

Азитроміцин як антибіотик деескалації і відновлення чутливості до деяких антибіотиків у грамнегативних збудників антибіотикорезистентних інфекцій



О.В. Мошинець

Україна стає антілідером із розповсюдження грамнегативних мультирезистентних мікроорганізмів в умовах стаціонару, що становить серйозну загрозу здоров'ю людини. Інфікування мультирезистентними штамами значно ускладнює лікування пацієнтів стаціонарів, особливо реанімаційних і травматологічних відділень. На жаль, усе частіше такі інфекції мають профіль повної антибіотикорезистентності, що унеможлиблює використання навіть антибіотиків резерву. У таких випадках ефективним рішенням може бути комбінована антибіотикотерапія.

У листопаді відбувся VI міжнародний конгрес «Antibiotic resistance STOP!», присвячений питанням подолання антибіотикорезистентності. Старший науковий співробітник Інституту молекулярної біології і генетики НАН України (м. Київ), керівник групи з дослідження біоплівки, кандидат біологічних наук Олена Володимирівна Мошинець розповіла про роль біоплівки у перебігу інфекційного процесу і можливості комбінованої терапії мультирезистентних грамнегативних інфекцій азитроміцином і меропенемом.

Невід'ємними компонентами інфекційного процесу є біоплівка (може бути як монокультурною, так і мультикультурною) (рис. 1), бактеріальні клітини (які відокремлюються від біоплівки та рухаються в напрямку інших (ще неколонізованих) ніш із метою формування нових вогнищ інфекційного процесу, тобто ще вільні від біоплівки

еконіші, а також реакції імунної системи пацієнта на інфекцію (участь лейкоцитів) (рис. 2). Клінічна практика показує, що різні біоплівки проявляють різну чутливість до антибіотикотерапії. Це пов'язано зі структурою самої біоплівки, яка навіть у межах одного виду мікроорганізму може бути дуже різноманітною залежно від штаму.

Практичний досвід використання антибіотиків і лабораторні дослідження, зокрема дослідження 2017 року, продемонструвало, що на додаток до загального профілю нечутливості бактерій до антибіотиків, тобто до класичної генетичної антибіотикорезистентності, бактерії здатні до розвитку так званої фенотипової резистентності за рахунок розвитку біоплівки. Цей опосередкований утворенням біоплівки профіль стійкості є дуже специфічним для кожного ізоляту. Такий індивідуальний

профіль резистентності залежить від структурних властивостей біоплівки. Більш того, антибактеріальна стійкість біоплівки не пов'язана із профілем стійкості культури в умовах планктонного росту, мукоїдною морфологією або морфологією невеликих колоній ізолятів. Натомість окремі структури біоплівки розвиваються під час розвитку інфекційного процесу, формуються під впливом специфічних сигналів навколишнього середовища. Профіль стійкості біоплівки є специфічним для ізолятів і не може бути передбачений із загальнодосліджених фенотипів. Отже, біоплівка є джерелом фенотипової резистентності. Індивідуалізована діагностика резистентності біоплівки може покращити дотримання раціональніших рекомендацій щодо антимікробної терапії та підвищення ефективності лікування хронічно інфікованих пацієнтів (Müsken M., Klimmek K., Sauer-Heilborn A. et al., 2017).

В іншому дослідженні було проаналізовано велику та різноманітну колекцію із 352 клінічних ізолятів *Pseudomonas aeruginosa* щодо їхньої антимікробної чутливості в умовах росту біоплівки до ципрофлоксацину, тобраміцину та колістину. Було виявлено, що різні клінічні ізоляти демонструють дуже широкий розподіл чутливості до трьох антибіотиків при вирощуванні в умовах біоплівки, навіть якщо вони демонструють

однаково високу чутливість до протимікробних препаратів у планктонних умовах. Деякі клінічні ізоляти *P. aeruginosa* виявилися надзвичайно чутливими до антибіотиків; низькі концентрації антибіотиків зумовили значне зменшення кількості клітин, вирощених у біоплівці. Однак інші ізоляти значною мірою не реагували, а кількість клітин, вирощених у біоплівках, що вижили, знижувалася тільки за дуже високих концентрацій антибіотиків. Наприклад, дослідники порівняли біоплівкову чутливість до тобраміцину двох штамів *P. aeruginosa*, які мали однаковий МІК до тобраміцину, який дорівнював 1 мг/л. З'ясувалося, що два штами мали принципово різну біоплівкову чутливість до тобраміцину.

