

МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ
НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ ІМЕНІ О.О. БОГОМОЛЬЦЯ

Кваліфікаційна наукова праця
на правах рукопису

РУДНЄВА КАТЕРИНА ЛЕОНІДІВНА

УДК 579.61:615.33.015.8

ДИСЕРТАЦІЯ
АНТИБІОТИКОРЕЗИСТЕНТНІСТЬ ESKAPE ПАТОГЕНІВ ТА
ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ ШЛЯХИ ЇЇ ПОДОЛАННЯ

22 «Охорона здоров'я»

222 «Медицина»

Подається на здобуття наукового ступеня доктора філософії

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

_____ К.Л. Руднєва

Науковий керівник: **Понятовський Вадим Анатолійович**, кандидат медичних
наук, асистент кафедри мікробіології та паразитології з основами імунології НМУ
імені О.О. Богомольця.

Київ - 2025

Анотація

Руднєва К.Л. Антибіотикорезистентність ESKAPE патогенів та експериментальні шляхи її подолання. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття наукового ступеня доктора філософії в галузі знань 22 «Охорона здоров'я» за спеціальністю 222 – Медицина. Національний медичний університет імені О.О. Богомольця, кафедра мікробіології та паразитології з основами імунології, Київ, 2025.

Дисертація присвячена ретроспективному аналізу поширеності основних патогенів серед пацієнтів багатoproфільної лікарні, дослідженню місцевої епідеміології мікробних популяцій, аналізу змін частоти їх ізоляції з часом, оцінці виділення мультирезистентних штамів, визначенню основних фенотипових і генотипових маркерів резистентності, а також вивченню впливу комбінації антибіотиків на планктонну та біоплівкову форми *K. pneumoniae*.

Проблема антимікробної резистентності є однією з найбільш актуальних загроз сучасній медицині, зокрема в умовах стаціонарів. Особливу небезпеку становлять госпітальні штами так званих ESKAPE патогенів (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.), які демонструють здатність ефективно уникати дії більшості антибіотиків, що використовуються в практичній медицині. Вивчення поширеності цих патогенів у конкретних клінічних умовах та динаміки їх ізоляції дозволяє своєчасно реагувати на зміни в епідеміологічній ситуації та коригувати стратегії антибіотикотерапії. Локальний моніторинг поширеності антибіотикорезистентних мікроорганізмів також є фундаментальною складовою для формування достовірної та репрезентативної картини епідеміологічної ситуації не лише в межах окремого закладу, а й на регіональному та національному рівнях.

Метою дисертаційної роботи є проведення оцінки поширеності стійкості до протимікробних препаратів у госпітальних штамів ESKAPE патогенів, ізольованих у багатoproфільному стаціонарі, та експериментальне обґрунтування підходів до її подолання.

Для досягнення мети сформовані такі завдання: провести ретроспективний аналіз поширеності госпітальних штамів ESKAPE патогенів у багатопрофільному стаціонарі та дослідити динаміку змін частоти їх ізоляції; виділити штами ESKAPE патогенів від пацієнтів хірургічних відділень та відділення інтенсивної терапії і реанімації КНП КОР «Київська обласна клінічна лікарня» та охарактеризувати їх біологічні властивості; вивчити чутливість ізольованих штамів до антибактеріальних препаратів і визначити механізми резистентності фенотиповими методами; дослідити молекулярно-генетичні механізми стійкості до протимікробних препаратів у популяції грамнегативних представників ESKAPE-патогенів, визначити спектр і частоту виявлення окремих генів резистентності; оцінити дію різних комбінацій протимікробних препаратів на штами *Klebsiella pneumoniae* в умовах *in vitro*; дослідити синергічну дію антибіотиків на планктонні та біоплівкові форми госпітальних штамів *Klebsiella pneumoniae* як епідеміологічно значущого представника ESKAPE патогенів.

У цьому дослідженні проаналізовано мікробіологічні дані, отримані під час рутинного мікробіологічного дослідження клінічного матеріалу від пацієнтів реанімаційного та хірургічних відділень КНП КОР «Київська обласна клінічна лікарня» за три часові проміжки: період початку впровадження в лабораторії тестування чутливості мікроорганізмів до протимікробних препаратів відповідно до рекомендацій EUCAST (2018–2019 рр.), два роки пандемії COVID-19 (2020–2021 рр.) та два роки після початку повномасштабного вторгнення РФ і розгортання активних бойових дій на території України (2022–2023 рр.).

За вказаний період (2018–2023 рр.) мікробіологічному дослідженню підлягало 9523 біологічні зразки (кров, матеріал із хірургічних ран, спинномозкова рідина, мокрота, промивні води трахеобронхіального дерева, слиз із мигдаликів, сеча, кишковий вміст), з яких було виділено 6643 бактеріальні ізоляти. Основну увагу під час аналізу приділено визначенню змін у структурі мікробіоти в різні часові проміжки та дослідженню динаміки антибіотикорезистентності за різних епідеміологічних умов.

Порівняльний аналіз засвідчив загальне зниження видового різноманіття та поступове домінування грамнегативної флори в період з 2018 по 2024 рік. Ця тенденція розпочалася з початком пандемії та посилилася з початком активних бойових дій, що може свідчити про вплив зазначених факторів на це явище. Найбільш виражене зростання продемонструвала *K. pneumoniae*: якщо у 2018 році її частка серед усіх ізолятів у відділеннях реанімації та хірургії становила 7,1%, то у 2023 році вона досягла 40,4%. В окремі роки (2020, 2022 і 2023) *K. pneumoniae* ставала найпоширенішим збудником у відділенні інтенсивної терапії, витісняючи інші грамнегативні та грампозитивні мікроорганізми. Схожа динаміка спостерігалася і в хірургічних відділеннях, де суттєво зросла кількість інфекцій, пов'язаних із цим збудником.

На основі аналізу частоти ізоляції мікроорганізмів із клінічного матеріалу для відстеження динаміки змін антибіотикорезистентності було обрано шість найбільш поширених видів: *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*. В усіх випадках фіксувалося зростання частоти ізоляції штамів, стійких до основних груп антибіотиків. Найвищий рівень резистентності було виявлено у *A. baumannii*. Наприклад, у 2019 та 2021 роках не було зафіксовано жодного ізоляту, чутливого до фторхінолонів чи триметоприму/сульфаметоксазолу, а рівень стійкості до карбапенемів у 2023 році наблизився до 96%. Порівняно з цим, ізоляти *E. coli* та *S. aureus* демонстрували помірний рівень резистентності: у період 2019–2023 років резистентність *E. coli* до фторхінолонів сягала 62%, тоді як у *S. aureus* рівень стійкості до цих антибіотиків був найнижчим (33% резистентних ізолятів). При цьому спостерігалися коливання у частоті виявлення метицилінрезистентного *S. aureus* (MRSA): різке зниження з 32% (2019) до 6% (2022) змінилося зростанням до 15% у 2023 році. У *S. epidermidis* рівень стійкості до метициліну загалом був вищим, ніж у *S. aureus*, сягавши 60% у 2019–2020 роках і знижуючись до 39% у 2023-му. Водночас *K. pneumoniae*, яка була лідером за частотою виділення, демонструвала суттєве зниження чутливості до більшості антибіотиків. У 2018 році 71% штамів були резистентними до захищених пеніцилінів і 66% – до цефалоспоринів третього покоління, тоді як у 2020-му ці показники становили 97%

та 83% відповідно. Хоча у 2021 році рівень стійкості до захищених пеніцилінів дещо знизився (до 87%), надалі ситуація знову погіршилася: до 2023 року резистентність до цих груп препаратів перевищила 90%. Аналогічну тенденцію спостерігали при аналізі стійкості цього збудника до фторхінолонів: вже у 2020 році рівень резистентності перевищував 80%, а у 2023-му наближався до 92%. Позитивнішою виявилася ситуація з аміноглікозидами, до яких близько 20% штамів *K. pneumoniae* залишалися чутливими, хоча і тут частка резистентних ізолятів зростала.

Фенотипова оцінка 65 клінічних ізолятів *K. pneumoniae* виявила 88,3% ESBL-позитивних штамів, 86,7% KPC-позитивних, а також високу поширеність комбінацій механізмів резистентності, зокрема «ESBL плюс втрата порину» — 69,2%. β -Лактамази OXA-48 виявлено у 30,8% ізолятів, AmpC — у 7,8%, MBL — у 1,5%. Під час ПЛР-тестування 59 мультирезистентних штамів встановлено домінування генів *blaNDM* (97%), *blaKPC* (84,6%) та *blaOXA-48* (44,6%), тоді як *blaVIM* виявлявся лише у 3%. Окремі ізоляти поєднували два або навіть три гени карбапенемаз, що додатково ускладнює підбір ефективної антибіотикотерапії.

З метою вивчення допоміжних терапевтичних підходів було досліджено вплив азитроміцину (АЗМ) і колістину метансульфонату (КМС) на планктонні та біоплівкові культури *Klebsiella pneumoniae*. Результати вказують на те, що КМС окремо не мав істотного бактерицидного ефекту щодо планктонних клітин ані мультирезистентних, ані чутливих до антибіотиків штамів. Азитроміцин також виявився малоефективним при монокомпонентному застосуванні. Однак у комбінації цих препаратів спостерігався виражений антибіоплівковий ефект, що є перспективним з огляду на боротьбу з уже сформованими біоплівками як на поверхні хірургічних ран, так і на медичних пристроях (протезах, катетерах та інших імплантатах).

У ході дисертаційного дослідження було проведено ще одне спостереження, пов'язане з адаптацією мультирезистентних *K. pneumoniae* до низьких доз азитроміцину. Протягом 14 пасажів у середовищі з АЗМ ізоляти набували толерантності до макролідів, але водночас демонстрували зниження резистентності

до деяких β -лактамів, передусім меропенему та іміпенему. В умовах біоплівки цей ефект був вираженішим. Подібний феномен можна розглядати як потенційну "попередню" адаптацію інфекційного агента до низьких концентрацій макролідів, що, своєю чергою, підвищувало чутливість до карбапенемів.

Таким чином, отримані в ході дисертаційного дослідження дані свідчать про стрімке зростання ролі *K. pneumoniae* як провідного внутрішньолікарняного патогена з мультирезистентним профілем, що зазвичай поєднує кілька механізмів стійкості — від продукції ESBL та втрати поринів до різних типів карбапенемаз (NDM, KPC, OXA-48). На практиці це означає, що традиційні емпіричні схеми лікування (використання захищених пеніцилінів, цефалоспоринів III покоління, фторхінолонів) часто виявляються неефективними, змушуючи шукати альтернативи у вигляді препаратів резерву або комбінованої антибіотикотерапії.

Експерименти з азитроміцином та колістину метансульфонатом засвідчили можливий синергічний ефект щодо біоплівок, тоді як низькодозова адаптація до цього макроліду підвищувала чутливість до певних карбапенемів.

В умовах обмежених ресурсів та військових дій питання, висвітлені в дисертаційному дослідженні, набувають важливого значення, оскільки дефіцит сучасних резервних антибіотиків і складнощі з впровадженням якісного інфекційного контролю загрожують подальшому поширенню мультирезистентних штамів. Пошук нових терапевтичних підходів, зокрема комбінованої антибіотикотерапії та стимулювання зміни фенотипу резистентності, може виявитися одним із найбільш перспективних напрямів для стримування зростання антибіотикорезистентності.

Ключові слова: антибіотикорезистентність, чутливість до антибіотиків, механізми резистентності, карбапенемази, біоплівка, ESKAPE патогени, *Klebsiella pneumoniae*, комбінована терапія, азитроміцин, меропенем, колістин.

Abstract

Rudnieva K. L. Antimicrobial Resistance of ESKAPE Pathogens and Experimental Approaches to Overcoming It – A Qualification Research Paper as a Manuscript.

Dissertation for the Degree of Doctor of Philosophy in Specialty 222 – Medicine. Bogomolets National Medical University, Department of microbiology and parasitology with the basics of immunology, Kyiv, 2025.

The dissertation is dedicated to a retrospective analysis of the prevalence of major pathogens among patients in a multidisciplinary hospital, the study of local epidemiology of microbial populations, analysis of changes in their isolation frequency over time, assessment of multidrug-resistant strain detection, determination of key phenotypic and genotypic resistance markers, and investigation of the impact of antibiotic combinations on both planktonic and biofilm forms of *Klebsiella pneumoniae*.

The issue of antimicrobial resistance is one of the most pressing threats to modern medicine, particularly in hospital settings. Of particular concern are hospital-acquired strains of the so-called ESKAPE pathogens (*Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.), which effectively evade the action of most antibiotics used in clinical practice. Studying the prevalence of these pathogens in specific clinical settings and analyzing their isolation dynamics enables timely responses to epidemiological changes and adjustments in antibiotic therapy strategies. Local monitoring of antibiotic-resistant microorganisms is also a fundamental component in forming an accurate and representative epidemiological picture, not only at the institutional level but also at regional and national scales.

The aim of this dissertation is to assess the prevalence of antimicrobial resistance among hospital-acquired ESKAPE pathogen strains isolated in a multidisciplinary hospital and to provide an experimental rationale for approaches to overcoming it.

To achieve the goal, the following tasks were formulated: to conduct a retrospective analysis of the prevalence of hospital-acquired ESKAPE pathogen strains in a multidisciplinary hospital and to investigate the dynamics of changes in their isolation frequency; to isolate ESKAPE pathogen strains from patients in surgical departments and

the intensive care and resuscitation unit of the Kyiv Regional Clinical Hospital (KNP KOR) and characterize their biological properties; to study the sensitivity of isolated strains to antibacterial drugs and determine resistance mechanisms using phenotypic methods; to investigate the molecular-genetic mechanisms of resistance to antimicrobial drugs in the population of gram-negative ESKAPE pathogens, identifying the spectrum and frequency of detection of specific resistance genes; to evaluate the effects of various combinations of antimicrobial drugs on *Klebsiella pneumoniae* strains under in vitro conditions; to study the synergistic effects of antibiotics on planktonic and biofilm forms of hospital-acquired *Klebsiella pneumoniae* strains as an epidemiologically significant representative of ESKAPE pathogens.

In this study, microbiological data obtained during routine microbiological examination of clinical material from patients in the resuscitation and surgical departments of the Kyiv Regional Clinical Hospital (KNP KOR) were analyzed over three time periods: the period when the laboratory began implementing microbial sensitivity testing to antimicrobial drugs in accordance with EUCAST recommendations (2018–2019), two years of the COVID-19 pandemic (2020–2021), and two years following the start of the full-scale Russian invasion and the onset of active hostilities in Ukraine (2022–2023).

Over the specified period (2018–2023), 9,523 biological samples (blood, surgical wound material, cerebrospinal fluid, sputum, tracheobronchial lavage fluid, tonsil mucus, urine, and intestinal contents) were subjected to microbiological examination, from which 6,643 bacterial isolates were obtained. The primary focus of the analysis was to identify changes in the microbiota structure across different time periods and to study the dynamics of antibiotic resistance under varying epidemiological conditions.

Comparative analysis revealed an overall decline in species diversity and a gradual dominance of gram-negative flora from 2018 to 2024. This trend began with the onset of the pandemic and intensified with the start of active hostilities, suggesting the influence of these factors on this phenomenon. The most pronounced increase was observed with *K. pneumoniae*: while in 2018 its proportion among all isolates in intensive care and surgical departments was 7.1%, by 2023 it had risen to 40.4%. In certain years (2020,

2022, and 2023), *K. pneumoniae* became the most prevalent pathogen in the intensive care unit, displacing other gram-negative and gram-positive microorganisms. A similar pattern was observed in surgical departments, where the number of infections associated with this pathogen significantly increased.

Based on the analysis of microbial isolation frequency from clinical material to track changes in antibiotic resistance dynamics, six of the most prevalent species were selected: *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, and *S. epidermidis*. In all cases, an increase in the isolation frequency of strains resistant to major antibiotic groups was recorded. The highest resistance level was observed in *A. baumannii*. For instance, in 2019 and 2021, no isolates sensitive to fluoroquinolones or trimethoprim/sulfamethoxazole were recorded, and carbapenem resistance reached nearly 96% by 2023. In comparison, *E. coli* and *S. aureus* isolates exhibited moderate resistance levels: between 2019 and 2023, *E. coli* resistance to fluoroquinolones reached 62%, while *S. aureus* showed the lowest resistance to these antibiotics (33% resistant isolates). Meanwhile, fluctuations were observed in the detection frequency of methicillin-resistant *S. aureus* (MRSA): a sharp decline from 32% (2019) to 6% (2022) was followed by an increase to 15% in 2023. In *S. epidermidis*, methicillin resistance was generally higher than in *S. aureus*, peaking at 60% in 2019–2020 and decreasing to 39% by 2023. Concurrently, *K. pneumoniae*, the leader in isolation frequency, showed a significant reduction in sensitivity to most antibiotics. In 2018, 71% of strains were resistant to protected penicillins and 66% to third-generation cephalosporins, while by 2020 these figures had risen to 97% and 83%, respectively. Although resistance to protected penicillins slightly decreased in 2021 (to 87%), the situation worsened again, with resistance to these drug groups exceeding 90% by 2023. A similar trend was observed in resistance to fluoroquinolones: by 2020, resistance exceeded 80%, approaching 92% in 2023. The situation with aminoglycosides was more favorable, with about 20% of *K. pneumoniae* strains remaining sensitive, though the proportion of resistant isolates also increased.

Phenotypic evaluation of 65 clinical *K. pneumoniae* isolates revealed 88.3% ESBL-positive strains, 86.7% KPC-positive strains, and a high prevalence of combined

resistance mechanisms, notably "ESBL plus porin loss" at 69.2%. OXA-48 β -lactamases were detected in 30.8% of isolates, AmpC in 7.8%, and MBL in 1.5%. PCR testing of 59 multidrug-resistant strains established the dominance of blaNDM (97%), blaKPC (84.6%), and blaOXA-48 (44.6%) genes, while blaVIM was detected in only 3%. Some isolates combined two or even three carbapenemase genes, further complicating the selection of effective antibiotic therapy.

To explore adjunctive therapeutic approaches, the effects of azithromycin (AZM) and colistin methanesulfonate (CMS) on planktonic and biofilm cultures of *K. pneumoniae* were investigated. Results indicated that CMS alone had no significant bactericidal effect on planktonic cells of either multidrug-resistant or antibiotic-sensitive strains. Azithromycin was also largely ineffective when used as a single agent. However, the combination of these drugs exhibited a pronounced anti-biofilm effect, which is promising for combating established biofilms on surgical wound surfaces and medical devices (prostheses, catheters, and other implants).

