганізмів. Розробкою та переглядом критеріїв інтерпрета-



Рис. 3. Определение значения МПК методом разведения в жидкой питательной среде

ции занимаются ведущие специалисты (химиотерапевты и микробиологи), входящие в специальные комитеты. Одним из них является Национальный комитет по клиническим лабораторным стандартам США (National Committee for Clinical Laboratory Standards — NCCLS). В настоящее время стандарты NCCLS признаны в мире и используются как международные для оценки результатов определения чувствительности бактерий при многоцентровых микробиологических и клинических исследованиях.

Существуют два подхода к интерпретации результатов определения чувствительности: микробиологический и клинический. Микробиологическая интерпретация основана на анализе распределения значений концентраций антибиотика, подавляющих жизнеспособность бактерий. Клиническая интерпретация основана на оценке эффективности антибактериальной терапии.

Чувствительные микроорганизмы (susceptible).

Клинически к чувствительным относят бактерии (с учетом параметров, полученных *in vitro*), если при лечении стандартными дозами антибиотика инфекций, вызываемых этими микроорганизмами, наблюдают хороший терапевтический эффект. При отсутствии достоверной клинической информации подразделение на категории чувствительности базируется на совместном учете данных, полученных *in vitro*, и фармакокинетики, т.е. на концентрациях антибиотика, достижимых в месте инфекции (или в сыворотке крови).

Резистентные микроорганизмы (resistant). К резистентным (устойчивым) относят бактерии, когда при лечении инфекции, вызванной этими микроорганизмами, нет эффекта от терапии даже при использовании максимальных доз антибиотика. Такие микроорганизмы имеют механизмы резистентности.

Микроорганизмы с промежуточной резистентностью (intermediate). Клинически промежуточную резистентность у бактерий подразумевают в случае, если инфекция, вызванная такими штаммами, может иметь различный терапевтический исход. Однако лечение может быть успешным, если антибиотик используется в дозировке, превышающей стандартную, или инфекция локализуется в месте, где антибактериальный препарат накапливается в высоких концентрациях.

С микробиологической точки зрения, к бактериям с промежуточной резистентностью относят субпопуляцию, находящуюся в соответствии со значениями МПК или диаметра зон, между чувствительными и резистентными микроорганизмами. Иногда штаммы с промежуточной ре-

зистентностью и резистентные бактерии объединяют в одну категорию резистентных микроорганизмов.

Необходимо отметить, что клиническая интерпретация чувствительности бактерий к антибиотикам является условной, поскольку исход терапии не всегда зависит только от активности антибактериального препарата против возбудителя. Клиницистам известны случаи, когда при резистентности микроорганизмов, по данным исследования *in vitro*, получали хороший клинический эффект. И наоборот, при чувствительности возбудителя может наблюдаться неэффективность терапии.

В определенных клинических ситуациях, когда недостаточно результатов исследования чувствительности обычными методами, определяют минимальную бактерицидную концентрацию.

Минимальная бактерицидная концентрация (МБК) — наименьшая концентрация антибиотика (мг/л или мкг/мл), которая при исследовании *in vitro* вызывает гибель 99,9% микроорганизмов от исходного уровня в течение определенного периода времени.

В заключение необходимо отметить, что на сегодняшний день не существует методов, которые позволили бы с абсолютной достоверностью прогнозировать клинический эффект антибиотиков при лечении инфекционных болезней. Однако данные результатов определения чувствительности могут служить хорошим ориентиром клиницистам для выбора и коррекции антибактериальной терапии.

Антибиотикорезистентность — естественный биологический процесс. Сейчас мы живём в мире, где антибиотикорезистентность быстро распространяется, и растет число жизненно необходимых препаратов, которые становятся неэффективными.

Это проблема в одинаковой степени касается как высокоразвитых и индустриальных, так и развивающихся стран. Избыточное применение антибиотиков во многих развитых странах, недостаточная продолжительность курса лечения у бедных — в конечном итоге создается одинаковая угроза для человечества в целом.

Антибиотикорезистентность — глобальная проблема. Нет страны, которая могла бы позволить себе игнорировать её, и нет страны, которая могла бы не отвечать на неё.

Только одновременно проводимые действия по сдерживанию роста антибиотикорезистентности в каждой отдельной стране смогут дать положительные результаты во всем мире.

Материалы предоставлены компанией Сандоз д.д.
(список литературы находится в
Представительстве компании)