Таким чином, обидва клінічні ізоляти були чутливими до тобраміцину за результатами класичного мікробіологічного тесту, вони демонстрували однакове значення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК) (МІК = 1 мкг/мл). Біоплівка штаму М70563004 реагувала на тобраміцин, утім, у більш високій концентрації (А), тоді як біоплівка штаму МНН0426 виявилася взагалі нечутливою до тобраміцину (Б) (Thöming J.G., Häussler S., 2022).

На відміну від біоплівки, яка є природним бактерійним агрегатом, агаризована колонія бактерій – це штучний тип агрегації мікробних клітин.

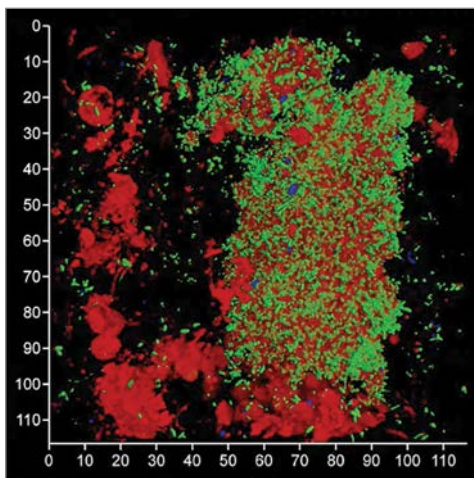


Рис. 1. Біоплівка як форма інфекційного процесу

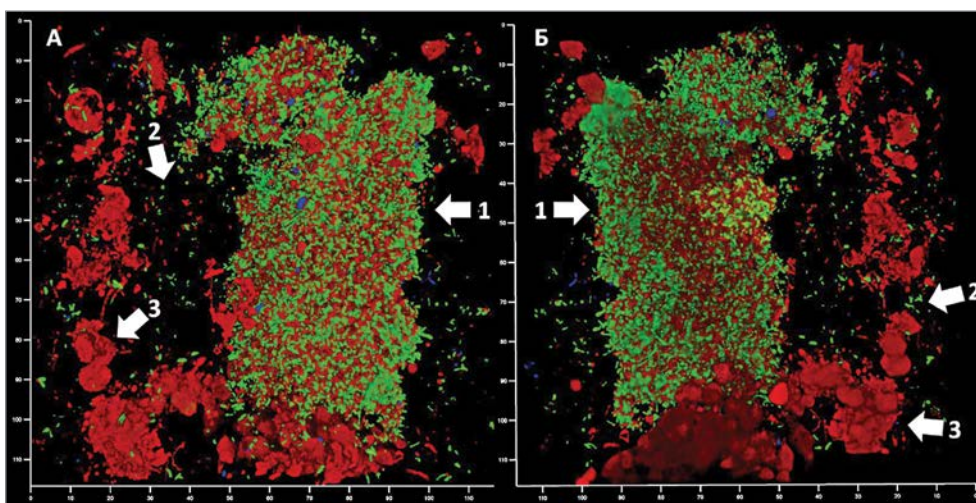


Рис. 2. Цитологічний ландшафт інфекційного осередку на прикладі підгострого пародонтиту, конфокальна лазерна скануюча мікроскопія, вітальний зразок, забарвлення позаклітинної ДНК і метаболічно неактивних клітин пропідієм бромідом (червоний сигнал) і метаболічно активних клітин SYBR green (зелений сигнал)

Примітки: А і Б – ландшафт препарату з двох боків. Стрілками відмічені складові компоненти інфекційного процесу, зокрема 1 – біоплівка, 2 – окремі планктонні бактеріальні клітини, 3 – лейкоцити.