During the dissertation research, an additional observation related to the adaptation of multidrug-resistant *K. pneumoniae* to low doses of azithromycin was made. Over 14 passages in an AZM-containing medium, isolates developed tolerance to the macrolide but simultaneously showed reduced resistance to certain β -lactams, particularly meropenem and imipenem. This effect was more pronounced in biofilm conditions. This phenomenon could be considered a potential "pre-adaptation" of the infectious agent to low macrolide concentrations, which, in turn, increased sensitivity to carbapenems.

Thus, the data obtained during the dissertation research indicate a rapid rise in the role of *K. pneumoniae* as a leading nosocomial pathogen with a multidrug-resistant profile, typically combining multiple resistance mechanisms—from ESBL production and porin loss to various carbapenemases (NDM, KPC, OXA-48). In practice, this means that traditional empirical treatment regimens (using protected penicillins, third-generation cephalosporins, or fluoroquinolones) are often ineffective, necessitating the search for alternatives such as reserve drugs or combination antibiotic therapy.

Experiments with azithromycin and colistin methanesulfonate demonstrated a potential synergistic effect against biofilms, while low-dose adaptation to this macrolide

increased sensitivity to certain carbapenems. In the context of limited resources and ongoing hostilities, the issues addressed in this dissertation research are of critical importance, as shortages of modern reserve antibiotics and challenges in implementing effective infection control threaten the further spread of multidrug-resistant strains. The exploration of new therapeutic approaches, particularly combination antibiotic therapy and the induction of resistance phenotype changes, may prove to be one of the most promising strategies for curbing the rise of antibiotic resistance.

Keywords: antibiotic resistance, antimicrobial susceptibility, resistance mechanisms, carbapenemases, biofilm, ESKAPE pathogens, *Klebsiella pneumoniae*, combination therapy, azithromycin, meropenem, colistin.

СПИСОК ПУБЛІКАЦІЙ ЗДОБУВАЧА ЗА ТЕМОЮ ДИСЕРТАЦІЇ
Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації
Статті у наукових фахових виданнях, які включено до міжнародних
наукометричних баз:

(*– особистий внесок здобувача)

Scopus

1. Moshynets, O.V., Baranovskyi, T.P., Cameron, S., Iungin, O.S., Pokholenko, I., Jerdan, R., Kamyshnyi, A., Krikunov, A.A., Potochilova, V.V., Rudnieva, K.L., & Spiers, A.J. (2022). Azithromycin possesses biofilm–inhibitory activity and potentiates non-bactericidal Colistin Methanesulfonate (CMS) and polymyxin B against *Klebsiella pneumoniae*. *PLOS ONE*, 17(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270983> (*ізоляція та зберігання штамів для дослідження, визначення синергічного впливу азитроміцину та колістину у формі планктону та біоплівки, визначення пригнічуючого впливу азитроміцину на біоплівку *Klebsiella pneumoniae*).
2. Moshynets, O.V., Baranovskyi, T.P., Iungin, O.S., Krikunov, A.A., Potochilova, V.V., Rudnieva, K.L., Potters, G., & Pokholenko, I. (2023). Therapeutic potential of an azithromycin-colistin combination against XDR *K. Pneumoniae* in a 3D collagen-based in vitro wound model of a biofilm infection. *Antibiotics*, 12(2), 293. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020293> (*ізоляція та зберігання штамів для дослідження, культивування *Klebsiella pneumoniae* на середовищах з азитроміцином і колістином)
3. Kryzhevskyi, V., Strokous, V., Lifshyts, Y., Rybianets, Y., Oberniak, A., Krikunov, A., Iungin, O., Potochilova, V., Rudnieva, K., Petakh, P., Kamyshnyi, A., & Moshynets, O. (2023). Case report: Azithromycin-meropenem combination therapy as a low-cost approach to combat PDR gram-negative infections of war wounds in Ukraine. *Frontiers in Medicine*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1264492> (*експериментальне підтвердження гіпотези, адаптація *Klebsiella pneumoniae* до азитроміцину, визначення зміни у фенотипі чутливості, ізоляція та зберігання штамів для дослідження)

Фахові журнали (категорія Б)

1. Поточилова В., Руднєва К., Покас О., Вишнякова Г. (2020) Чутливість до антибактеріальних препаратів та фенотипове визначення факторів резистентності у мікроорганізмів родини *Enterobacteriaceae* – збудників ранових інфекцій. «Вісник проблем біології і медицини» Випуск 3 (157), С208-213, DOI: 10.29254/2077-4214-2020-3-157-208-213 (**ізоляція та зберігання штамів для дослідження, оформлення результатів, підготовка статті до друку*)

2. Вишнякова Г., Поточилова В., Руднєва К., Покас О. (2020) Видовий склад збудників ранових інфекцій у пацієнтів з хірургічною патологією та чутливість до антибіотиків виявленої грампозитивної флори. «Вісник проблем біології і медицини» Вип. 2 (156) С244-248 DOI: 10.29254/2077-4214-2020-2-156-244-248 (**ізоляція та зберігання штамів для дослідження, оформлення результатів, підготовка статті до друку*)

3. Поточилова В., Руднєва К., Покас О., Вишнякова Г. (2020) Чутливість до антибактеріальних препаратів та фенотипове визначення факторів резистентності у штамів неферментуючих грам-негативних бактерій – збудників ранових інфекцій. «Вісник проблем біології і медицини» Випуск 4 (158), С259-263. DOI: 10.29254/2077-4214-2020-4-158-259-263 (**ізоляція та зберігання штамів для дослідження, оформлення результатів, підготовка статті до друку*)

Тези доповідей

1. Pokholenko IO, Rudnieva KL, Baranovskyi TP, Potochilova VV, Iungin OS, Moshynets OV. A biomimetic 3d model to reproduce wound-associated biofilm-related infectious process in vitro. All-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology: мат. Науково-практичної конференції з міжнародною участю. Київ, 15-17 червня 2022. С 53.

2. Moshynets OV, Pokholenko IO, Rudnieva KL, Baranovskyi TP, Potochilova VV, Iungin OS, Spiers AJ, Krikunov AA. Azithromycin reveals biofilm–inhibitory activity and potentiates non-bactericidal colistin methanesulfonate against *Klebsiella*

pneumonia. All-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology: мат. Науково-практичної конференції з міжнародною участю. Київ, 15-17 червня 2022. С 61.

3. Руднєва КЛ, Понятовський ВА. Аналіз резистентності до антимікробних препаратів серед ESKAPE патогенів у Київському регіоні за 2017-2021 роки. Актуальні питання мікробіології у медичній освіті і науці, Харків, 22-23 вересня 2022 р, С 120-123.

4. Руднєва КЛ, Бояновський СО, Понятовський ВА. Вплив активних бойових дій на мікробіологічне різноманіття та антибіотикорезистентність збудників ранових інфекцій. III Науково-практична міжнародна дистанційна конференція «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині», Харків, 24 березня 2023 р.

5. Rudnieva KL, Baranovskyi TP, Potochilova VV, Iungin OS, Pokholenko IO, Spiers AJ, Moshynets OV. Molecular epidemiology of carbapenemase-producing hospital-acquired *Klebsiella pneumoniae* in Ukraine. 33th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Копенгаген, 15-18 квітня 2023 р.

6. Rudnieva KL, Poniatovskyi VA, Boianovskyi SO, Moshynets OV. Russian-Ukraine war raised antibiotic resistance and Gram-negative infections of wounds in Ukraine. ESCMID Global: Congress of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Барселона, 27-30 квітня 2024 р.

ЗМІСТ

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ.....	17
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ	27
1.1. Проблематика антибіотикорезистентності у сучасному світі.....	27
1.2. Місце та значимість ESKAPE патогенів в структурі антибіотикорезистентності	31
1.3. Поширеність механізмів резистентності ESKAPE патогенів.....	34
1.4. Біоплівка як основна форма існування бактерій	38
1.5. Заходи, спрямовані на подолання антибіотикорезистентності.....	41
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	50
2.1. Матеріал для дослідження	50
2.2. Поживні середовища.....	51
2.3. Виділення мікроорганізмів з клінічного матеріалу	51
2.4. Ідентифікація ізолюваних штамів мікроорганізмів.....	52
2.5. Визначення чутливості ізолюваних мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів.....	54
2.6. Фенотипове визначення механізмів антибіотикорезистентності	56
2.7. Виявлення генетичних детермінант антибіотикорезистентності	58
2.8. Приготування колагенизованої пластикової поверхні.....	59
2.9. Оцінка здатності досліджуваних ізолятів до адгезії біоплівки на полістирольній поверхні без та у присутності колагенового шару	60
2.10. Статистична обробка даних	61
РОЗДІЛ 3. ВИДОВИЙ СКЛАД І БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ ВІД ПАЦІЄНТІВ РЕАНІМАЦІЙНОГО ТА ХІРУРГІЧНИХ ВІДДІЛЕНЬ КНП КОР «КОКЛ».....	63
3.1. Аналіз видового спектру мікроорганізмів, виділених із біоматеріалу пацієнтів стаціонарних відділень КНП КОР «КОКЛ».....	63
3.2. Характеристика чутливості виділених мікроорганізмів до антибіотиків	79
РОЗДІЛ 4. ФЕНОТИПИ ТА ГЕНОТИПИ АНТИБІОТИКО-РЕЗИСТЕНТНОСТІ ШТАМІВ <i>K.PNEUMONIAE</i> , ІЗОЛЬОВАНИХ ВІД ПАЦІЄНТІВ	

РЕАНІМАЦІЙНОГО ТА ХІРУРГІЧНИХ ВІДДІЛЕНЬ ЗА ПЕРІОД 2020–2021 РР.	86
4.1. Характеристика колекції <i>K. pneumoniae</i> та профілі чутливості до антибактеріальних препаратів	86
4.2. Фенотипова характеристика механізмів антибіотикорезистентності у мультирезистентних штамів <i>K. pneumoniae</i>	88
4.3. Генетичні детермінанти антибіотикорезистентності у клінічних ізолятів <i>K. pneumoniae</i>	92
РОЗДІЛ 5. РОЗРОБКА СТРАТЕГІЇ КОМБІНОВАНОЇ АНТИБІОТИКОТЕРАПІЇ У БОРОТЬБИ З МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНИМИ БАКТЕРІЯМИ <i>K. PNEUMONIAE</i>	95
5.1. Вплив комбінованого застосування азитроміцину та колістину на планктонні та біоплівкові форми <i>K. pneumoniae</i> з різним ступенем антибіотикорезистентності	95
5.2. Вплив азитроміцину на фенотипову зміну чутливості <i>K. pneumoniae</i> до основних груп антимікробних препаратів.....	103
5.2.1. Характеристика та походження штамів відібраних для дослідження...	103
5.2.2. Процес адаптації культур мікроорганізмів до азитроміцину	104
5.2.3. Зміни фенотипу чутливості <i>K. pneumoniae</i> в результаті адаптації до азитроміцину.....	105
РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ	111
ВИСНОВКИ.....	130
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ	133
Додатки.....	157

ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ

AMR – Antimicrobial Resistance (антибіотикорезистентність).

AmpC – Ambler class C β -lactamase (β -лактамаза класу C за класифікацією Ambler).

ATCC – American Type Collection Culture (Американська колекція типових культур).

CAESAR – Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance (Система нагляду за антимікробною резистентністю в Центральній Азії та Східній Європі).

CIM – Carbapenem Inactivation Method (метод інактивації карбапенемів).

CLSI – Clinical and Laboratory Standards Institute (Інститут клінічних і лабораторних стандартів).

CRAB – Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* (карбапенем-резистентний *Acinetobacter baumannii*).

CRE – Carbapenem-Resistant Enterobacterales (карбапенем-резистентні ентеробактерії).

CRISPR — Clustered Regularly Interspaced Short Palindromic Repeats (короткі паліндромні повтори, регулярно розташовані групами).

EARS-Net – European Antimicrobial Resistance Surveillance Network (Європейська мережа нагляду за антимікробною резистентністю).

ECDC – European Centre for Disease Prevention and Control (Європейський центр з профілактики та контролю захворювань).

ESKAPE – *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, *Enterobacter* spp.

EUCAST – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (Європейський комітет з тестування чутливості до антимікробних препаратів).

ESBL – Extended-spectrum beta-lactamase (β -лактамази розширеного спектру).

GNB – Gram-negative bacteria (грамнегативні бактерії).

GLASS – Global Antimicrobial Resistance Surveillance System (Глобальна система моніторингу антибіотикорезистентності).

IMP – Imipenem metallo-beta-lactamase (метало- β -лактамаза, що гідролізує імipенем).

KPC – *Klebsiella pneumoniae* carbapenemases (Карбапенемази *Klebsiella pneumoniae*).

MDR – Multi-Drug Resistant (Мультирезистентний мікроорганізм).

MRSA – Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (Метицилін-резистентний *Staphylococcus aureus*).

NDM – New Delhi metallo-beta-lactamase (Нью Делі метало- β -лактамаза).

Non-MDR – Non-Multidrug-Resistant (Не-мультирезистентний).

OD630/570 - Optical Densit (оптична густина при різних довжинах хвиль 630нм та/або 570 нм).

OXA-48 – oxacillin β - lactamase (оксацилін β -лактамаза).

PDR – Pan-Drug Resistant (Повна резистентність).

Spp –species (Множ. види).

VIM – Verona Integron-Mediated Metallo- β -lactamase (Веронська інтегроно-опосередкована метало- β -лактамаза).

WHONET – це програмне забезпечення, розроблене ВООЗ для збору, зберігання, аналізу та обміну даними про резистентність до антибіотиків.

XDR – Extensively drug-resistant (Екстремальна резистентність).

АЗМ – Азитроміцин.

АМП – Антимікробний препарат.

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я.

ЗОЗ – Заклад охорони здоров'я.

ІПНМД – Інфекції пов'язані з наданням медичної допомоги.

КУО – Колонієутворюючі одиниці.

МБЛ – Метало- β -лактамаза.

МІК – Мінімальна інгібуюча концентрація.

МПА – М'ясо-пептоний агар

МПБ – М'ясо-пептоний бульйон.

МСК – Колістину метансульфонат.

МХБ – Бульон Мюлера-Хінтона.

МХА – Агар Мюлера-Хінтона.

ПЛР – полімеразна ланцюгова реакція.

ТБД – Трахео-бронхіальне дерево.

Вступ

Обґрунтування вибору теми дослідження

Останніми роками мікроорганізми, що належать до групи ESKAPE патогенів, привертають дедалі більше уваги з боку медичної спільноти, оскільки становлять серйозну загрозу для сучасної системи охорони здоров'я. Головною причиною цього занепокоєння є їхня здатність швидко розвивати стійкість до протимікробних препаратів, що значно ускладнює лікування інфекційних захворювань. Крім того, етіологічна роль цих патогенів у розвитку інфекційних процесів постійно зростає, що ще більше ускладнює ситуацію. За попередніми оцінками, бактеріальна резистентність до антимікробних препаратів у всьому світі спричиняє більше смертей, ніж ВІЛ або малярія, і визнана однією з головних глобальних загроз здоров'ю [1]. З метою протидії цій проблемі Всесвітня організація охорони здоров'я (ВООЗ) ще у 2017 році включила до списку «пріоритетних патогенів» низку умовно-патогенних грамнегативних бактерій, які характеризуються множинною лікарською стійкістю. Ці бактерії офіційно визнані однією з найзначніших загроз для здоров'я людей у всьому світі.

В Україні проблема мультирезистентних мікроорганізмів стоїть особливо гостро. Навіть до початку війни рівень антибіотикорезистентності серед збудників інфекцій був надзвичайно високим. Військові дії спричинили різке збільшення кількості пацієнтів із травматичними ранами, отриманими внаслідок бойових дій, що значно підвищило навантаження на систему охорони здоров'я. За цих умов кількість випадків виявлення мультирезистентних мікроорганізмів збільшилася, а їхня роль у розвитку інфекційних захворювань суттєво зросла. Ця ситуація вимагає негайних заходів, оскільки поширення стійкості до антимікробних препаратів може мати далекосяжні наслідки для охорони здоров'я, особливо в таких складних умовах, як війна [2]. Попри сформульовані у 2023 році офіційні рекомендації щодо лікування інфекцій, спричинених грамнегативними патогенами із множинною лікарською стійкістю [3], в українських умовах не проводилося досліджень ефективності рекомендованих комбінацій. А через високу вартість та обмежену

доступність препаратів на ринку рекомендовані комбінації антибіотиків залишаються недосяжними для більшості пацієнтів.

Окремої уваги заслуговує ще один фактор, що погіршує ситуацію щодо лікування інфекцій, спричинених антибіотикорезистентними мікроорганізмами: бактеріальні інфекції часто супроводжуються утворенням біоплівки у вогнищах запалення. Біоплівки — це складні багатошарові структури, утворені бактеріями, що забезпечують їм фенотипову резистентність до протимікробних препаратів. Це означає, що антибіотики, які ефективно діють проти планктонних форм бактерій, часто виявляються неефективними проти мікроорганізмів у складі біоплівки [4, 5]. Оскільки біоплівки є природною формою існування бактерій, їхнє вивчення має стати пріоритетним напрямом досліджень, спрямованих на пошук ефективних антибактеріальних препаратів і їхніх комбінацій для боротьби з мультирезистентними збудниками [6].

Одним із можливих способів покращення ситуації є повернення до застосування «забутих» або «старих» антибіотиків із вузьким спектром дії. Це препарати, які довгий час не застосовувалися в клінічній практиці, але можуть бути ефективними проти сучасних мультирезистентних грамнегативних бактерій. Крім того, перспективним напрямом є комбіноване використання антибактеріальних засобів із різними механізмами дії. Припускають, що комбінація препаратів, один із яких здатний пригнічувати утворення біоплівки, може бути високоефективною в разі неефективності монотерапії.

Саме дослідженню загального спектра збудників госпітальних інфекцій на прикладі окремої лікарні, аналізу фенотипових маркерів антибіотикорезистентності в субпопуляціях госпітальних ізолятів та вивченню можливостей антибіоплівкової терапії було присвячене дисертаційне дослідження, що мало на меті визначення ефективних підходів до лікування інфекцій, спричинених мультирезистентними грамнегативними бактеріями, із урахуванням їхньої здатності утворювати біоплівки та фенотипової резистентності..

Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами. Дисертаційна робота виконувалася в рамках науково-технічної роботи (№ проєкту 2020.02/0246)

«Розробка комбінованої терапії важких *Klebsiella pneumoniae*-асоційованих нозокоміальних інфекцій для подолання їхньої антибіотикорезистентності» за програмою Національного фонду досліджень України «Підтримка досліджень провідних та молодих учених» (№ державної реєстрації 0120U104850).

Крім того, дослідження є частиною науково-дослідної роботи кафедри мікробіології та паразитології з основами імунології НМУ імені О.О. Богомольця «Використання бактеріофагів для боротьби з антибіотикорезистентними варіантами *Klebsiella pneumoniae*» (№ державної реєстрації 0123U100951, 2023–2025 рр.).

Мета і завдання дослідження. Метою роботи було проведення оцінки поширеності стійкості до протимікробних препаратів у госпітальних штамів ESKAPE патогенів, ізольованих у багатoproфільному стаціонарі, та експериментальне обґрунтування підходів до її подолання.

Для досягнення поставленої мети передбачено виконання таких завдань:

1. Провести ретроспективний аналіз поширеності госпітальних штамів ESKAPE патогенів у багатoproфільному стаціонарі та дослідити динаміку змін частоти їх ізоляції.

2. Виділити штами ESKAPE патогенів від пацієнтів хірургічних відділень та відділення інтенсивної терапії і реанімації КНП КОР «Київська обласна клінічна лікарня» та охарактеризувати їх біологічні властивості.

3. Вивчити чутливість ізольованих штамів до антибактеріальних препаратів і визначити механізми резистентності фенотиповими методами.

4. Дослідити молекулярно-генетичні механізми стійкості до протимікробних препаратів у популяції грамнегативних представників ESKAPE патогенів, визначити спектр і частоту виявлення окремих генів резистентності.

5. Оцінити дію різних комбінацій протимікробних препаратів на штами *Klebsiella pneumoniae* в умовах *in vitro*. Дослідити синергічну дію антибіотиків на планктонні та біоплівкові форми госпітальних штамів *Klebsiella pneumoniae* як епідеміологічно значущого представника ESKAPE патогенів.

Об'єкт дослідження: є госпітальні штами ESKAPE патогенів, зокрема їх стійкість до протимікробних препаратів..

Предмети дослідження: є поширеність стійкості до протимікробних препаратів у госпітальних штаммах ESKAPE патогенів, їх біологічні властивості, механізми резистентності, ефективність антибіотичних комбінацій на клінічні штами, особливість біоплівкоутворення *K. pneumoniae*.

Методи дослідження: Матеріалом для дослідження слугували мікроорганізми, ізольовані при рутинному мікробіологічному дослідженні клінічних зразків від пацієнтів, що перебували на лікуванні в стаціонарі хірургічного профілю. Під час виконання дисертаційного дослідження були використані наступні методи:

1. *Мікробіологічні* – виділення чистих культур мікроорганізмів, ідентифікація та визначення біологічних властивостей ізольованих штамів бактерій; дослідження чутливості до антибактеріальних препаратів з використанням різних підходів.

2. *Генетичні* – визначення спектру та частоти зустрічаємості генів резистентності у досліджуваних мікроорганізмів з використанням полімеразної ланцюгової реакція у реальному часі.

3. *Математико-статистичні* – обробка отриманих даних за допомогою стандартного пакету прикладних програм для медико-біологічних досліджень.

Наукова новизна одержаних результатів. Вперше в Україні було проведено ретроспективний аналіз поширеності мікроорганізмів, виділених від пацієнтів реанімаційного та хірургічних відділень багатопрофільної лікарні міста Києва, а також визначено основні тенденції змін. Проаналізовано дані мікробіологічного дослідження з початку запровадження в лабораторії методології тестування чутливості мікроорганізмів до протимікробних препаратів за стандартами EUCAST (2018, 2019 роки), два роки періоду пандемії COVID-19 (2020, 2021 роки) та два роки повномасштабного вторгнення РФ на територію України. Визначено клінічно значимі мікроорганізми, порівняно частоту їх виявлення у різних біотопах пацієнтів і в різні періоди часу. Зафіксовано зростаючу роль *K. pneumoniae* як

одного з найбільш клінічно значимих мікроорганізмів, що спричиняють інфекційні ускладнення серед пацієнтів реанімаційного та хірургічних відділень.

Визначено основні механізми антибіотикорезистентності у колекції мікроорганізмів *K. pneumoniae* з використанням фенотипових та генотипових методів дослідження. Порівняно ефективність фенотипових і генотипових методів як скринінгових інструментів. Визначено частоту зустрічальності різних механізмів резистентності та їх комбінацій у клінічних ізолятах *K. pneumoniae*. Досліджено поширеність генів, що кодують карбапенемази, у *K. pneumoniae* з різним профілем чутливості.

Вперше було досліджено вплив азитроміцину на планктонні та біоплівкові форми *K. pneumoniae* з різним профілем чутливості як в моно-варіанті, так і в комбінації з іншими протимікробними препаратами. Виявлено зміни у фенотипі чутливості PDR штамів *K. pneumoniae* до карбапенемів під дією тривалого впливу азитроміцину в сублетальних концентраціях.

Практичне значення одержаних результатів.

Отримані дані в ході виконання дисертаційного дослідження можуть стати основою для розробки місцевих рекомендацій щодо емпіричного лікування інфекційних ускладнень у пацієнтів реанімаційного та хірургічних відділень багатопрофільної лікарні міста Києва.

Визначені тенденції щодо зміни видового складу мікроорганізмів, як виділені з клінічного матеріалу пацієнтів реанімаційного та хірургічних відділень в різні періоди часу, а також профілі їх резистентності до основних груп антимікробних препаратів та встановлена частота зустрічаємості різних механізмів резистентності та їх комбінацій у клінічних ізолятах *K. pneumoniae* стануть доповненням до системи епіднагляду за антибіотикорезистентністю, яка наразі формується в Україні.

На основі отриманих експериментальних даних рекомендовано комбіноване використання азитроміцину з меропенемом для лікування інфекцій, спричинених *K. pneumoniae* з множинною лікарською стійкістю.

Особистий внесок здобувача. Автором самостійно проведено аналіз наукової літератури за темою дисертації. Спільно з науковим керівником, к.мед.н., В.А. Понятовським, сформульовано мету та завдання дослідження, сплановано мікробіологічні, експериментальні та молекулярно-генетичні методи. Дисертантом самостійно виділено та ідентифіковано бактеріальні ізоляти, проведено ретроспективний аналіз поширеності мікроорганізмів, ізольованих від пацієнтів реанімаційного та хірургічних відділень, досліджено їх здатність до біоплівкоутворення та антибіотикочутливість. ПЛР-дослідження виконано на базі КНП КОР «Київська обласна клінічна лікарня» за сприяння завідувачки бактеріологічного відділу ЦКДЛ, к.б.н. Поточиловой В.В. Адаптація мікроорганізмів до азитроміцину та аналіз фенотипових змін чутливості здійснені у співпраці з к.б.н. Мошинець О.В.

Усі положення, висновки та статистична обробка результатів належать автору.

Апробація матеріалів дисертації. Результати досліджень, наукові положення, висновки та практичні рекомендації дисертаційної роботи доповідались на науково-практичних конференціях: «All-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology» (Київ, 2022), «Актуальні питання мікробіології у медичній освіті і науці» (Харків, 2022), III Науково-практична міжнародна дистанційна конференція «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині» (Харків, 2023), 33th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (Копенгаген, 2023), ESCMID Global: Congress of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases (Барселона, 2024), VII Міжнародний конгрес Antibiotic resistance STOP! (Київ, 2024).

Публікації. За темою дисертації опубліковано 12 наукових робіт, серед яких 6 статей у наукових фахових виданнях за переліком МОН України, в тому числі 3 статті, що індексуються у наукометричній базі Scopus, 3 статті у виданнях категорії Б, 6 тез доповідей на науково-практичних конференціях і конгресах (в тому числі міжнародних).

Структура та обсяг роботи. Дисертаційна робота викладена на 163 сторінках комп'ютерного тексту, складається зі вступу, 6 розділів, загальних висновків,

списку використаних джерел. Робота ілюстрована 4 таблицями, 36 рисунками. Список використаних джерел містить 180 найменувань, з них 11 – кирилицею та 169 – латиницею.

РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

1.1. Проблематика антибіотикорезистентності у сучасному світі

Антибіотикорезистентність стала однією з найнебезпечніших глобальних загроз для охорони здоров'я через стрімке поширення бактерій, здатних протистояти препаратам, які раніше вважалися ефективними. Це явище суттєво ускладнює лікування інфекцій, підвищує рівень смертності та значно збільшує навантаження на медичну систему. Серед причин, що призводять до розвитку антибіотикорезистентності, виділяють надмірне застосування протимікробних препаратів у клінічній практиці та сільському господарстві, недостатній контроль за призначенням препаратів і безконтрольне використання антибіотиків. Крім того, обговорюється передача стійких бактерій між країнами через подорожі, торгівлю та глобалізацію [7, 8]. Водночас варто зазначити, що на формування резистентності деяких мікроорганізмів впливає масове застосування антибіотиків широкого спектра дії. Цей фактор розглянуто як основний на прикладі розвитку стійкості до АМП у золотистого стафілокока [9]. У глобальному масштабі проблема ускладнюється високими фінансовими витратами на розробку нових антибіотиків, а також низькою рентабельністю таких проєктів для фармацевтичних компаній. Вирішенню проблеми можуть сприяти державні ініціативи та міжнародна підтримка: посилення регуляторних механізмів, збільшення інвестицій у наукові дослідження, співпраця між урядовими та приватними структурами [10].

ВООЗ визначає антибіотикорезистентність як одну з десяти найбільших глобальних загроз громадському здоров'ю, з якими стикається людство [11]. Захворювання, викликані стійкими до антимікробних препаратів бактеріями, стали причиною смерті майже 5 мільйонів людей у 2019 році, причому близько 1,5 мільйона з них були пов'язані з інфекціями нижніх дихальних шляхів [12].

Для більш зручної оцінки рівня резистентності та точнішого формування прогнозів лікування у світовій спільноті використовують такі категорії резистентності: MDR (мультирезистентність) визначається як набута стійкість принаймні до одного препарату в трьох або більше категоріях протимікробних засобів; XDR (розширена резистентність) визначається як відсутність чутливості

принаймні до одного агента в усіх, крім двох або менше категорій антимікробних препаратів (тобто бактеріальні ізоляти залишаються чутливими лише до однієї або двох категорій); PDR (абсолютна резистентність) визначається як несприйнятливість до всіх агентів усіх категорій протимікробних засобів (тобто жоден із відомих антибактеріальних препаратів не є ефективним для лікування цієї інфекції) [13].

Важливими аспектами боротьби з антибіотикорезистентністю є раціональне використання препаратів та впровадження системи антимікробного контролю (Antimicrobial Stewardship). Йдеться про навчання фахівців, впровадження моніторингу призначення ліків та контроль за застосуванням антибіотиків для профілактики й лікування. Точна діагностика, підбір препаратів вузького спектра дії та мінімізація невиправданого призначення антибіотиків сприяють збереженню їх ефективності та зменшенню ризику появи нових резистентних штамів [14]. Водночас міжнародне співробітництво відіграє ключову роль у стримуванні світового поширення мультирезистентних збудників.

Особливої уваги потребує проблема поширеності резистентності серед грамнегативних мікроорганізмів. У останньому звіті BOOЗ та Європейського центру профілактики та контролю захворювань (ECDC) за 2020 рік відсоток резистентних до карбапенему *Acinetobacter* spp. у Європі значно відрізнявся між звітуючими регіонами: з 38 країн і територій, які надали дані, 3 повідомили про рівень менш ніж 1%, тоді як 35 — про показники 50% або вище [15]. Найнижчий рівень резистентності до карбапенемів було зафіксовано в Ірландії, Нідерландах та Норвегії, тоді як аналогічні показники становили 50% або вище в 21 країні, переважно в Південній і Східній Європі. Стійкість до колістину була рідкістю протягом 1990-х років, а перший випадок резистентності був зареєстрований у Чеській Республіці в 1999 році. Відповідно до Програми антимікробного нагляду SENTRY, у 2013–2016 роках у порівнянні з 2005–2008 роками було помічено значне зниження показників чутливості до колістину для всіх географічних регіонів. Найбільше зниження сприйнятливості до колістину спостерігалось в

Європі (до 89,6% з 99,2%), далі йдуть Азіатсько-Тихоокеанський регіон (до 93,7% з 99,1%) і Північна Америка (до 93,6% з 98,4%) [16].

Крім того, воєні конфлікти значно сприяють поширенню стійких до антибіотиків мікроорганізмів. Дослідження, проведені на Близькому Сході, свідчать про значне підвищення рівня антибіотикорезистентності серед поранених військових і цивільних осіб [17]. Аналогічні результати демонструють вибірки з військових госпіталів в Україні, де найчастіше виявлялися стійкі грамнегативні патогени *Pseudomonas aeruginosa*, *Acinetobacter baumannii* та *Klebsiella pneumoniae* з різноманітними комбінаціями β -лактамаз і гена RmtASE, що забезпечує резистентність до аміноглікозидів [18]. Водночас грампозитивні збудники продовжували зберігати відносно низький рівень резистентності, проте метицилін-резистентний *Staphylococcus aureus* на глобальному рівні залишається надзвичайно небезпечним патогеном, щорічно викликаючи понад 100 000 смертей, пов'язаних із антимікробною стійкістю [12, 19].

Зазвичай підходи до вивчення поширеності антибіотикорезистентності здійснюються через глобальні, регіональні та локальні програми моніторингу. Ці програми здійснюються шляхом систематичного збору та аналізу даних для оцінки рівня антибіотикорезистентності в різних регіонах світу. Основні методи включають використання мікробіологічних лабораторій для визначення антибіотикорезистентності у клінічних ізолятах, а також створення баз даних для централізованого збору інформації. Ці підходи дозволяють порівнювати дані з різних регіонів, забезпечуючи можливість виявлення як регіональних так і глобальних тенденцій.

Система глобального нагляду за антимікробною резистентністю (GLASS) допомагає інтегрувати дані про поширення мультирезистентних патогенів, отримані від місцевих лабораторій по всьому світі. Завдяки таким програмам, як SMART (Study for Monitoring Antimicrobial Resistance Trends), державні відомства та приватні фармацевтичні компанії можуть обмінюватися ресурсами й координаційними зусиллями, аби вчасно виявляти появу стійких штамів і розробляти ефективні стратегії боротьби [20, 21]. Проте в країнах LMIC (країни з

низьким і середнім рівнем доходу) як і раніше зберігаються бар'єри для збору якісних даних: обмежена інфраструктура, нестача стандартизованих протоколів досліджень і недостатнє навчання персоналу [22].

Однією з наймасштабніших програм епідеміологічного нагляду за стійкістю до протимікробних препаратів в Європі залишається EARS-Net, яка збирає дані з європейських лікарень і дає змогу оцінювати ситуацію з антибіотикорезистентності на європейському континенті. Проте навіть у розвинених країнах спостерігається неоднорідність даних, зумовлена розривами в рівні лабораторного забезпечення та відмінними національними підходами до антибіотикотерапії [23].

Окрім глобального моніторингу проводиться ряд локальних досліджень, які можуть охоплювати як окремі країни, так і фокусуватися на конкретних лікарнях, більшість з них демонструє високі показники резистентності та свої особливості. Наприклад, дослідження поширеності антибіотикорезистентності серед ESKAPE патогенів проведене вченими Pandey, R. зі співавторами у 2021 в Непалі показало, що майже 70% грампозитивних ізолятів, виділених з клінічного біоматеріалу, були мультирезистентними. У випадку грамнегативних ізолятів 26,8% і 13,4% були MDR і XDR відповідно [24]. За даними Європейського центру контролю та профілактики хвороб, за відповідний період часу найбільший відсоток резистентності (понад 70% стійких фенотипів) до основних груп антибіотиків показали *K. pneumoniae*, *P. aeruginosa* та *Acinetobacter* spp. Причому відсоток резистентних інвазивних ізолятів в Україні в середньому у 10 разів перевищував аналогічний показник у країнах західної Європи (Швейцарія, Португалія, Норвегія, Нідерланди, Німеччина). У країнах Східної Європи (Сербія, Румунія, Словаччина, Молдова, Польща) поширеність антибіотикорезистентності також надзвичайно висока і в окремих випадках сягала 90% [25]. Це підтверджує поширену тезу про зростання рівня резистентності з півночі на південь та з заходу на схід [26].

До недавнього часу в Україні проводилися небагато досліджень, які дали б змогу оцінити ситуацію з антибіотикорезистентністю. Певну інформативність має моніторинг антибіотикорезистентності в Україні в рамках дослідження АУРА.

Згідно з результатами даного дослідження, найчастішими збудниками ранової інфекції були *Staphylococcus* spp. з високою часткою стійкості до метициліну. Близько 30% штамів грамнегативних мікроорганізмів продукували ESBL. При цьому більшу частину ESBL-продуцентів становили мікроорганізми *Klebsiella* spp. (42%) [27]. Проте дані різних дослідників можуть відрізнятися між собою та залежати як від локалізації запального процесу, так і від виду мікроорганізму. В якості підтвердження цього можна навести результати досліджень С.К. Джораєвої та співавторів, які показали високу поширеність культур *E. coli* з фенотипом MDR та XDR, що були виявлені у 63,6% та 7,8% протестованих збудників відповідно [28].

Таким чином, спільне використання локальних, регіональних та міжнародних систем моніторингу має забезпечити своєчасне виявлення нових штамів з множинною лікарською стійкістю та ефективну адаптацію національних політик щодо боротьби з антибіотикорезистентністю.

1.2. Місце та значимість ESKAPE патогенів в структурі антибіотикорезистентності

На сьогоднішній день група ESKAPE мікроорганізмів становить все більшу проблему для світової медичної спільноти. ESKAPE патогени – це бактерії *Enterococcus faecalis*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Enterobacter* spp. об'єднані Товариством інфекціоністів Америки (The Infectious Disease Society of America) в окрему групу [29]. Їх особливістю є здатність до швидкого формування стійкості до антимікробних препаратів завдяки генетичним мутаціям та обміну мобільними генетичними елементами (плазмідами). Завдяки цьому ESKAPE патогени розвинули механізми резистентності до оксазолідинонів, ліпопептидів, макролідів, фторхінолонів, тетрациклінів, β -лактамів, що захищені інгібіторами β -лактамаз, а також до антибактеріальних препаратів, які є останньою лінією захисту, включаючи карбапенеми, глікопептиди та поліміксини, що рідко використовуються в клінічній практиці [30, 31, 32].

Традиційно вважається, що ці збудники передаються від людини до людини прямим контактним шляхом, але також можливе їх розповсюдження через раковини для миття рук у палатах [33]. Їх поширеність у стаціонарах сприяє розвитку ускладнень серед пацієнтів, а також несе додаткове фінансове навантаження на заклади охорони здоров'я. Розповсюдженість антибіотикорезистентності серед госпітальних та негоспітальних штамів напряду впливає на рівень смертності та кількість ускладнень серед пацієнтів. Найбільш гостро ця проблема виражена в країнах з низьким та середнім рівнем доходу. Вважається, що стійкість мікроорганізмів ESKAPE та їх поширеність як збудників інфекційних процесів невпинно зростає [34, 35, 36].