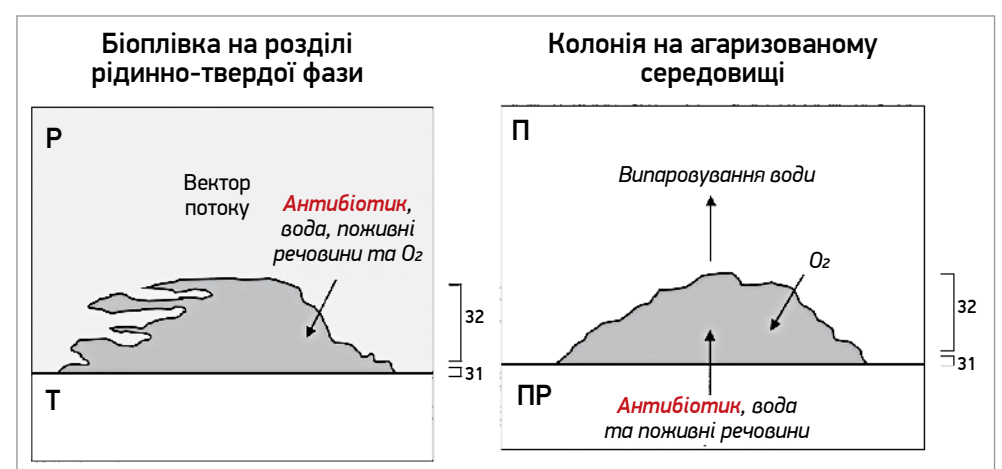


Рис. 3. Різниця векторів дифузії в біоплівці та колонії (адаптовано з Moshynets & Spiers, 2016)
Примітки: П – повітря; Р – рідина; ПР – пористе середовище; Т – тверде середовище.

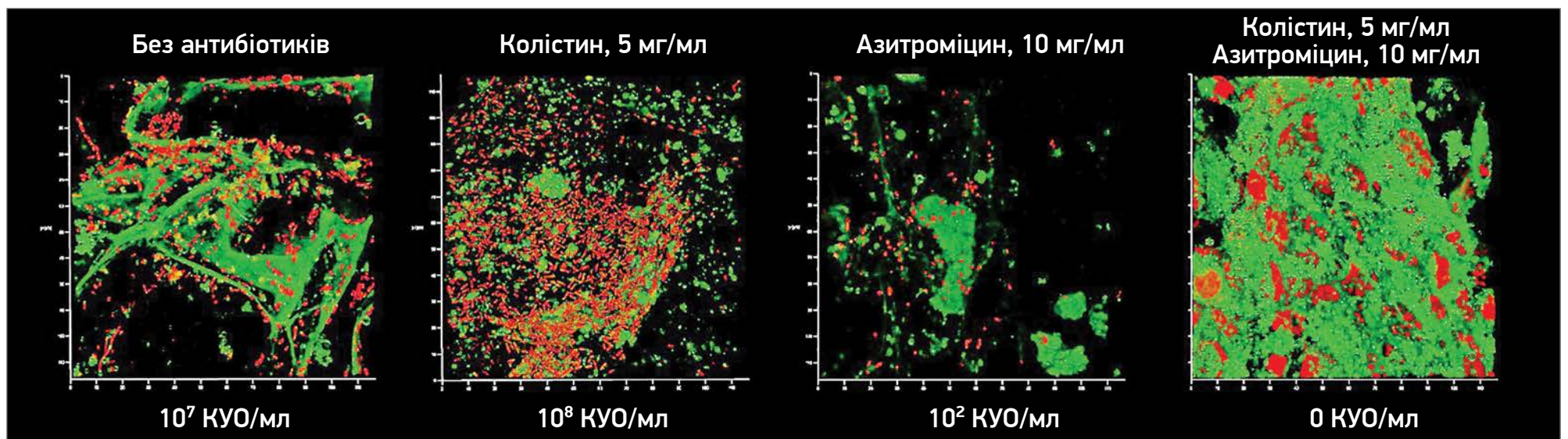


Рис. 4. Модель ранової поверхні, клітинна лінія HEK923 була використана як епітелізовані клітини, забарвлення етидієм бромідом (червоні ядра), колагеновий 3D матриковий носій відтворював матрикс шкіри, забарвлення Аму Греен (зелене забарвлення), багате поживне середовище відтворювало рановий екссудат. Полірезистентний штам КР УНІ 1090 (бактеріальні клітини забарвлено червоним) вносився до моделі як інфекція за різних антибіотиків, інкубація відбувалася протягом 2 діб (адаптовано з Moshynets et al., 2023)