ВООЗ розподілила перелік патогенів, що мають вплив на громадське здоров'я та поширення антибіотикорезистентності, на три рівні (критичний, високий і середній пріоритет), використовуючи 33-й перцентиль загальної кількості балів бактерії як межу. В основу цього розподілу покладено такі фактори: загальне навантаження на медичну систему, спричинене станами, що асоційовані з даними збудниками, проблеми, пов'язані з поширенням і передачею цих інфекцій, а також складнощі в лікуванні та профілактиці захворювань, викликаних ними. Бактерії з критичним пріоритетом для дослідження і розробки нових методів лікування та профілактики включають стійкі до карбапенемів *Acinetobacter baumannii* та *Pseudomonas aeruginosa*, а також резистентні до карбапенемів і цефалоспоринів третього покоління *Enterobacteriaceae*. Серед грампозитивних бактерій до високого пріоритету віднесено резистентні до ванкоміцину *Enterococcus faecium* і стійкі до метициліну *Staphylococcus aureus*. Серед бактерій, що зазвичай викликають позалікарняні інфекції, стійкі до кларитроміцину *Helicobacter pylori* та резистентні до фторхінолонів *Campylobacter* spp., *Neisseria gonorrhoeae* та *Salmonella typhi* також потрапили до рівня високого пріоритету [37]. Разом з тим, у 2024 році було оновлено цей список. Однак саме мікроорганізми групи ESKAPE, зокрема стійкі до карбапенемів *A.baumannii* та ентеробактерії, резистентні до карбапенемів і цефалоспоринів третього покоління, становлять критичний пріоритет [38].

Швидкість поширення та еволюції патогенів групи ESKAPE здебільшого обумовлена неправильним або надмірним використанням антибіотиків, що стимулює формування генетичних мутацій та розвиток адаптивних механізмів стійкості [39]. Надмірне призначення антибіотиків широкого спектра дії, їх використання без чітких показань, а також недостатній контроль за інфекціями в лікарнях сприяють формуванню «супербактерій». Водночас пацієнти з імуносупресією або тяжкими супутніми захворюваннями особливо вразливі до інфікування такими збудниками [40]. Ефективність лікування за наявності антибіотикорезистентних штамів значно знижується: зростають рівень летальності, тривалість госпіталізації, а також фінансові витрати й потреби у додаткових ресурсах для догляду за пацієнтами. Методи контролю, які традиційно застосовувалися, дедалі частіше виявляються неефективними, що посилює ризики для громадського здоров'я та ускладнює профілактичні заходи в стаціонарах [41].

У відповідь на ці виклики розвиваються новітні стратегії боротьби з мультирезистентними бактеріями, включаючи інноваційні підходи до розробки антибіотиків, вдосконалення засобів інфекційного контролю та розширення антимікробного нагляду. Особливу увагу приділяють методам секвенування геномів і молекулярному аналізу для кращого розуміння еволюційних шляхів формування стійкості та своєчасного виявлення нових загроз [42]. Міжнародна спільнота наголошує на необхідності глобальної координації зусиль, зокрема на розробці антимікробної політики, програмах навчання медичного персоналу та населення, а також комплексних заходах з раціонального призначення препаратів.

Таким чином, швидке поширення ESKAPE патогенів у лікарнях різних регіонів світу підтверджує потребу в згуртованому підході, який поєднує інфекційний контроль, епіднагляд і дослідження нових антимікробних засобів. Налагодження ефективної антимікробної політики на державному та міжнародному рівнях, вдосконалення системи нагляду та активна просвітницька робота є критично важливими складовими для запобігання подальшому поширенню та еволюції стійких до ліків штамів.

Антимікробна резистентність мікроорганізмів групи ESKAPE залишається одним з основних викликів у сфері внутрішньолікарняних інфекцій. Ці патогени відзначаються винятковою здатністю виробляти стійкість до ряду антибіотиків, зокрема карбапенемів, глікопептидів та поліміксинів, що традиційно вважаються препаратами «останньої лінії». Високий рівень мультирезистентності пов'язаний з низкою механізмів, серед яких горизонтальний перенос генів, мутації та утворення біоплівки, що значно ускладнюють ефективність антибіотиків. Тривале або неправильне застосування протимікробних засобів у медицині та ветеринарії створює додатковий тиск, прискорюючи відбір стійких штамів [43, 44].

Особливо загрозливою є наявність ферментів, які здатні інактивувати потужні антибіотики. Наприклад, продукція β -лактамаз розширеного спектра (ESBL), карбапенемаз (KPC, NDM, OXA-48) або OXA-карбапенемаз у *Pseudomonas aeruginosa* та *Acinetobacter baumannii* робить багато препаратів практично неефективними [45]. Окрім того, фермент MCR-1 забезпечує стійкість до колістину, що додатково обмежує терапевтичні можливості при інфікуванні панрезистентними штамми. Бактерії групи ESKAPE швидко поширюють гени резистентності завдяки мобільним генетичним елементам, що ускладнює контроль за цими патогенами як на рівні окремого закладу охорони здоров'я, так і на глобальному рівні [46].

1.3. Поширеність механізмів резистентності ESKAPE патогенів

Через високу резистентність до антибіотиків запальні процеси, асоційовані з цими бактеріями, стають дедалі складнішими для лікування. Важливою складовою цієї проблеми є здатність патогенів групи ESKAPE до горизонтального переносу генів, що дозволяє їм швидко поширювати стійкість, а також формування біоплівки. Саме через це традиційні антибіотики часто стають неефективними, що призводить до збільшення тривалості лікування та підвищення ризику ускладнень [47].

І хоча основні причини антибіотикорезистентності мікроорганізмів групи ESKAPE вже неодноразово перераховувалися, варто звернути увагу, що у різних

збудників переважають різні механізми резистентності. Наприклад, метицилін-резистентний *Staphylococcus aureus* (MRSA) використовує змінену структуру білка клітинної стінки для уникнення дії β -лактамних антибіотиків. Водночас *Klebsiella pneumoniae* та *Enterobacter* spp. часто продукують ферменти карбапенемази, які руйнують антибіотики, зокрема карбапенеми, що значно ускладнює процес лікування інфекцій, асоційованих з цими збудниками. Такі бактерії, як *Acinetobacter baumannii* та *Pseudomonas aeruginosa*, використовують множинні механізми резистентності, включаючи ефлюксні насоси та утворення біоплівки, що значно знижує ефективність антибіотиків. Боротьба з патогенами групи ESKAPE вимагає комплексного підходу, який включає не лише розробку нових ліків, а й значне покращення антимікробної політики та профілактичних заходів у лікарнях [48].

При проведенні дослідження геному клінічних ізолятів ентерококків було виявлено високе поширення генів стійкості до фторхінолонів *GyrA* та *parC*, а також генів *aac(6')-Ie-aph(2'')-I* аміноглікозидацетилтрансферази, що зумовлюють резистентність до аміноглікозидів. Тому при лікуванні ентерококкових інфекцій за допомогою цих антибіотиків обов'язково необхідно спиратися на результати визначення чутливості [49].

На сьогоднішній день методи генотипування та молекулярні дослідження за меншої вартості можуть прискорити ідентифікацію та виявлення генів резистентності за більш короткий час. Це, з одного боку, може зменшити використання антибіотиків широкого спектру дії та поширення мультирезистентних захворювань, а з іншого — дати простір генетичним епідеміологічним дослідженням, що покращать розуміння зв'язку між генотипами та стійкими фенотипами [50].

Особливістю резистентності до протимікробних препаратів у *Klebsiella pneumoniae* є схильність цього збудника до накопичення та поєднання великої кількості різноманітних ферментів, що розщеплюють антибіотики [51]. Це зумовлює необхідність спостереження за поширенням генів, які кодують β -лактамази, зокрема метало- β -лактамази. Так, в Італії було проведено молекулярно-

епідеміологічне дослідження *Klebsiella pneumoniae*, що демонструє фенотип метало- β -лактамази Нью-Делі (NDM). Штам продемонстрував мультирезистентний профіль, а ПЛР і секвенування підтвердили наявність гена *blaNDM-1*. Це було перше повідомлення про варіант NDM-1 у регіональних закладах охорони здоров'я для хворих із гострими захворюваннями, що викликає серйозне занепокоєння щодо збільшення резистентності до протимікробних препаратів. Цікаво, що ендемічною карбапенемазою для цієї місцевості була КРС, тож дане дослідження підкреслює циркуляцію вірулентного клону, який раніше не ідентифікували в цій області [52].

Також присутність ферментів NDM фіксувалась і у *A. baumannii*, ізольованих у різних частинах світу, таких як Іран, Китай, Туніс, Саудівська Аравія та Ліван [53]. При вивченні резистентності цього збудника було виявлено, що, окрім продукції β -лактамаз, для *Acinetobacter baumannii* характерний механізм резистентності, пов'язаний з ефлюксом. Методом ПЛР було ідентифіковано гени *adeA* та *adeS*. Зокрема, 6,6% ізолятів містили лише ген *adeA*, ген *adeS* спостерігався у 8,4% ізолятів, а обидва гени були виявлені у 73,4% зразків. Цей факт знову звертає увагу на множинність причин антибіотикорезистентності, оскільки ефлюкс обумовлений наявністю кількох генів одночасно, як і здатність до продукції β -лактамаз. Проте, зважаючи на високу стійкість *A. baumannii* до антибіотиків та значну поширеність генів ефлюксних насосів *adeA* і *adeS* в ізолятах цього збудника, можна зробити висновок, що саме цей механізм резистентності відіграє важливу роль у стійкості мікроорганізмів до протимікробних препаратів [54].

Сучасні дослідження здебільшого фокусуються на молекулярних механізмах резистентності. Використання геноміки та метагеноміки дозволяє вивчати механізми стійкості на глибшому рівні, а також визначати гени, відповідальні за передачу резистентності між бактеріями.

Один із молекулярних підходів до вивчення та ідентифікації механізмів резистентності є ПЛР-аналіз в реальному часі з метою виявлення генів, що кодують карбапенемази (IMP, NDM, VIM, KPC та OXA-48). Для підтвердження позитивних результатів використовувався аналіз кривої плавлення. Для генів, що кодують IMP

і VIM потрібно кілька наборів праймерів через варіабельність генів. Один набір праймерів для OXA-48 може не виявляти рідкісні варіанти. Метод показує 100% чутливість і специфічність [55].

Ще одним із ключових інструментів дослідження антибіотикорезистентності є високопродуктивне секвенування, яке дозволяє ідентифікувати гени стійкості до антибіотиків та аналізувати їхню передачу між різними патогенами.

Крім того, на сьогоднішній день все ширше застосовуються сучасні технології, такі як CRISPR і метагеномний аналіз. CRISPR-технології дозволяють проводити таргетне редагування геномів бактерій для дослідження функцій генів, пов'язаних із резистентністю, а метагеномний аналіз забезпечує комплексне вивчення генетичного матеріалу у зразках, зокрема ідентифікацію бактерій, які неможливо виростити в лабораторних умовах. Ці методи сприяють розробці нових стратегій боротьби з антибіотикорезистентністю [56].

Проте Laborda P та Hernando-Amado S звертають увагу на те, що аналізуючи гени резистентності (наприклад, за допомогою ПЛР або метагеноміки короткого зчитування) у матрицях навколишнього середовища без достовірної інформації про хазяїна складно надати кількісну оцінку будь-якому ризику передачі. Здебільшого це пов'язано з тим, що більшість генів резистентності зустрічаються в різних контекстах і в різних господарях, багато з яких не становлять прямої клінічної загрози (без горизонтального перенесення генів). Послідовність тривалого читання може подолати деякі, але не всі, з цих обмежень. Зрозуміти вірогідність ризику передачі набагато простіше з даних, заснованих на культивуванні, хоча такий збір даних може мати дещо вищі витрати та обмежується культивованим мікроорганізмом. Враховуючи сильні та слабкі сторони даних методик, наразі автори рекомендують поєднання культуральних підходів та підходів, незалежних від культивування, оскільки високоспецифічні методи селективної ізоляції видів, відмінних від *Escherichia coli*, у змішаних стічних водах наразі обмежують деякі розширення підходу, заснованого на культивуванні [57].

1.4. Біоплівка як основна форма існування бактерій

Бактеріальні біоплівки є найпоширенішою формою існування бактерій та причиною терапевтичних невдач у лікуванні інфекційних захворювань. Ця структура захищає бактеріальні клітини від впливу антибіотиків, імунної системи макроорганізму та низки інших зовнішніх факторів. Дослідження показують, що біоплівки в 10–1000 разів толерантніші до антимікробних обробок, ніж клітини планктону [58]. Біоплівки зазвичай зустрічаються на поверхні медичних інструментів, слизових оболонках, ранових поверхнях тощо. Практично всі бактерії здатні до різної інтенсивності біоплівкоутворення [59]. Бактеріальні біоплівки зазвичай визначаються як фіксовані мікробні спільноти, що оточені матриксом з позаклітинних полімерних речовини. Ця форма існування бактерій характеризується необоротною адгезією мікробних клітин до поверхонь, субстратів або один до одного, міцною вбудованістю у полімерний матрикс та демонстрацією специфічних фенотипів з точки зору транскрипції генів і швидкості росту. Бактеріальна біоплівка може складатися як з одного виду мікроорганізмів, так і з асоціації бактерій, грибів, архей, найпростіших і дріжджів. Наприклад біоплівки, що утворюються на поверхні зубів можуть включати понад 500 різних видів бактерій [60, 61].

Матрикс біоплівки має каналну структуру, яка контролює виділення газів, поживних речовин та антимікробних сполук, і складається з екзополісахаридів, позаклітинної ДНК та позаклітинних білків. Екзополісахариди забезпечують міцну та липку основу для формування біоплівки, служачи каркасом для інших компонентів матриксу [62]. Вони можуть синтезуватися як внутрішньоклітинно, так і позаклітинно і зазвичай представлені манозою, галактозою, N-ацетилглюкозаміном і фруктозою [63]. Відомо що позаклітинна ДНК вивільняється через регульований клітинний аутоліз, активну секрецію або горизонтальний перенос генів та відіграє значну роль у формуванні структури біоплівки [64] і у захисті бактерій від впливу антибіотиків [65, 66]. Крім того, доведено, що до складу матриксу може входити не лише бактеріальна позаклітинна ДНК, а й ДНК макроорганізму, яка може походити, наприклад, від нейтрофілів, що

накопичуються у вогнищі запалення [67]. В свою чергу позаклітинні білки, які присутні на зовнішній поверхні бактеріальної клітини, є будівельним матеріалом для формування біоплівки [68]. Наряду з ними існують і позаклітинні білки, наприклад, амілоїди Far у *P. aeruginosa*, надмірна експресія яких може призвести до збільшення інтенсивності утворення біоплівок і агрегації клітин. Крім безпосереднього утворення біоплівки, позаклітинні білки також допомагають агрегації, прикріпленню та групуванню бактеріальних клітин [69].

Разом з тим, вільно плаваючі (планктонні) бактеріальні клітини також можуть утворювати агрегати, які демонструють подібні характеристики до біоплівок, пов'язаних із медичними пристроями [70].

Також відомо, що мікроорганізми можуть адгезуватися на поверхнях практично всіх медичних пристроїв, що призводить до проявів девайс-асоційованих інфекцій. Такі стани часто є хронічними та зберігаються навіть після курсу антибіотикотерапії [71]. Зазвичай інфікування виникає під час встановлення медичного пристрою і зумовлене власною мікрофлорою пацієнта. Саме тому в більшості випадків патогенез девайс-асоційованих інфекцій пов'язаний зі складними мікробними асоціаціями, які прикріплюються до поверхонь пристроїв і ростуть на них. Кількість видів мікроорганізмів, що входять до складу біоплівки, залежатиме від типу пристрою та тривалості його функціонування в тілі пацієнта [72].

Найпоширенішими мікроорганізмами, що викликають інфекції, пов'язані із використанням медичних пристроїв, є *Staphylococcus aureus* і *Staphylococcus epidermidis*. Проте мультирезистентні грамнегативні бактерії (наприклад, *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Pseudomonas aeruginosa* та *Acinetobacter baumannii*) також можуть спричиняти девайс-асоційовані інфекції, і в даному випадку мова йде про внутрішньолікарняне інфікування [73].

Крім колонізації медичних приладів, мікроорганізми можуть адгезуватися на різних поверхнях тіла людини (наприклад, шкірі, ендотелії судин, слизовій оболонці кишківника, ротової порожнини, дихальних шляхів, тощо), що, у свою

чергу, призводить до інфекційного запалення та порушення функції органів та їх систем [74].

Бактеріальні біоплівки високо структуровані, функціональні, специфічні та скоординовані. Різні речовини в біоплівках поєднуються між собою для виконання певних видів життєдіяльності, таких як морфологічне різноманіття, адгезія та захисна бар'єрна функція.

Відчуття кворуму – це процес, за допомогою якого бактерії синтезують невеликі молекули, відомі як аутоіндуктори, які пасивно або активно вивільняються в позаклітинний простір. Ці молекули накопичуються позаклітинно, і їх концентрація сприймається бактеріями через спеціальні рецептори. Після досягнення порогової концентрації аутоіндуктори запускають каскади сигнальної трансдукції, які добре описані у багатьох видів бактерій, і регулюють такі процеси, як утворення біоплівки, вірулентність, стійкість і спороутворення [75].

Переважаюча функціональна інтерпретація визначення кворуму стверджує, що бактерії беруть участь у вивільненні та сприйнятті аутоіндукторів для моніторингу щільності популяції. Це гарантувало б, що окремі бактеріальні клітини виявляють регульовані кворумом ознаки лише тоді, коли існує достатньо велика кількість інших бактерій, які також мають їх прояви (звідси термін «кворум»). Однак це пояснення ґрунтується на двох передумовах, які були оскаржені у світлі накопичення доказів щодо різноманітності та складності систем визначення кворуму.