Те, як біоплівка функціонує в організмі пацієнта (вектори проникнення кисню, поживних речовин і метаболітів), значно відрізняється від того, як це відбувається в агаризованих колоніях. У кожному типі агрегації шар клітин прикріплюється до твердої поверхні, а дистальні ділянки утримуються на місці взаємодією клітини та компонентів матриксу. В біоплівках з інтерфейсом «повітря – рідина» клітини та компоненти матриці також можуть прориватися через інтерфейс. Однак поживні речовини постачаються капілярним потоком (масовий транспорт) знизу колоній, тоді як у біоплівках розділу «повітря – рідина» і «рідина – тверда поверхня» вони транспортуються чи дифундують з навколишньої рідини (рис. 3). Саме тому дослідження антибіотикочутливості з використанням агаризованих колоній не дозволяє спрогнозувати чутливість біоплівок відповідних штамів (Moshynets O.V., Spiers A.J., 2016).

В іншому дослідженні порівнювали дані метатранскриптомів (скупну транскрипційну активність геному, тобто які гени «працювали») бактерій, які спричиняли різні інфекції людини, що культивувались *in vitro*. Зокрема, для аналізу використовувалися результати секвенування РНК *P. aeruginosa* із трьох типів зразків: інфекції людини (включали зразки мокротиння пацієнта з муковісцидозом із Данії, інфекції м'яких тканин із Данії та США), інфекції мишей, культури *in vitro*. В результаті виявлено важливі відмінності в експресії генів, що беруть участь у стійкості до антибіотиків, міжклітинної комунікації та метаболізму. Виявилось, що *P. aeruginosa* в зразках людини та зразках *in vitro* має різні транскриптоми. Аналіз показав, що транскриптом *P. aeruginosa* під час зараження людини кластеризується окремо від транскриптомів *in vitro*, незважаючи на відмінності в місці зараження, терапевтичному режимі, географічних регіонах. Отже,

фізіологічний стан бактерій в інфекційному середовищі та агаризованих колоніях різний. Розуміння закономірностей експресії бактерій у пацієнтів – необхідний крок на шляху поліпшення терапії та розробки точніших лабораторних моделей (Cornforth D.M., Dees J.L. et al., 2018).

Співробітниками інституту молекулярної біології і генетики НАН України в рамках виконання науково-технічної роботи за проектом 2020.02/0246 «Розробка комбінованої терапії важких *Klebsiella pneumoniae*-асоційованих нозокоміальних інфекцій для подолання їхньої антибіотикорезистентності» за підтримки НФДУ за програмою «Підтримка досліджень провідних та молодих учених» (0120U104850) проводилася робота щодо дослідження можливої синергічної дії антибактеріальних препаратів метансульфонату колістину й азитроміцину. Використовуючи модельний штам *Klebsiella pneumoniae* ATCC10031, було встановлено, що серед восьми макролідних антибіотиків найбільший антибіоплівковий ефект щодо клебсіели мав азитроміцин. Також досліджувався синергізм азитроміцину і колістину в класичній моделі – на колоніях на агарі та в біоплівках. Зокрема, досліджувалося те, як змінюються зони затримки росту до дисків із поліміксином на агарі з азитроміцином і без нього для 11 штамів *K. pneumoniae* (5 мультирезистентні, 6 немультirezистентні) та як комбінація азитроміцину і колістину впливає на біоплівки цих самих штамів. Дослідження продемонструвало, що, по-перше, азитроміцин підвищував ефективність колістину для багатьох штамів, а по-друге, немає кореляції між ефектами обох антибіотиків у колоніях на агарі та в біоплівках. Тобто дослідження синергії антибіотиків, що зроблені в класичному мікробіологічному посіві, не відображають реальні фізіологічні процеси, що відбуваються в біоплівках і в осередку запалення.

Отже, існує необхідність тестування антибіотиків на моделях біоплівок, де потенційний синергізм може відкрити нові терапевтичні можливості, що не спостерігаються в рідинних культурах, або в дослідженнях на колоніях бактерії (Moshynets O.V. et al., 2022).

Азитроміцин (на прикладі препарату Азимед®, таблетки, вкриті плівковою оболонкою, по 500 мг, виробництва АТ «Київмедпрепарат» (фармацевтична корпорація «Артеріум», лідер* роздрібного ринку антибактеріальних препаратів)** – це напівсинтетичний антибіотик широкого

спектра дії, азалід, ефективний при лікуванні грампозитивних інфекцій, анаеробів, деяких грамнегативних збудників. Він посилює фагоцитоз, тропний до макрофагів, знижує експресію цитокінів, блокує експресію QS-залежних метаболітів (розвиток біоплівки, синтез токсинів, рамноліпідів, сидерофорів, факторів вірулентності) (Pollock J., 2021). Азитроміцин застосовується для лікування інфекційних респіраторних захворювань, урогенітальних інфекцій, інфекцій шкіри та м'яких

Продовження на стор. 30.

3 дні – 3 таблетки¹

Просто та дієво¹

АЗИМЕД® (азитроміцин) – сучасний макролідний антибіотик широкого спектру дії

Доведена біоеквівалентність препарату щодо оригінального засобу²

Простий і ефективний курс лікування, прийом лише 1 раз на день¹

Азимед®, таблетки¹
Діюча речовина: азитроміцин (азитроміцин); 1 таблетка містить азитроміцину дигідрату у перерахуванні на азитроміцин, 500 мг. Лікарська форма: Таблетки, вкриті плівковою оболонкою, фармакологічна група: Антибактеріальні засоби для системного застосування. Макроліди, лікозаміди та стрептограміни. Азитроміцин. Код АТХ: J01F A10. Показання: Інфекції, спричинені мікроорганізмами, чутливими до азитроміцину: інфекції ЛОР-органів (бактеріальний фарингіт/тонзиліт, синусит, середній отит); інфекції дихальних шляхів (бактеріальний бронхіт, неоспітальний пневмонія); інфекції шкіри та м'яких тканин: мігруюча еритема (початкова стадія хвороби Лайма), безцельна, висипяча, вторинна подерматити.

¹ Інструкція для медичного застосування АЗИМЕД® 500 мг № 3.
² Фізічна еквівалентність Азимеда – біоеквівалентність доведеної І. А. Зупанець, д. мед. н., професор; Н. П. Бузулук, к. мед. н., доцент; В. В. Либина, к. біол. н.; Н. Н. Орлова, І. В. Кудрик, Ю. Г. Кувайсков. Національний фармацевтичний університет, Харків; ПП «Державний експертний центр Міністерства охорони здоров'я України»; Корпорація «Артеріум», Київ. № 1 (167) / 2013, «Ліка Україна».

Міжнародне непатентоване найменування: Азітіоміцин. Виробник: АТ «Київмедпрепарат» (01032, Україна, м. Київ, вул. Сагайдачного, 139).

ВІДПУСКАЄТЬСЯ ЗА РЕЦЕПТОМ ЛІКАРЯ. Інформація наведена в скороченому вигляді. Повна інформація викладена в інструкції для медичного застосування АЗИМЕД, таблетки. Інформація виключно для медичних, фармацевтичних працівників. Для використання у професійній діяльності. Розповсюджується на спеціальних конференціях, семінарах, симпозиумах з медичної тематики. Дата останнього перегляду інформаційного матеріалу: 27.12.2023 р.

Ближче до людей

«Артеріум» Фармацевтична Корпорація
www.arterium.ua

* Роздрібний аудит Sale out Системи дослідження фармацевтичного ринку Pharmxplore, «Проксіма Рісч Інтернешл», березень 2023 р.
** Примітка редакції.

Азитроміцин як антибіотик деескалації і відновлення чутливості до деяких антибіотиків у грамнегативних збудників антибіотикорезистентних інфекцій

Продовження. Початок на стор. 28.

тканин, кишкових інфекцій тощо. Азитроміцин належить до найменш токсичних антибіотиків (макроліди менш токсичні, ніж інші антибіотики, а азитроміцин – за інші макроліди), однаково безпечний і для дорослих, і для дітей (Jelić D., 2016). Крім того, серед макролідів азитроміцин має найкращий комплаєнс. Останніми роками в літературі все частіше наголошується на тому, що азитроміцин недооцінений для лікування грамнегативної флори (Powers J., 1996).