Перша передумова полягає в тому, що вигода, яку отримує окрема клітина від вираження регульованої ознаки кворуму, зростає з щільністю популяції. Є докази цієї ідеї в системах, де кворум зондування контролює виробництво «суспільних благ» (наприклад, позаклітинних протеаз). У цьому контексті секреція дорогих молекул є більш ефективною, якщо інші клітини ведуть таку саму поведінку, і, отже, користь від регуляції цих ознак зростає зі збільшенням кількості клітин [76]. Друга передумова полягає в тому, що бактерії можуть надійно оцінити щільність популяції, відчуваючи локальні концентрації аутоіндуктора. Це припущення було помітно оскаржено дослідженнями в різних системах визначення кворуму, які

продемонстрували, що зв'язок між щільністю клітин і концентрацією автоіндукторів може залежати від умов навколишнього середовища. Найвідомішим фактором навколишнього середовища, що опосередковує цей зв'язок, є дифузія позаклітинного середовища. Наприклад, при достатньо низькій дифузії концентрації аутоіндуктора можуть призвести до того, що для індукції визначення кворуму буде достатньо однієї клітини [77]. Таким чином, дифузію можна вважати головним функціональним фактором визначення кворуму. Однак варто враховувати й інші фактори, такі як рН, кисень і вплив протимікробних препаратів, які також впливають на регулювання цього процесу [78].

1.5. Заходи, спрямовані на подолання антибіотикорезистентності

У звіті «Global Action Plan on Antimicrobial Resistance», опублікованому ВООЗ, розглянуто глобальні заходи, спрямовані на боротьбу з антимікробною резистентністю (AMR). Головна мета плану полягає в тому, щоб зменшити вплив AMR на глобальному рівні через скоординовані дії в різних секторах охорони здоров'я, сільського господарства та довкілля.

Основні заходи щодо подолання антибіотикорезистентності:

1. Покращення обізнаності та розуміння антибіотикорезистентності. Освітні кампанії для населення та медичних працівників спрямовані на підвищення рівня обізнаності про раціональне використання антибіотиків і наслідки їх неправильного застосування.

2. Нагляд та дослідження. Одним із ключових заходів є розвиток глобальної системи моніторингу та нагляду за поширенням антибіотикорезистентності, що дозволяє ефективніше реагувати на спалахи стійких до антибіотиків інфекцій.

3. Оптимізація використання антимікробних препаратів. Важливою стратегією є впровадження програм контролю за призначенням та використанням антибіотиків як у людській, так і у ветеринарній медицині. Це допомагає зменшити випадки безпідставного застосування ліків, що сприяє розвитку резистентності.

4. Інвестиції в наукові дослідження. Розвиток нових діагностичних інструментів, методів лікування і вакцин відіграє важливу роль у боротьбі з

резистентними інфекціями. ВООЗ закликає до підвищення інвестицій у дослідження нових антибіотиків.

5. Міжнародна співпраця. План закликає до скоординованих зусиль між країнами для боротьби з AMR, включаючи обмін даними та спільні заходи з моніторингу та зменшення поширення резистентних бактерій.

Цей план є фундаментом для глобальної співпраці у вирішенні проблеми AMR і закликає до негайних дій для запобігання загрозам, які вона становить для громадського здоров'я [79]

Відкриття нових класів антибіотиків, здатних подолати механізми резистентності, на жаль, було зупинене на десятиліття. За останні роки процес розробки нових антибактеріальних засобів майже повністю зосередився на модифікації існуючих хімічних каркасів, таких як β -лактами, макроліди або тетрацикліни. Такий підхід дозволяє створювати препарати, які можуть тимчасово подолати деякі форми резистентності, але не здатні вирішити проблему глобально. Крім того, цей шлях має свої обмеження, адже еволюція резистентності у патогенів відбувається значно швидше, ніж вдається розробити нові варіації старих хімічних структур. Таким чином, сучасна фармацевтична наука опинилася у складній ситуації: ресурси витрачаються на вдосконалення існуючих препаратів, але цей підхід виявляється недостатнім, щоб випередити швидкість адаптації бактерій. Це створює потребу у принципово нових терапевтичних стратегіях, які виходили б за межі традиційного підходу до розробки антибіотиків. Нові методи повинні враховувати складність і швидкість еволюційних процесів у патогенів, а також включати інноваційні технології для подолання резистентності [80].

Серед різних бактерій з'являється стійкість навіть до найпотужніших класів антибіотиків, що робить терапію ненадійною, дорожчою або навіть неефективною, роблячи антибіотикорезистентність однією з головних проблем охорони здоров'я 21 століття. Крім того, висока вартість резервних антибіотиків ще більше загострює проблеми, з якими стикаються постачальники медичних послуг [81]. У 2021 році ВООЗ оновила класифікацію антибіотиків AWaRe; це включало вісім резервних антибіотиків для лікування мультирезистентних патогенів. Він містить

цефідерокол, цефтазидим + авібактам, колістин, фосфоміцин, лінезолід, меропенем + ваборбактам, плазмоміцин і поліміксин В [82]. Однак їх обмежена кількість і високі ціни перешкоджають їх доступності, особливо в умовах конфлікту з обмеженими ресурсами. Цей дефіцит ефективних антибіотиків ускладнює лікування травм, пов'язаних з бойовими діями, ставлячи під загрозу і без того нестабільні результати для здоров'я пацієнтів.

Разом з тим, систематичний огляд, що проводився в PubMed і Scopus для оцінки механізмів резистентності, поширеності гетерорезистентності та появи резистентності до цефідероколу *in vivo* під час лікування, повідомляє, що різні механізми, які зазвичай діють узгоджено, надають резистентність до цефідероколу: β -лактамази (особливо варіанти NDM, KPC і AmpC, що надають резистентність до цефтазидиму/авібактаму, OXA-427 і ESBL типу PER і SHV) , поринові мутації та мутації, що впливають на рецептори сидерофора, ефлюксні насоси, і цільової (ПБП-3) модифікацій. Спільна експресія множинних β -лактамаз, часто в поєднанні з дефектами проникності, здається, є основним механізмом резистентності [83].

Багато робіт присвячено пошуку комбінацій АМП між собою та іншими речовинами задля посилення дії перших на резистентні мікроорганізми. Множинна лікарська стійкість є надзвичайно серйозною проблемою сучасної медицини і широко поширена як серед грамнегативних, так і серед грампозитивних бактерій. Вона значно ускладнює лікування багатьох інфекцій, роблячи традиційні антибіотики малоефективними або зовсім неефективними. У зв'язку з цим виникає необхідність у розробці нових підходів до лікування, зокрема у створенні окремих лікарських засобів або комбінацій препаратів, які демонструють активність проти широкого спектра мікроорганізмів. Особливу увагу привертають комбінації препаратів, здатні синергічно підсилювати антимікробну дію один одного.

Перед впровадженням таких нових комбінацій у клінічну практику вони мають бути ретельно протестовані в лабораторних умовах (*in vitro*) та в експериментальних системах для підтвердження їхньої активності та оцінки потенційної токсичності. Такий підхід дозволяє не лише оцінити ефективність

препаратів, але й уникнути небажаних побічних ефектів, які можуть виникнути під час їх використання на людях.

Також досліджено взаємодію полікатіонних пептидів із макролідними антибіотиками, які розглядаються як потенційно нові антимікробні агенти. Взаємодія між пептидами та антибіотиками відкриває перспективу створення нових засобів протимікробної терапії. Попри те, що припущення про механізми дії таких пептидів залишаються гіпотетичними, їх потенціал як компонентів комбінованої терапії є очевидним. Однак наразі бракує клінічних доказів, які б підтверджували ефективність таких комбінацій у лікуванні інфекцій.

Водночас, дані, отримані в цьому дослідженні, демонструють внутрішню антибактеріальну активність полікатіонних пептидів, а також їхню здатність взаємодіяти з макролідами у синергічний спосіб. Це підтверджує гіпотезу про те, що такі пептиди можуть стати цінними ад'ювантами у протимікробній хіміотерапії. Синергія, яка спостерігається в деяких комбінаціях, дозволяє не лише підсилити ефективність терапії, але й знизити дозування окремих препаратів, що може сприяти зменшенню токсичних ефектів та уповільненню розвитку резистентності. Це дозволить розширити арсенал засобів боротьби з мультирезистентними бактеріями та підвищити ефективність лікування інфекцій, які важко піддаються терапії традиційними методами [84].

Відомо, що використання антимікробних агентів у комбінації може спричинити синергійний ефект, якщо кожен із компонентів впливає на окрему мішень або сигнальний шлях із відмінним механізмом дії. Завдяки цьому комбінації лікарських засобів здатні забезпечити значно вищу ймовірність та вибірковість терапевтичних відповідей у порівнянні з використанням окремих препаратів. Такі підходи дозволяють не лише підвищити ефективність лікування, але й знизити ризики розвитку резистентності через комбінований вплив на мікроорганізм.

У систематичному огляді «Combination Strategies of Different Antimicrobials: An Efficient and Alternative Tool for Pathogen Inactivation» автори докладно аналізують комбіновані ефекти різних антимікробних засобів, серед яких рослинні

екстракти, ефірні олії та наноматеріали. Особливу увагу приділено не лише їхній антимікробній активності, але й механізмам дії, можливій токсичності, а також перспективам подальшого використання таких засобів у комбінованій терапії. Аналіз таких комбінацій підтверджує, що вони здатні значно підсилювати терапевтичний ефект навіть при використанні менших концентрацій кожного з компонентів. Це дозволяє знизити загальну токсичність терапії та зменшити ризик розвитку побічних реакцій.

Синергійний ефект від комбінованого використання двох або більше препаратів досягається, коли вони впливають на різні біологічні мішені чи процеси, наприклад, порушують синтез клітинної стінки та впливають на метаболізм або механізми передачі сигналів у мікроорганізмах. У разі правильного підбору пропорцій компонентів такі комбінації здатні ефективно знищувати патогени, які демонструють стійкість до одного або кількох окремих препаратів. Це особливо важливо в контексті боротьби з мультирезистентними мікроорганізмами, які представляють значний виклик для сучасної медицини.

Крім того, застосування антимікробних комбінацій дозволяє розширити спектр активності препаратів. Наприклад, використання рослинних екстрактів або ефірних олій у комбінації з традиційними антибіотиками може не лише посилити їхню дію, але й сприяти зниженню дозування основного препарату. Це, у свою чергу, знижує ймовірність токсичних ефектів та уповільнює розвиток резистентності. Автори огляду також наголошують, що використання наноматеріалів у комбінації з антибіотиками є перспективним напрямком, оскільки такі матеріали здатні покращувати проникнення препарату в клітину мікроорганізму або впливати на мікробні матрикси, наприклад, біоплівки.

При правильному виборі синергічних комбінацій терапевтичний ефект може бути посилений навіть у випадках, коли окремі компоненти мають помірну або низьку активність. Використання таких стратегій може стати простою, ефективною та економічно вигідною альтернативою для вирішення глобальної проблеми антибіотикорезистентності. Окрім того, комбінації лікарських засобів здатні забезпечити довгостроковий позитивний ефект, оскільки знижують ризик

виникнення стійких форм мікроорганізмів за рахунок комбінованої дії на різні біологічні мішені.

Отже, впровадження комбінованих підходів у терапію інфекційних захворювань відкриває нові перспективи для підвищення ефективності лікування, зниження чутливості до окремих препаратів та уповільнення поширення антибіотикорезистентності. Це підкреслює необхідність подальших досліджень і розробки оптимальних схем комбінованої терапії, які зможуть стати важливим інструментом у боротьбі з сучасними інфекційними викликами [85].

Комбінації антибіотиків широко вивчаються як альтернативна стратегія боротьби з метаболічно неактивними клітинами (персистерами) у складі біоплівки; отже, вони заслуговують на подальше дослідження їх впливу на кількість персистерних клітин, які часто є джерелом гетерорезистентності та причиною рецидиву інфекції. Було досліджено фракційні інгібіторні концентрації різних комбінацій антибіотиків, таких як ципрофлоксацин-даптоміцин, ципрофлоксацин-ванкоміцин, даптоміцин-тобраміцин і тобраміцин-ванкоміцин (метод шахової дошки) визначали порівняно з двома попередньо вивченими клінічними (S48 і J6) та одним стандартним (NCIM 5021) ізолятом *Staphylococcus aureus*. Вони продемонстрували синергійний ефект зі зниженням МІК від 2 до 256 разів. Усі комбінації антибіотиків, крім ципрофлоксацин-даптоміцин, показали загальне інгібування біоплівки при 100-кратному МІК. Подібним чином комбінація антибіотиків при 100X МІК показала 77–97% руйнування попередньо сформованих біоплівок. Аналіз часу знищення, проведений при комбінації 100X МІК проти клітин у стаціонарній фазі, показав зниження КУО на два-шість $\log_{10}$ з наступним плато, що вказує на наявність персистерів [86].

Проте, незважаючи на різноманіття можливих комбінацій, в Україні останнім антибактеріальним агентом вибору для лікування інфекцій, що викликані мультирезистентними грамнегативними мікроорганізмами залишається колістину метансульфонат (МСК) (також відомий як колістиметат натрію та поліміксин Е), який є вдосконаленою версією колістину сульфату [87, 88]. МСК, як правило, вважається «слабким антибіотиком» з низькою бактерицидною активністю та

клінічною невдачею 79% проти чутливих до колістину штамів через 14 днів і 43% смертністю через 28 днів [89]. Однак МСК має перевагу у зниженні токсичності для нирок порівняно з колістину сульфатом, що дозволяє використовувати вищі концентрації та подолати низьку біодоступність активної форми колістину. Збільшення дози МСК може підвищити рівні колістину в сироватці до ~6 мг/л [90, 91], але межа мінімальної інгібуючої концентрації для грамнегативних бактерій, що мають фенотип чутливості до колістину становить 2 мг/л, а дозування МСК, які зазвичай використовуються, мають неоптимальний максимум співвідношення сироваткова концентрація (C_{max}) /МІК. Альтернативою підвищенню C_{max} є використання комбінацій антибіотиків, таких як колістин-карбапенем, колістин-тигекілін і колістин-аміноглікозид, які є більш ефективними проти карбапенемазопродукуючих грамнегативних мікроорганізмів, ніж монотерапія [92, 93].

Однак, як вже зазначалось раніше, не всі комбінації антибіотиків мають фармацевтичний сенс, це зумовлює необхідність додаткових тестів для виявлення потенційної синергічної активності. Крім того важливо зважати саме на можливість отримати цей ефект у фізіологічно доступних концентраціях. Для диско-дифузійного методу визначення чутливості до протимікробних препаратів Кірбі-Бауера [94, 95], який можна розширити для виявлення синергічної дії між антибіотиками [96, 97, 98], використовуються колонії, що вирости на поверхні агару. Саме тому цей метод не зможе точно відображати фізіологічний та метаболічний стан рідкої культури (планктонних) бактеріальних клітин, і тим більше, бактерій, що адгезовані на поверхні і знаходяться у стані біоплівки. Формування біоплівки лежить в основі виживання та персистенції багатьох патогенів, забезпечуючи фенотипову резистентність або нечутливість до антибіотикотерапії, навіть коли немає генетичного підґрунтя резистентності [99, 100].

Однак є деякі повідомлення про антимікробні засоби, такі як азитроміцин, які здатні пригнічувати процеси біоплівкотворення у *Pseudomonas aeruginosa*, але цей ефект неможливо спостерігати на агаризованих колоніях або бульонних культурах

[101, 102, 103]. Це свідчить про нові терапевтичні можливості для лікування захворювань, викликаних мультирезистентними грамнегативними бактеріями. Разом з тим рибосомні мутації в ізолятах *Pseudomonas aeruginosa*, ізольованих від пацієнтів з муковісцидозом здатні забезпечувати високий рівень резистентності до макролідів. Існує дослідження, яке доповнює наявні докази того, що макроліди активні проти *P. aeruginosa* і потенційно можуть бути корисним пероральним варіантом лікування, оскільки єдиною іншою пероральною альтернативою для терапії пацієнтів з *P. aeruginosa* наразі є фторхінолони. Також макроліди можна розглядати як альтернативний варіант лікування інфекцій, спричинених іншими грамнегативними бактеріями, резистентними до антибіотиків [104].

K. pneumoniae і *P. aeruginosa* мають деякі загальні характеристики, включаючи здатність утворювати біоплівки, а також подібні механізми стійкості до макролідів [105]. Тому можна зробити припущення, що азитроміцин або інші макроліди, які не діють проти бульонних або агаризованих культур *K. pneumoniae* [106], натомість можуть бути ефективними проти цього збудника у його біоплівковій формі. Відомо, що здатність утворювати біоплівки поширена серед ізолятів *K. pneumoniae* (наприклад, 63–94%) [107, 108], а мультирезистентність та утворення біоплівки є непов'язаними між собою процесами [109]. Крім того, спираючись на літературні дані, є вірогідність того, що азитроміцин або інші макроліди, діючи як терапевтичний засіб проти біоплівки, можуть підвищити бактерицидну ефективність МСК у комбінованій терапії, оскільки було показано, що макроліди посилюють МСК проти *K. pneumoniae* і *P. aeruginosa* [110].

Також було розглянуто терапевтичний потенціал комбінованої терапії азитроміцин і міноциклін проти MDR *A. baumannii*. Результати цієї роботи мають знайти продовження у клінічному дослідженні, оскільки було виявлено, що ці два препарати взаємодіють синергійно проти MDR *A. baumannii* за всіх умов і моделей, розглянутих у цьому спостереженні. Автори стверджують, що це явище може поширюватися на інші резистентні збудники неспецифічних гнійно-запальних уражень, зокрема мультирезистентні *K. pneumoniae* та MRSA. Важливою є потенційна можливість сумісного впливу на мікроорганізми міноцикліну також з

іншими макролідами. Тим не менш, оскільки обидва препарати (і азитроміцин, і міноциклін) вже схвалені FDA, доступні для використання та знайомі клініцистам, зумовлює високий потенціал для клінічних випробувань для визначення ефективності комбінованої терапії *A. baumannii* за допомогою цієї комбінації [111].

Проаналізовані роботи спонукають до більш детального вивчення комбінаторного впливу антибіотиків на мікроорганізми. Спираючись на літературні джерела нами було обрано дві комбінації азитроміцин-меропенем та азитроміцин-колістин для подальшого вивчення сумарної дії цих препаратів на клінічні ізоляти *K. pneumoniae* з множинною резистентністю.

РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ ТА МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ

У даному розділі наведено опис методик та методів, які використано для успішного вирішення поставлених завдань та аналізу отриманих результатів. Відповідно до визначених завдань було застосовано ряд мікробіологічних, мікроскопічних та молекулярно-генетичних методів дослідження, а для обробки отриманих результатів – методи статистичного аналізу. Для вирішення поставлених завдань було проведено ретроспективне дослідження етіологічної структури та поширеності провідних збудників інфекційних ускладнень у хворих хірургічного профілю, а також досліджено їх біологічні властивості. Вивчено ефективність сучасних антимікробних препаратів в умовах *in vitro*, встановлено геномну характеристику антибіотикорезистентних мікроорганізмів (визначення генів антибіотикорезистентності), досліджено ефективність окремих комбінацій антимікробних засобів щодо антибіотикорезистентних штамів. Проведена робота складалася з рутинної мікробіологічної частини, виконаної на базі бактеріологічного відділу централізованої клініко-діагностичної лабораторії Київської обласної клінічної лікарні, та експериментальної частини, яку було проведено на кафедрі мікробіології та паразитології з основами імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця МОЗ України.