Деякі дані *in vitro* та обмежені дані, отримані на моделях тварин, підтверджують активність макролідів проти *P. aeruginosa* та інших резистентних грамнегативних патогенів. Переваги макролідів також були продемонстровані при муковіцидозі, бронхоектазі, не пов'язаних із муковіцидозом, а також у пацієнтів із хронічною обструктивною хворобою легень та хронічною інфекцією *P. aeruginosa*. Однак для

оцінки макролідів як антибіотиків для лікування інфекцій, спричинених *P. aeruginosa* та широко стійкими грамнегативними мікроорганізмами, необхідні додаткові клінічні дані (наразі обмежені незначною серією випадків). Якщо буде доведено їхню активність, макроліди (потенційно в поєднанні з іншими антибіотиками) можуть виявитися корисним варіантом лікування інфекцій, спричинених патогенами, з обмеженими або відсутніми іншими можливостями лікування (Karakonstantis S., 2022).

Наші власні дослідження підтвердили, що за умов, наближених до умов *in vivo*, азитроміцин сам по собі стає високоєфективним антибіотиком для пригнічення утворення біоплівки в моделі тканини людини. Додавання колістину повністю пригнічувало інфекційний процес у таких умовах (рис. 4).

Подальші дослідження впливу азитроміцину на загальний профіль

стійкості до антибіотиків на прикладі 4 мультирезистентних штамів *K. pneumoniae* (KP UHI 329, KP UHI 1633, KP UHI 1090, KP UHI 1667) показали, що азитроміцин здатен відновити чутливість до деяких бета-лактамних антибіотиків, зокрема до меропенему (на прикладі препарату Мепенам, порошок для розчину для ін'єкцій, виробництва АТ «Київмедпрепарат» (фармацевтична корпорація «Артеріум», лідер* роздрібного ринку антибактеріальних препаратів)**).

Базуючись на цих дослідженнях, азитроміцин було запропоновано включити у схему лікування пацієнтів із тяжкими панстійкими грамнегативними інфекціями. Один із таких випадків було описано у Kryzhevsky та співавт. (2023). У цьому клінічному випадку, зокрема, продемонстровано ефективність включення до схеми лікування комбінованої терапії азитроміцином і меропенемом, що зумовила покращення стану пацієнта й ерадикацію резистентних штамів. У хворого (травми, пов'язані з бойовими діями) діагностовано сепсис, спричинений панрезистентною мультиінфекцією. Протягом перших 8 днів виявлялися лише грамнегативні ізоляти, чутливі

до тайгецикліну. Незважаючи на рекомендовану комбіновану антимікробну терапію колістином і тайгецикліном, стан хворого погіршився, а це свідчило про те, що фенотипова стійкість як до колістину, так і до тайгецикліну розвивалася після утворення біоплівки під час інфекційного процесу. Альтернативна комбінована терапія азитроміцином (500 мг кожні 8 год з 10-го по 37-й день лікування) і меропенемом (2 г кожні 8 год внутрішньовенно з 17-го до 37-го дня лікування) продемонструвала сильний синергічний ефект *in vivo*. Це спричинило швидку нормалізацію прокальцитоніну (від 0,8 до <0,25 нг/мл), лейкоцитів, паличкоядерних гранулоцитів, стабілізацію співвідношення нейтрофілів і лімфоцитів. Автори наголошують, що цей синергізм не може спостерігатися для окремих ізолятів у стандартних мікробіологічних тестах *in vitro*, оскільки залежить від біоплівки та є специфічним *in vivo* через підвищену бактерицидну ефективність азитроміцину у фізіологічному середовищі. Інакше кажучи, коли інфекція спричинена грамнегативними бактеріями із фенотипом XDR/PDR, азитроміцин/меропенем можна застосовувати без додаткового тестування синергізму.



ДІЄ, КОЛИ ІНШІ ЗДАЮТЬСЯ!

МЕПЕНАМ
MEPENAM

Діюча речовина: меропенем; 1 флакон містить меропенему тригідрату, у перерахуванні на меропенем, 0,5 г або 1,0 г.

Лікарська форма. Порошок для розчину для ін'єкцій.

ПОКАЗАННЯ.