2.1. Матеріал для дослідження

Матеріалом для дослідження слугував патологічний вміст хірургічних ран, промивні води трахей та бронхів, спинномозкова рідина та кров, отримані на різних етапах захворювання від пацієнтів хірургічного профілю КНП КОР «Київська обласна клінічна лікарня» у період 2018–2022 років. Весь клінічний матеріал відбирався в рамках рутинного мікробіологічного дослідження в ЗОЗ та не використовувався в подальшому для дисертаційного дослідження.

Вміст ран відбирався стерильним аплікатором із транспортним середовищем Amies. Промивні води та спинномозкова рідина відбиралися у стерильні флакони і пробірки та негайно транспортувалися до мікробіологічної лабораторії із збереженням температурного режиму. Зразки крові відбиралися на двофазне

середовище, що складалося із МПА та МПБ, які містили 5% глюкози. Середовище готувалося у лабораторії.

2.2. Поживні середовища

Під час досліджень використовували стандартизовані сухі та готові до використання поживні середовища промислового виробництва: поживний бульйон для культивування мікроорганізмів «HiMedia» (Індія), поживний агар для культивування мікроорганізмів «HiMedia» (Індія), тіогліколеве середовище з резазурином «Biolife» (Італія), агар Мюллера-Хінтона «HiMedia» (Індія), бульйон Мюллера-Хінтона «HiMedia» (Індія), агар Сабуро «Biolife» (Італія), середовище Ендо «Biolife» (Італія), 5% кров'яний агар «GRASO» (Польща), шоколадний агар «GRASO» (Польща), 1% глюкозний бульйон «HiMedia» (Індія), транспортне середовище Amies «БіоТесМед» (Україна). Приготування та використання середовищ здійснювали з дотриманням усіх умов і термінів зберігання, зазначених виробником.

2.3. Виділення мікроорганізмів з клінічного матеріалу

Первинний посів біоматеріалу виконувався класичним методом Голда для сечі та модифікованим методом «тампон-бактеріологічна петля» для матеріалу, відібраного ватним тампоном [112].

Для виділення мікроорганізмів використовували селективні та елективні поживні середовища. Матеріал висівали на щільні поживні середовища, зокрема 5% кров'яний агар, шоколадний агар, агар Ендо, агар Сабуро, а також вносили в цукровий бульйон для накопичення біомаси. Кожні 24 години з бульйону здійснювали повторний пересів і культивували мікроорганізми в термостаті за температури 37°C за звичайних атмосферних умов.

З отриманих культур готували мазки та фарбували їх за Грамом для визначення морфологічно-тинкторіальних властивостей мікроорганізмів.

2.4. Ідентифікація ізольованих штамів мікроорганізмів.

Виділені мікроорганізми ідентифікували за морфологічними, тинкторіальними, культуральними та біохімічними ознаками відповідно до загальноприйнятих методів із використанням як ручних, так і автоматизованих способів, керуючись ознаками, наведеними у визначнику бактерій Берджі [113, 114, 115].

Ідентифікацію ентеробактерій проводили на основі загальноприйнятих методів після первинного росту культури на середовищі Ендо. Належність ізольованих мікроорганізмів до родини *Enterobacteriaceae* підтверджували на основі грамнегативності, відсутності цитохромоксидази (оксидазний тест), результатів каталазного тесту та окислювально-ферментативного тесту Х'ю-Лейфсона для визначення біохімічних реакцій з вуглеводами. Видову ідентифікацію здійснювали за здатністю ізолятів до ферментації різних вуглеводів та їх похідних з утворенням кислоти та/або газу (арабіноза, глюкоза, дульцит, інозит, ксилоза, лактоза, маніт, мальтоза, рамноза, рафіноза, саліцин, сахароза та сорбіт), за здатністю до виділення певних ферментів (фенілаланіндезамінази, уреазі, лізиндекарбоксилази, орнітиндекарбоксилази, тест з метиленовим червоним), до утворення індолу та сірководню, а також за показником рухливості [116, 117, 118].

Ідентифікацію неферментуючих аеробних грамнегативних бактерій *P.aeruginosa* підтверджували шляхом проведення оксидазного тесту, визначення здатності рости на ацетамідному агарі, утворювати пігмент піоціанін, окислювати глюкозу до глюконової кислоти лише в аеробних умовах, а також рости при 42°C.

Ідентифікацію неферментуючих аеробних грамнегативних бактерій *Acinetobacter* spp. підтверджували шляхом культивування на кров'яних і сироваткових середовищах, а також на поживних середовищах без добавок нативного білка, проведення оксидазного тесту, визначення здатності до ферментації манітолу, оцінки показника рухливості, утворення сірководню та індолу, а також синтезу аргініндекарбоксилази та уреазі [119].

Ідентифікація стафілококів. Орієнтовні дані про належність культури до *Staphylococcus* spp. отримували шляхом аналізу колоній, що вирости після посіву вихідного матеріалу на селективне середовище для стафілококів – маніто-жовтково-сольовий агар. Для оцінки гемолітичної активності ізоляти висівали на кров'яний агар. Первинну ідентифікацію виду здійснювали за допомогою тесту на плазмокоагулазу, лецитовітелазу та визначення здатності ферментувати маніт в анаеробних умовах [120].

Ідентифікація ентерококів. Для виділення ентерококів використовували колумбійський агар, на якому оцінювали гемолітичну активність культур, та селективні середовища – ентерокок агар та жовчно-ескуліновий агар з азидом натрію. Після огляду мікроскопічних препаратів, забарвлених за методом Грама, виконували тест на каталазу та здійснювали подальшу ідентифікацію з допомогою приладу VITEK®2 compact 15 (BIOMÉRIEUX, Франція).

Автоматизовану ідентифікацію мікроорганізмів здійснювали за допомогою мікробіологічного аналізатора VITEK®2 compact 15 (BIOMÉRIEUX, Франція), призначеного для ідентифікації мікроорганізмів та визначення їхньої чутливості до антибіотиків. Цей прилад дозволяє оцінювати здатність мікроорганізмів до розщеплення різних речовин та їхню ферментативну активність за 45 біохімічними тестами. Визначення видової належності здійснювали шляхом порівняльного аналізу отриманих результатів з існуючою базою даних. Ця база містить інформацію про типові біохімічні реакції мікроорганізмів, що мають клінічне значення. У проведеному дослідженні оцінювали здатність мікроорганізмів розщеплювати, ферментувати та утилізувати різні речовини. При ідентифікації грамнегативних мікроорганізмів визначали їхню активність щодо таких субстратів: Ala-Phe-Pro-аріламідаса, адонітол, L-пірролідон-аріламідаса, L-арабіт, D-целобіоза, β-галактозидаза, продукція H₂S, β-N-ацетилглюкозамінідаза, глутамілариламідаса pNa, D-глюкоза, γ-глутамілтрансфераза, зброджування глюкози, β-глюкозидаза, D-мальтоза, D-маніт, D-маноза, β-ксилозидаза, β-аланінариламідаса, L-пролінариламідаса, ліпаза, палатиноза, тирозинариламідаса, уреаза, D-сорбіт, сахароза, D-тагалоза, D-трегалоза, цитрат (натрію), малонат, 5-кето-D-глюконат, L-

лактат (підлучування), альфа-глюкозидаза, сукцинат, β -N-ацетилгалактозамінідаза, альфа-галактозидаза, фосфатаза, гліцинариламідаса, орнітиндекарбоксилаза, лізиндекарбоксилаза, контроль декарбоксилази, L-гістидин (асиміляція), кумарат, β -глюкуронідаза, стійкість до O/129 (вібріостатичний агент), Glu-Glu-Arg-ариламідаса, L-малат, еламан, L-лактат. Для визначення грампозитивних мікроорганізмів використовували такі тести: D-амігдалин, фосфатидилінозитфосфоліпаза C, D-ксилоза, аргініндигідролаза 1, β -галактозидаза, α -глюкозидаза, Ala-Phe-Pro-ариламідаса, циклодекстрин, L-аспартатариламідаса, β -галактопіранозидаза, α -манозидаза, фосфатаза, лейцинариламідаса, L-пролінариламідаса, β -глюкуронідаза, α -галактозидаза, L-піролідоніл-ариламідаса, аланінариламідаса, тирозинариламідаса, D-сорбіт, уреаса, стійкість до поліміксину В, D-галактоза, D-рибоза, L-лактат, лактоза, N-ацетил-D-глюкозамін, D-мальтоза, стійкість до бацитрацину, стійкість до новобіоцину, ріст при 6,5% NaCl, D-маніт, D-маноза, метил- β -D-глюкопіранозид, пуллуан, D-рафіноза, стійкість до K O/129, саліцин, сахароза, D-трегалоза, аргініндигідролаза 2, стійкість до оптохіну.

Під час проведення експериментальних досліджень, зокрема ідентифікації мікроорганізмів та визначення їхньої чутливості до протимікробних препаратів, готували суспензії мікроорганізмів із певною концентрацією бактеріальних клітин. Визначення та контроль концентрації приготовлених суспензій здійснювали за допомогою детектора каламутності суспензій (денситометра) відповідно до стандарту McFarland (McF) «DEN-1» (Biosan, Латвія), керуючись інструкцією виробника.

2.5. Визначення чутливості ізолюваних мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів

Дослідження основних біологічних властивостей ізолюваних мікроорганізмів включало оцінку їхньої чутливості до широкого спектра антимікробних препаратів. Це дозволило на наступних етапах провести порівняльний аналіз, визначити основні тенденції та оцінити поширення мікроорганізмів із різним ступенем

антибіотикорезистентності. Вибір антибіотиків для дослідження базувався на рекомендаціях EUCAST (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing, Breakpoint Tables for Interpretation of MICs and Zone Diameters) для відповідних груп мікроорганізмів. Починаючи з 2021 року, ці рекомендації є основою для визначення чутливості мікроорганізмів до протимікробних препаратів у закладах охорони здоров'я України [121]. Для визначення чутливості мікроорганізмів застосовували стандартні диски з антибіотиками виробництва ТОВ «Фармактив» (Київ, Україна), HiMedia® (Індія) та Liofilchem S.r.l. (Італія).

Визначення чутливості до протимікробних препаратів проводили для ізолюваних та ідентифікованих чистих культур мікроорганізмів, попередньо виділених на щільних поживних середовищах.

На різних етапах експериментальних досліджень чутливість клінічних ізолятів бактерій до хіміотерапевтичних препаратів визначали різними методами:

- Диско-дифузійний метод. Виконували відповідно до міжнародних рекомендацій EUCAST. Для проведення тесту використовували агар Мюллера-Хінтона, який підходить для невибагливих мікроорганізмів. Інкубацію проводили при температурі 35°C за звичайних атмосферних умов протягом 18–24 годин. Вимірювання зон пригнічення росту на МХА здійснювали у відбитому світлі. Чашку Петрі з закритою кришкою розташовували догори дном над темною матовою поверхнею на відстані 30 см від очей.
- Визначення мінімальної інгібуючої концентрації (МІК). Проводили ручним методом серійних розведень (мікрометод) відповідно до загальноприйнятих рекомендацій [122]. Для досліджуваних культур також визначали мінімальну інгібуючу концентрацію із використанням автоматичного бактеріологічного аналізатора VITEK®2 compact 15 (BIOMÉRIEUX, Франція).

В окремих випадках для визначення ступеня та профілів резистентності ізолюваних мікроорганізмів в окремих випадках використовували класифікацію, запропоновану міжнародною дослідницькою групою [123]. Штами, що проявляли

резистентність хоча б до одного антибіотика з трьох різних груп, віднесено до мультирезистентних мікроорганізмів (MDR – multidrug-resistant). Штами, що виявили стійкість до ≥ 1 препарату в усіх, окрім ≤ 2 категорій, були віднесені до штамів з розширеною стійкістю до протимікробних препаратів (XDR – extensively drug-resistant). Штами бактерій, що були нечутливими до всіх рекомендованих антимікробних препаратів, віднесено до штамів з повною лікарською стійкістю (PDR – pandrug-resistant).

Для контролю якості визначення чутливості до антибіотиків використовували референтні штами з колекції типових культур: *Escherichia coli* ATCC 25922, *Pseudomonas aeruginosa* ATCC 27853, *Staphylococcus aureus* ATCC 29213, *Enterococcus faecalis* ATCC 29212. Результати визначення чутливості контрольних штамів мікроорганізмів співвідносили з відповідними показниками рекомендацій EUCAST «Поточний та розширений внутрішній контроль якості визначення МІК та диско-дифузійного методу».

2.6. Фенотипове визначення механізмів антибіотикорезистентності

Знання про механізми резистентності, наявні у певного бактеріального ізоляту, є надзвичайно важливими, оскільки вони визначають не лише лікувальну тактику, а й здатність бактерії виживати та поширюватися в навколишньому середовищі.

Скринінг наявності окремих механізмів резистентності (продукція ESBL та карбапенемаз) у клінічних ізолятів *K.pneumoniae* проводили з використанням наступних підходів:

- **Хромогенні середовища.** Визначення продукції β -лактамаз розширеного спектру (ESBL) та карбапенемаз (KPC) здійснювали з використанням хромогенного агару Chromagar KPC / Chromagar ESBL («GRASO», Польща). Інтерпретацію отриманих результатів проводили після 24-годинної інкубації при температурі 37 °C відповідно до інструкції виробника.

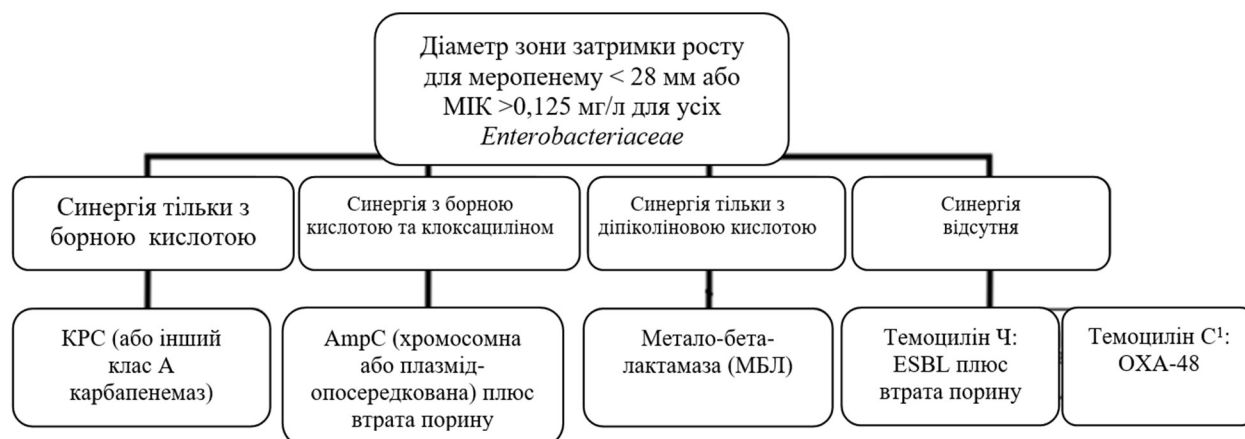
- **Метод інактивації карбопенемів (CIM-тест) [124].** Принцип даного методу полягає у виявленні ферментативного гідролізу карбапенему під час його спільної

інкубації з бактеріальною суспензією. Для проведення CIM-тесту як субстрат карбапенемів використовували стандартні комерційні диски для визначення чутливості до антибіотиків (HiMedia, 10 мкг/диск). Після двогодинної спільної інкубації диска меропенему з дослідною бактеріальною культурою при 35 °C диск витягували з пробірки та розміщували на агарі Мюллера-Хінтона, попередньо інокульованому *Escherichia coli* ATCC 25922. Інкубацію продовжували при 35 °C ще протягом 6 годин. Якщо відбулася ферментативна інактивація меропенему, зона затримки росту навколо диска була відсутня. Наявність зони затримки росту свідчило про відсутність карбапенемази у досліджуваного штаму, оскільки гідроліз меропенему не відбувся.

Метод комбінованих дисків [125, 126, 127]. Тест ґрунтується на тому, що металоферменти (метало- β -лактамази, які кодуються генами *blaVIM* та *blaNDM*) інгібуються дипіколіновою кислотою (ДПК) та етилендіамінтетраоцтовою кислотою (ЕДТК), тоді як ферменти класу А (серинові, наприклад *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase, KPC) інгібуються амінофенілбороною кислотою (АФБК). Ізоляти з комбінованою втратою порину та гіперпродукцією AmpC також інгібуються АФБК, але демонструють синергічний ефект із клоксациліном. Тестування на синергію з клоксациліном додатково дозволяє відрізнити продуцентів KPC від ізолятів з гіперпродукцією AmpC у поєднанні з втратою порину. Визначення чутливості до темоциліну проводили у випадках відсутності синергії для диференціації між ізолятами з ESBL у поєднанні з втратою порину та ізолятами, що продукують ферменти типу OXA-48.

Для проведення тесту на синергію нічну культуру досліджуваного штаму суспендували до каламутності, що відповідає McFarland № 0,5. Після цього отриману суспензію культури використовували для посіву на середовище Мюллера-Хінтона згідно з вимогами EUCAST. Після підсихання середовища на його поверхні розташовували диск з меропенемом (10 мкг, HiMedia) та диски з різними інгібіторами на відстані 10 мм один від одного та від краю. Після інкубації протягом ночі наявність збільшеної зони інгібування інтерпретувалася як позитивний тест на синергію.

Інтерпретацію щодо фенотипового визначення механізмів резистентності проводили згідно зі схемою, зображеною на рис. 2.6.1.



¹ Високий рівень стійкості до темоциліну (> 128 мг / л, діаметр зони < 11 мм) є фенотипічним маркером OXA-48

Рис. 2.6.1 – Алгоритм виявлення механізмів резистентності [128]

2.7. Виявлення генетичних детермінант антибіотикорезистентності

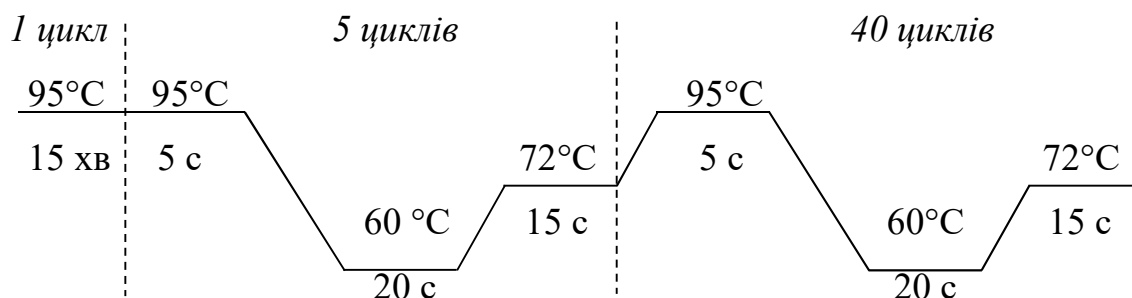
Серед ізольованих клінічних штамів *K. pneumoniae*, які проявляли фенотипові ознаки антибіотикорезистентності, проводили подальше молекулярно-генетичне дослідження, що передбачало ідентифікацію генів *blaNDM-1*, *blaVIM*, *blaKPC* та *blaOXA-48*, які кодують один із механізмів стійкості до карбапенемів. Визначення зазначених генів здійснювали методом полімеразної ланцюгової реакції (ПЛР), а детекцію продуктів ампліфікації проводили режимі реального часу та в окремих випадках підтверджували за допомогою електрофорезу в агарозному гелі.

Для реалізації поставленого завдання готували добову культуру певного мікроорганізму, після чого здійснювали її концентрування шляхом центрифугування при 6000 g протягом 15 хвилин на центрифугу Eppendorf 5424 Microcentrifuge (Eppendorf, Hamburg, Germany). З отриманого концентрату бактеріальних клітин виділяли ДНК за допомогою набору реагентів, наданих ТОВ «УкрМедСпілка» (Київ, Україна), відповідно до інструкції виробника. Виділення нуклеїнових кислот ґрунтувалося на класичному методі сорбції на силікагелі за методикою Boom [129]. Екстракцію ДНК з кожного ізоляту здійснювали в присутності внутрішнього контрольного зразка та проводили у кілька послідовних

етапів: спочатку до пробірки з осадом бактеріальних клітин, попередньо видаливши надосадову рідину, додавали лізуючий розчин та інкубували суміш протягом 5 хвилин при 65°C; далі додавали силікат кремнію для зв'язування ДНК із сорбентом, після чого комплекс сорбент–ДНК тричі промивали відмивними розчинами, здійснюючи після кожного кроку центрифугування протягом 1 хвилини при 12 000 об/хв; по завершенні промивання комплекс сорбент–ДНК висушували при 65°C протягом 10 хвилин, після чого додавали елюючий буфер і витримували при кімнатній температурі протягом 2 хвилин. Після центрифугування відбирали надосадову рідину, що містила очищену ДНК.

Постановку ПЛР у режимі реального часу здійснювали на ампліфікаторі Rotor-Gene Q (Corbett Life Sciences, Австралія). Для ідентифікації генів стійкості до карбапенемів, зокрема метало- β -лактамаз груп NDM, VIM, а також карбапенемаз груп KPC та OXA-48, використовували комерційні набори реагентів, надані ТОВ «УкрМедСпілка» (Київ, Україна).

Програма ампліфікації включала в себе наступні етапи:



Детекція флуоресцентного сигналу призначається по чотирьох каналах – для флуорофорів FAM, JOE, ROX та Cy5.

2.8. Приготування колагенизованої пластикової поверхні

Ателопептиди колагену I типу виділяли з телячих сухожиль шляхом ферментативного розщеплення вихідної сировини пепсином за методикою, описаною Zeugolis et al. [130], після чого їх ліофілізували та зберігали при –20°C до подальшого застосування. Для обробки поверхні пластику використовували розчин ателоколагену у кінцевій концентрації 1 мг/мл на 0,5 М оцтовій кислоті. Розчин наносили на поверхню та інкубували протягом 18–24 годин при +4°C, після чого

надлишок розчину видаляли, а поверхню двічі промивали фосфатно-сольовим буфером з рН 7,4.

2.9. Оцінка здатності досліджуваних ізолятів до адгезії біоплівки на полістирольній поверхні без та у присутності колагенового шару

Здатність проявляти стійкість до дії широкого спектра антимікробних препаратів підвищується у бактерій, які утворюють біоплівки. Біоплівкоутворювальні властивості клінічних ізолятів *K. pneumoniae* досліджували за допомогою спектрофотометричного методу відповідно до рекомендацій George A. O'Toole [131]. Суть обраного методу полягала у дослідженні здатності бактерій утворювати біоплівки на полістиролових 96-лункових плоскодонних планшетах із подальшим забарвленням 0,1%-м розчином генціанового фіолетового.

Нічні планктонні культури досліджуваних ізолятів культивували за умов інтенсивної аерації струшуванням при 37°C у триптоно-соєвому бульйоні (HiMedia). Суспензії нічних культур розбавляли свіжим середовищем у співвідношенні 1:100. Приготовлені розчини культур об'ємом 200 мкл вносили у кожен лунку стерильного полістиролового 96-лункового планшета (Thermo Fisher Scientific), використовуючи чотири повтори для кожного варіанту. Біоплівки вирощували протягом 24 годин при 37°C, після чого їх тричі промивали зануренням планшета у воду та акуратним струшуванням рідини. Цей етап допомагає видалити неприєднані клітини та компоненти середовища, які можуть бути пофарбовані на наступному етапі, що значно знижує фонове забарвлення. Далі біоплівки, що утворилися на поверхні, фарбували 0,1%-м розчином генціанового фіолетового з 15-хвилинною експозицією. Наприкінці планшет тричі промивали зануренням. Барвник елюювали 96%-м етиловим спиртом, після чого визначали оптичну густину (OD) при довжині хвилі 630 та 570 нм на спектрофотометрі MR-96A (Mindray, Китай). Інтенсивність біоплівкоутворення оцінювали за величиною відносного показника оптичної густини. Для інтерпретації отриманих даних визначали критерії здатності штамів формувати біоплівки відповідно до рекомендацій Bui LMG et al. [132]:

$$\text{Значення біоплівки} = (\text{Дослід OD}_{630/570 \text{ nm}} - \text{Контроль OD}_{630/570 \text{ nm}})$$

Середнє значення OD	Адгезія	Формування біоплівки
< 0.1	Відсутня	Відсутнє/Слабке
0.1-0.2	Помірна	Помірне
> 0.2	Сильна	Сильне

2.10. Статистична обробка даних

Експерименти проводили з повторами та даними, що досліджувалися за допомогою статистичного програмного забезпечення JMP v12 (SAS Institute Inc.). Для дослідження впливу обробки на відносне зростання планктону, біоплівки та інгібування колоній був використаний підхід до моделювання змішаних ефектів. Метод з обмеженою максимальною ймовірністю (RML) з необмеженими компонентами дисперсії був використаний з експериментальним повторенням, включеним як випадковий ефект у всіх моделях, а також антибіотиками, концентраціями антибіотиків, типом штаму (MDR та не-MDR) та штамом, вкладеним за типом (штам [тип]), як фіксовані ефекти. Моделі запускали ітеративно, перевіряючи залишки та видаляючи викиди, доки нормальність не була досягнута, як це визначено тестами Шапіро-Вількса ($p < 0,05$). Надійність моделі відстежувалася за допомогою RSquare і збереження ступенів свободи з обмеженими діапазонами концентрацій, щоб уникнути особливостей. Ефекти та взаємодії були досліджені за допомогою методів найменших квадратів (LSMeans) Різниці Student і Tukey HSD-тестів (альфа = 0,05).

Для наочності, окремі моделі зі змішаним ефектом були запущені з концентрацією антибіотиків як ефект для диференціації обробки, а результати тестів LSMeans Tukey HSD показані на малюнках. Виявлено певні труднощі при аналізі даних відносного інгібування для окремих штамів з використанням підходу моделювання зі змішаними ефектами, де нормальність не вдалося досягти (деякі дані були надто дискретними), а один штам був випущений із моделі комбінованого змішаного впливу, оскільки не було жодних змін у відносному пригніченні концентрацій АЗМ. Для деяких підходів загального лінійного

моделювання (GLM) виявився успішним з урахуванням повторів і концентрації антибіотиків як ефектів. Однак два штами не могли бути проаналізовані за допомогою GLM або односторонньої ANOVA, тому відмінності між ключовими методами лікування досліджували за допомогою тестів Вілкоксона (суми за рейтингом) з використанням одностороннього тесту наближення Chi-Square. Rho використовували для перевірки кореляції між відносним діаметром інгібування та концентрацією антибіотика. Подібності в ефектах макролідів та реакції штамів на антибіотики були візуалізовані за допомогою ієрархічного кластерного аналізу з використанням методу Уорда та з однаковими вагами факторів. Тест Chi-Square був використаний для перевірки незалежності кластерів HCA та типів штамів MDR та не-MDR (iCalcu.com).

РОЗДІЛ 3. ВИДОВИЙ СКЛАД І БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ ВІД ПАЦІЄНТІВ РЕАНІМАЦІЙНОГО ТА ХІРУРГІЧНИХ ВІДДІЛЕНЬ КНП КОР «КОКЛ»

3.1. Аналіз видового спектру мікроорганізмів, виділених із біоматеріалу пацієнтів стаціонарних відділень КНП КОР «КОКЛ»

Пацієнти реанімаційних та хірургічних відділень належать до груп високого ризику розвитку інфекцій, викликаних мікроорганізмами з множиною резистентністю. Це пов'язано з проведенням інвазивних процедур, тривалим перебуванням у стаціонарі, широким та часто емпіричним застосуванням антибіотиків широкого спектру дії. В результаті формуються сприятливі умови для відбору та поширення мультирезистентних штамів бактерій. Саме тому важливим є проведення постійного моніторингу змін видового складу мікроорганізмів, що є етіологічними чинниками інфекційних ускладнень, а також визначення їх чутливості до протимікробних препаратів. Систематичне відстеження цих процесів дає можливість своєчасно коригувати схеми емпіричної антибіотикотерапії, впроваджувати заходи посиленого інфекційного контролю та ізоляції пацієнтів, а також оптимізувати використання антимікробних препаратів у лікарні.

У ході роботи було проведено ретроспективний аналіз поширеності мікроорганізмів, виділених від пацієнтів реанімаційного та хірургічних відділень КНП КОР «Київська обласна клінічна лікарня». Аналізувалися дані мікробіологічних досліджень, починаючи з моменту запровадження в лабораторії методології тестування чутливості мікроорганізмів до протимікробних препаратів згідно з рекомендаціями EUCAST (2018–2019 рр.), два роки періоду пандемії COVID-19 (2020–2021 рр.) та протягом двох років повномасштабного вторгнення РФ на територію України й активних бойових дій.

Мікроорганізми були виділені з різних видів клінічного матеріалу: крові, хірургічних ран, спинномозкової рідини, мокротиння, промивних вод трахеї та бронхів, слизу з мигдаликів, сечі та вмісту кишечника.

Аналіз даних мікробіологічного дослідження зазначеного вище клінічного матеріалу дозволив встановити, що найбільш поширеними мікроорганізмами при інфекційних ускладненнях серед пацієнтів, які перебували на стаціонарному лікуванні в реанімаційному та хірургічних відділеннях, є *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis* (кількість кожного виду — понад 4%). При цьому тенденція поширеності різних мікроорганізмів змінювалася з року в рік. На це могло вплинути різні фактори. Один із них — кількість досліджуваних зразків біоматеріалу, яка варіювала від 2448 зразків у 2018 році до 1092 зразків у 2020 році. Приблизно однакова кількість зразків була досліджена у 2019 та 2023 роках — 1636 та 1600 відповідно. Дещо менша кількість біоматеріалу була досліджена у 2021 та 2022 роках — 1449 та 1298 зразків відповідно було проаналізовано в ці періоди (табл. 3.1.1). Загалом у період початку пандемії та активних бойових дій загальна кількість зразків для мікробіологічного дослідження зменшувалася порівняно з попередніми роками.

Таблиця 3.1.1.

Видовий і кількісний склад бактерій, виділених від пацієнтів реанімаційного та хірургічних відділень у період з 2018 по 2023 роки

Види мікроорганізмів	2018		2019		2020		2021		2022		2023		Разом	
	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%	абс.	%
<i>Staphylococcus epidermidis</i>	331	13,5	235	14,4	123	11,3	81	5,6	64	4,9	127	7,9	961	10,1
<i>Klebsiella pneumoniae</i>	111	4,5	110	6,7	129	11,8	110	7,6	185	14,3	279	17,4	924	9,7
<i>Staphylococcus aureus</i>	209	8,5	129	7,9	106	9,7	102	7,0	99	7,6	139	8,7	784	8,2
<i>Escherichia coli</i>	201	8,2	136	8,3	118	10,8	105	7,2	109	8,4	108	6,8	777	8,2
<i>Pseudomonas aeruginosa</i>	118	4,8	66	4,0	60	5,5	66	4,6	84	6,5	94	5,9	488	5,1
<i>Acinetobacter baumannii</i>	85	3,5	56	3,4	60	5,5	83	5,7	89	6,9	63	3,9	436	4,6
<i>Enterococcus faecalis</i>	73	3,0	27	1,7	16	1,5	23	1,6	39	3,0	48	3,0	226	2,4
<i>Enterococcus faecium</i>	41	1,7	78	4,8	29	2,7	19	1,3	18	1,4	32	2,0	217	2,3
<i>Streptococcus viridans, alpha-hem.</i>	10	0,4	13	0,8	36	3,3	31	2,1	42	3,2	48	3,0	180	1,9
<i>Enterobacter cloacae</i>	80	3,3	22	1,3	8	0,7	17	1,2	13	1,0	34	2,1	174	1,8
<i>Proteus mirabilis</i>	24	1,0	50	3,1	18	1,6	11	0,8	14	1,1	35	2,2	152	1,6

<i>Klebsiella aerogenes</i>	46	1,9	20	1,2	4	0,4	11	0,8	13	1,0	7	0,4	101	1,1
<i>Corynebacterium sp.</i>	0	0,0	0	0,0	0	0,0	8	0,6	17	1,3	19	1,2	44	0,5
<i>Citrobacter freundii</i>	7	0,3	2	0,1	5	0,5	6	0,4	2	0,2	2	0,1	24	0,3
<i>Serratia marcescens</i>	14	0,6	4	0,2	0	0,0	1	0,1	1	0,1	1	0,1	21	0,2
<i>Streptococcus, beta-haem. Group A</i>	2	0,1	2	0,1	3	0,3	1	0,1	1	0,1	4	0,3	13	0,1
Інші	191	7,8	128	7,8	90	8,2	431	29,7	192	14,8	89	5,6	1121	11,8
Мікрофлору не виявлено	905	37,0	558	34,1	287	26,3	343	23,7	316	24,3	471	29,4	2880	30,2
Всього	2448	-	1636	-	1092	-	1449	-	1298	-	1600	-	9523	-

Під час аналізу частоти ізоляції різних видів мікроорганізмів було також встановлено, що протягом усього періоду спостереження співвідношення позитивних і негативних зразків щодо наявності в них мікроорганізмів залишалося відносно сталим. Незначне збільшення частки позитивних зразків реєструвалося, починаючи з 2020 року, в середньому на 10%. Так, у 2018 та 2019 роках цей показник становив 63,03% і 65,89% відповідно, а в період з 2020 по 2023 рік коливався від 70,56% до 76,33% (рис. 3.1.1).

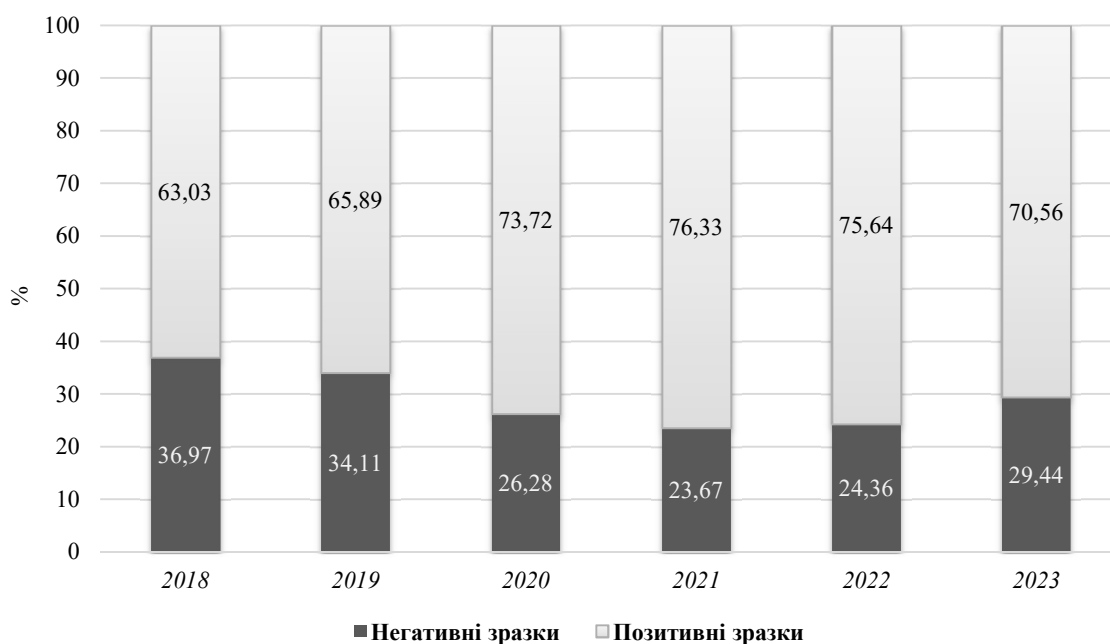
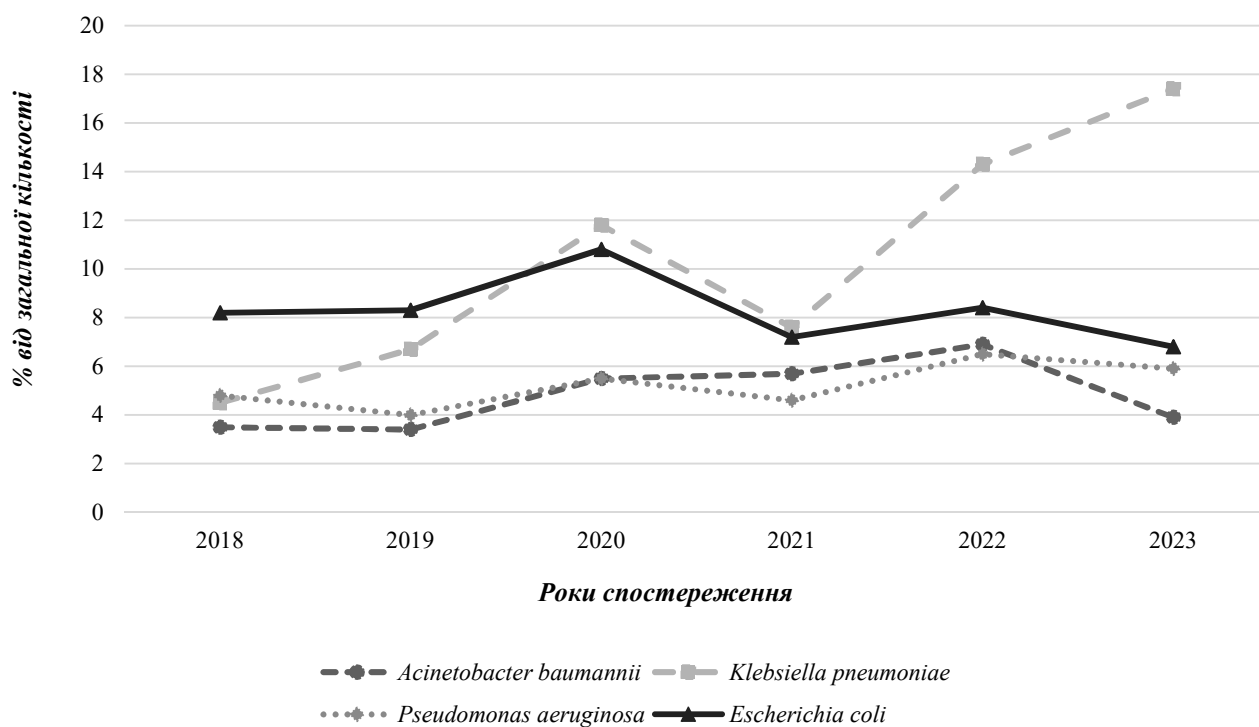


Рис. 3.1.1 – Співвідношення позитивних і негативних зразків біоматеріалу щодо наявності мікроорганізмів від пацієнтів реанімаційного та хірургічних відділень у 2018–2023 роках, %

Крім того, привертає увагу поступове збільшення питомої ваги окремих грамнегативних мікроорганізмів в інфекційній патології людини. Проведений

аналіз дозволив встановити, що найбільшу тенденцію до поширення серед пацієнтів різних профілів демонструвала *K. pneumoniae*. Так, за останні три роки спостереження її кількість зросла зі 110 ізолятів (7,6 % від загальної кількості мікроорганізмів, виділених у цьому році) у 2021 році до 279 ізолятів (17,4 % від



загальної кількості) у 2023 році, що суттєво перевищує темпи поширення всіх інших видів мікроорганізмів (рис. 3.1.2).