Мепенам показаний для лікування таких інфекцій у дорослих і дітей віком від 3 місяців:

- пневмоній, у тому числі госпітальних та комунітальних;
- бронхолегеневих інфекцій при муковіцидозі;
- ускладнених інфекцій сечовивідних шляхів;
- ускладнених інтраабдомінальних інфекцій;
- інфекцій під час пологів і післяпологових інфекцій;
- ускладнених інфекцій шкіри і м'яких тканин;
- гострої бактеріальної менінгіту.

Мепенам можна застосовувати для лікування пацієнтів з нейтропенією і гарячкою при підозрі на бактеріальну інфекцію.

ПРОТИПОКАЗАННЯ.

Підвищена чутливість до діючої речовини та/або до будь-якої з допоміжних речовин препарату, та/або до будь-якого іншого антибактеріального засобу групи карбапенемів. Також підвищена чутливість (наприклад, анафілактичні реакції, тяжкі реакції з боку шкіри) до будь-якого іншого типу бета-лактамного антибактеріального засобу (наприклад, пеніцилінів або цефалоспоринів).

ПОБІЧНІ РЕАКЦІЇ.

Ординний та винятковий кандидоз; ангіоневротичний набряк; анафілактична реакція; діарея; блювання; нудота; біль у животі; висип, свербіж, кропив'янка; запалення, біль, тромбоцитопенія; біль у місці ін'єкції та ін.

*Доза і тривалість лікування залежить від виду збудника хвороби, тяжкості захворювання та індивідуальної чутливості пацієнта.

Мікроорганізм непатентований найменуванням: Меропенем.

ВІДПУСКАЄТЬСЯ ЗА РЕЦЕПТОМ ЛІКАРЯ.

Інформація наведено в скороченому вигляді, повна інформація викладена в інструкції для медичного застосування лікарського засобу Мепенам, порошок для розчину для ін'єкцій. Інформація викладено для медичних та фармацевтичних працівників. Для використання у професійній діяльності. Виробник: АТ «Київмедпрепарат» (01032, Україна, м. Київ, вул. Санкзаванського, 139). Дата останнього перегляду інформаційного матеріалу: 30.11.2023 р.

МЕПЕНАМ (меропенем) — антибіотик класу карбапенемів, призначений для лікування полімікробних інфекцій, в тому числі нозокоміальних, викликаних резистентними бактеріями.

Увага! Нова форма та нові можливості застосування!

Препарат Мепенам у дозуванні 0,5 г доцільно використовувати:

- **Одноразова доза для дорослих та дітей з масою тіла більше 50 кг*** для введення кожні 8 годин

Інфекція	0,5–1 г
Пневмонія негоспітальна та госпітальна	0,5–1 г
Ускладнені інфекції сечовивідних шляхів	0,5–1 г
Ускладнені інтраабдомінальні інфекції	0,5–1 г
Інфекції під час пологів та післяпологові інфекції	0,5–1 г
Ускладнені інфекції шкіри та м'яких тканин	0,5–1 г

«Артеріум» Фармацевтична Корпорація
www.arterium.ua

Ближче до людей
ARTERIUM

Висновки

- 1 Інфекційний процес розвивається через утворення локальних біоплівок інфекційними штамми.
- 2 Біоплівка – джерело спонтанної фенотипової резистентності *in vivo*, що завжди має бути враховано під час призначення терапії та впродовж лікування, для чого обов'язковою є оцінка ефективності терапії на 3-й день лікування.
- 3 Біоплівка може бути новою терапевтичною мішенню.
- 4 Нові комбінації антибіотиків можуть діяти синергічно, щоб пригнічувати ріст бактеріальних патогенів, стійких до лікарських засобів, але передбачити, яка комбінація буде успішною, складно; стандартне тестування чутливості до антибіотиків може не виявити важливих фізіологічних відмінностей між планктонними бактеріальними клітинами, що вільно існують, та прикріпленими бактеріальними клітинами, що захищені біоплівками.
- 5 Азитроміцин може бути використаний як антивірулентна терапія при сепсисі.
- 6 Комбінована терапія азитроміцином та меропенемом може бути терапевтичним рішенням для лікування грамнегативних інфекцій із високою резистентністю.

Підготував Олександр Соловійов

* Роздрібний аудит Sale out Системи дослідження фармацевтичного ринку Pharmxplore, «Проксіма Рісч Інтернешнл», березень 2023 р.
** Примітка редакції.