Рис. 3.1.2 – Зміна частоти ізоляції грамнегативних мікроорганізмів, з клінічного матеріалу від пацієнтів реанімаційного та хірургічних відділень у період 2018–2023 років

Така ж сама тенденція спостерігається і при аналізі видової структури мікроорганізмів, ізольованих окремо від пацієнтів як реанімаційного, так і хірургічних відділень.

Проведений аналіз дозволяє відзначити суттєве зростання частоти виявлення *K. pneumoniae* у клінічному матеріалі пацієнтів реанімаційного відділення: з 7,1% у 2018 році до 40,4% у 2023 році. У проміжку між цими роками спостерігалось збільшення цього показника до 17,6% у 2019 році, а у 2020 році частка ізольованих *K. pneumoniae* становила 26,7% від усіх мікроорганізмів, виділених від пацієнтів реанімаційного відділення. У 2021 році частота виявлення *K. pneumoniae* дещо

знизилася до 19,2%, але вже у 2022 році знову зросла до 26,4%. Привертає увагу той факт, що *K. pneumoniae* була найбільш поширеним видом бактерій, ізолюваних від пацієнтів реанімаційного відділення у 2020, 2022 та 2023 роках.

Наступним за поширеністю серед пацієнтів реанімаційного відділення мікроорганізмом виявився *A. baumannii*. Частота його виділення поступово зростала з 12,4% у 2018 році до 23,3% у 2021 році. Водночас варто зазначити, що саме цей збудник був найбільш поширеним серед пацієнтів реанімаційного відділення у 2018, 2019 та 2021 роках. У 2022 та 2023 роках спостерігалася зменшення частоти ізоляції *A. baumannii* (від 22% у 2022 році до 6,3% у 2023 році) на тлі збільшення частки ізолюваних *K. pneumoniae*.

Аналогічна тенденція спостерігається і при аналізі поширеності іншого неферментуючого грамнегативного мікроорганізму – *P. aeruginosa*. Частота виявлення цього збудника поступово збільшувалася з 4,7% у 2018 році до 11,9% у 2020 році. Починаючи з 2021 року, простежується тенденція до зменшення відсоткової частки *P. aeruginosa* серед мікроорганізмів, ізолюваних від пацієнтів реанімаційного відділення, з 11,3% у 2021 році до 8,7% у 2023 році. Крім того, привертає увагу той факт, що *P. aeruginosa* була третьою за поширеністю протягом усього періоду спостереження, однак у 2023 році стала другим найбільш розповсюдженим мікроорганізмом після *K. pneumoniae*.

Найменш поширеним грамнегативним мікроорганізмом у реанімаційному відділенні виявилася *E. coli*. Водночас її поширеність також мала тенденцію до зростання – з 2,8% у 2018 році до 6,8% у 2020 році. Впродовж наступних років частка *E. coli* залишалася відносно сталою і становила 6% у 2021 році, 6,5% у 2022 році та 6,3% у 2023 році.

Враховуючи вищезазначене, можна стверджувати про зростання частоти виявлення основних грамнегативних мікроорганізмів серед пацієнтів реанімаційного відділення, починаючи з 2020 року. Відповідно, частка грампозитивних мікроорганізмів поступово зменшувалася. Так, частота виявлення *S. epidermidis* знизилася з 5,3% у 2018 році та 7,4% у 2019 році до 1,7% у 2020 році.

У 2021 році спостерігалось незначне збільшення частки *S. epidermidis* до 4,1%, з подальшим зменшенням до 0,9% у 2022 році та 1,4% у 2023 році.

Аналізуючи частоту виявлення *S. aureus*, можна відзначити стабільну частку ізолятів у 2018, 2019, 2022 та 2023 роках. У цей період відсоток виявлених *S. aureus* коливався від 2,8% у 2018 році до 1,9% у 2023 році. Невелике збільшення кількості цього збудника спостерігалось у 2020 році (3%) та у 2021 році (6%).

Окремої уваги на графіку заслуговує категорія «Інші», яка відображає мікробне різноманіття у даному відділенні. До цієї групи увійшли мікроорганізми, частка яких становила менше 0,5%. Вона представлена такими мікроорганізмами, як *Enterococcus* spp., *Streptococcus* spp., *Enterobacter* spp., *Proteus* spp., *Neisseria* spp., *Corynebacterium* spp., а також окремими видами мікроорганізмів, які зустрічалися одинично.

Таким чином, можна спостерігати суттєве зниження мікробного різноманіття на користь грамнегативних бактерій, починаючи вже з 2020 року (рис. 3.1.3).

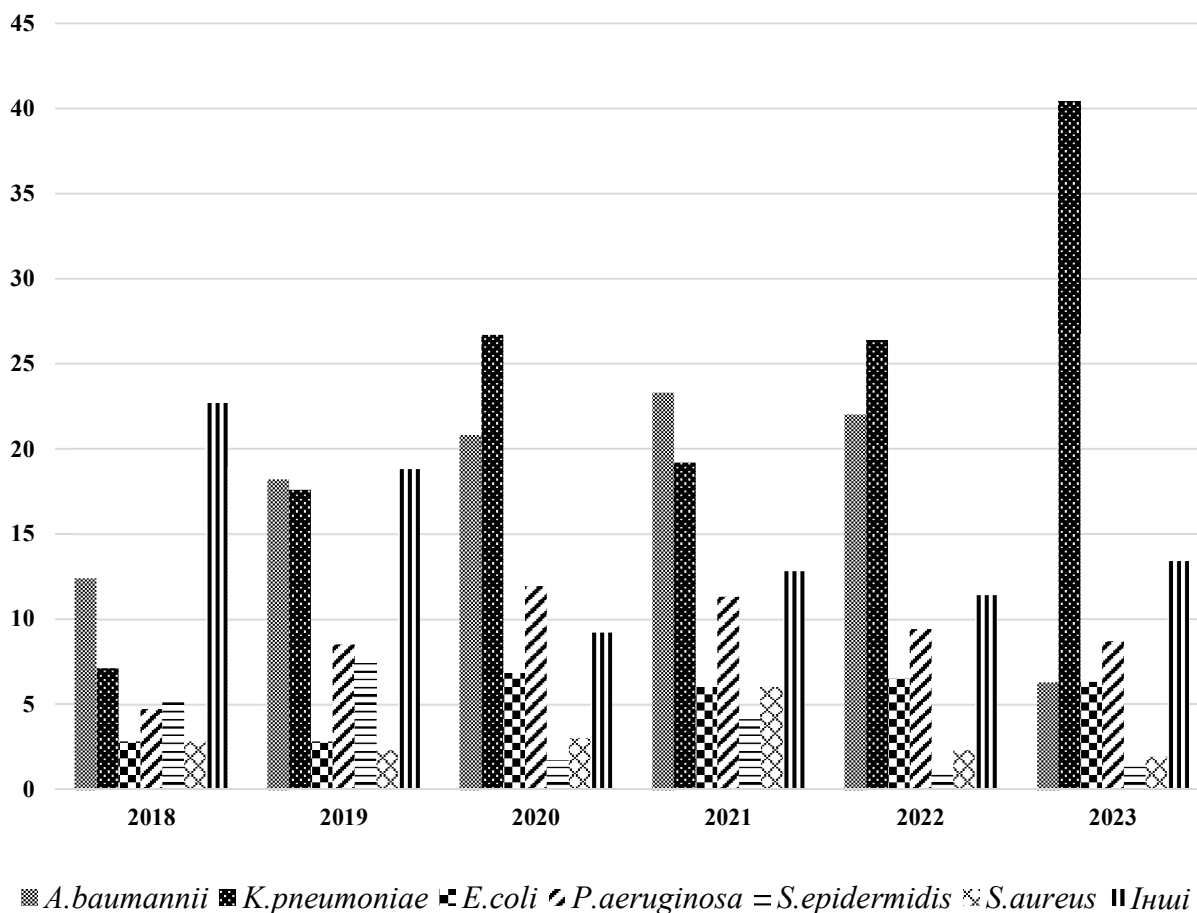


Рис. 3.1.3 – Зміна видової структури мікроорганізмів, ізолюваних від пацієнтів реанімаційного відділення у 2018–2023 роках, (% від досліджених зразків)

Аналіз змін у видовому складі мікроорганізмів, ізолюваних від пацієнтів хірургічних відділень, також демонструє зниження мікробного різноманіття (категорія «Інші») до 19,5% та 21,1% у 2022 та 2023 роках. Водночас, починаючи з 2018 року, цей показник поступово зростав – з 19,5% до 37,7% у 2021 році.

Як і в реанімаційному відділенні, привертає увагу поступова зміна домінування грампозитивної флори на користь грамнегативної. Так, частка *S. epidermidis* у період з 2018 по 2020 роки залишалася відносно стабільною та коливалася в межах 15,2%–13,5%. У 2021 році частота виявлення цього мікроорганізму знизилася до 7,1% і залишалася невисокою у подальші роки спостереження: 7,6% у 2022 році та 8,9% у 2023 році.

Деяка інша тенденція спостерігалася при аналізі поширеності *S. aureus* серед пацієнтів хірургічного відділення. Частота виявлення цього збудника практично не змінювалася протягом досліджуваного періоду, коливаючись у межах 9,5%–8,6%, і лише у 2020 та 2022 роках сягнула 11,3% та 11,4% відповідно.

Крім того, варто зазначити, що у 2022 році *S. aureus* був другим за поширеністю збудником серед пацієнтів хірургічного відділення після *K. pneumoniae*.

Серед грамнегативних мікроорганізмів найменшу частку займали неферментуючі бактерії. Так, частота виявлення *A. baumannii* у 2018 році становила 2,1%, а в наступні роки не перевищувала 2%. Лише у 2023 році цей показник зріс до 3,6%, проте *A. baumannii* залишається найменш поширеним збудником серед тих, що розглядалися окремо.

На відміну від цього, серед штамів *P. aeruginosa*, ізолюваних від пацієнтів хірургічних відділень, спостерігалися коливання частоти виявлення. З 4,8% у 2018 році частка *P. aeruginosa* залишалася стабільною у 2019–2021 роках (3,5–3,6% досліджуваних зразків), після чого відбулося зростання у 2022 та 2023 роках (6,5% та 5,4% відповідно).

Частота виявлення *E. coli* серед пацієнтів хірургічних відділень також залишалася відносно стабільною протягом усього періоду спостереження, за винятком 2023 року. У 2018 та 2019 роках цей показник становив 9%. У 2020 році він досягнув максимального значення (11,6%), проте з 2021 року почалася тенденція до поступового зменшення: 9,5% у 2021 році, 10,9% у 2022 році, а у 2023 році частка *E. coli* була найнижчою за весь період спостереження – 6,8%. Незважаючи на це, *E. coli* у 2023 році залишалася другим за поширеністю збудником серед пацієнтів хірургічних відділень, поступаючись лише *K. pneumoniae*, яка демонструвала чітку тенденцію до зростання протягом усього періоду досліджень.

Так, у 2018 році частка *K. pneumoniae* становила 4,2%, у 2019 – 5,4%. Протягом наступних двох років спостерігалось поступове зростання з незначними коливаннями (7,5% у 2020 році та 6,4% у 2021 році). Проте вже з 2022 року *K. pneumoniae* стала найпоширенішим збудником серед пацієнтів хірургічних відділень: 11,9% у 2022 році та 14% у 2023 році. Це майже на третину перевищує показники грампозитивних збудників та більш ніж удвічі – інших грамнегативних збудників у 2023 році (рис. 3.1.4).

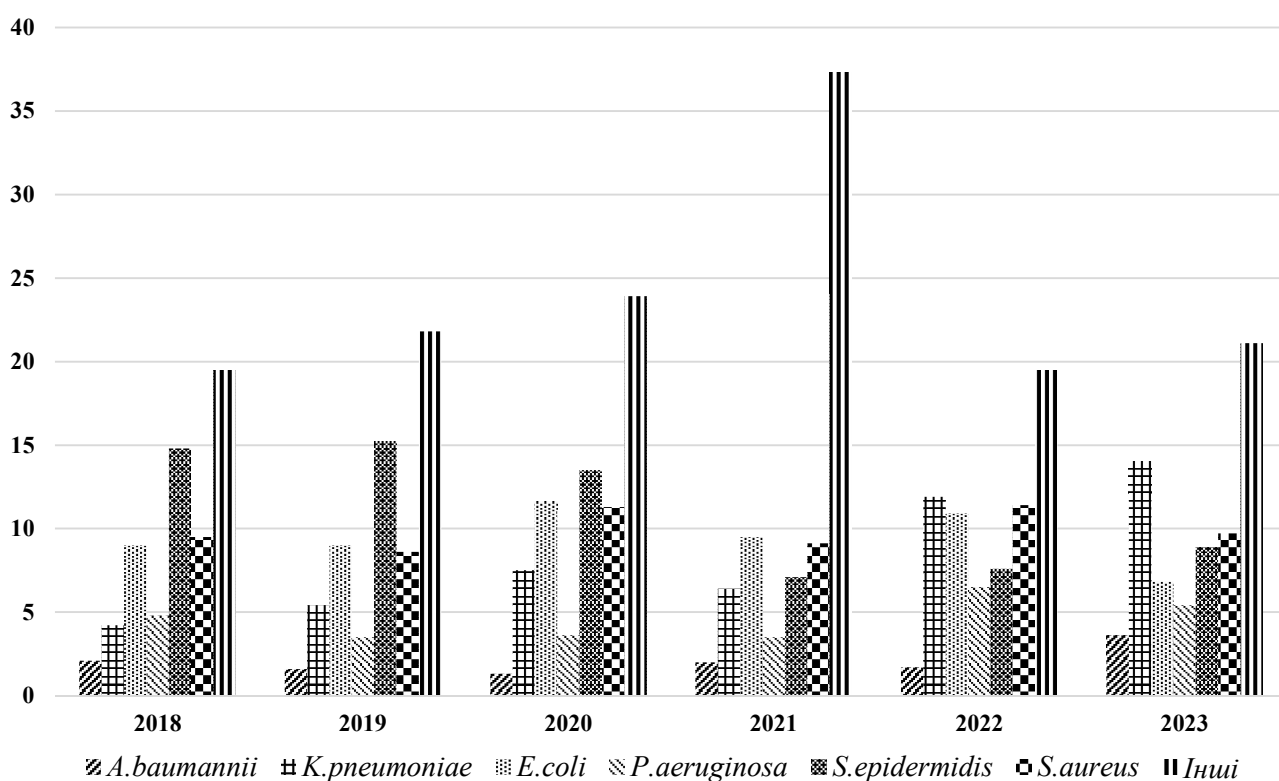


Рис. 3.1.4 – Зміна видового складу мікроорганізмів, ізольованих від пацієнтів хірургічних відділень у 2018–2023 роках, % від досліджених зразків

Цікаво, що саме *K. pneumoniae* демонструє однакову тенденцію до зростання як у реанімаційному, так і в хірургічних відділеннях на тлі зменшення частки грампозитивної флори та загального мікробного різноманіття.

Окремо було проведено порівняльний аналіз ізоляції найпоширеніших збудників із різних біотопів людського організму у 2018 та 2023 роках – першому та останньому роках періоду спостережень.

У 2018 році *A. baumannii* було ізольовано з 9 різних видів біоматеріалу, серед яких промивні води ТБД, носоглотковий слиз, плевральна рідина, сеча, хірургічна рана, кров, ліквор, мазок з вуха та вміст кишківника. Натомість у 2023 році кількість джерел цього збудника зменшилася майже удвічі, і він був ізольований лише з промивних вод ТБД, хірургічних ран, крові, ліквору та сечі.

Звертає на себе увагу, що у 2018 році найбільша кількість *A. baumannii* (44%) була виділена з промивних вод ТБД, в той час як у 2023 році частка цього біоматеріалу зменшилась до 22,4%. Однак у 2023 році 67,1% *A. baumannii* було ізольовано із хірургічних ран, що значно перевищує показник 2018 року (31,9%). Одним із факторів що на це впливає могло стати збільшення навантаження на заклади охорони здоров'я у зв'язку із активними бойовими діями на території України та збільшенням кількості пацієнтів із рановими інфекціями.

Загальна кількість інвазивних ізолятів, виділених з крові та спинно-мозкової рідини, суттєво не змінилась: у 2018 році цей показник становив 6,6% (кров) та 1,1% (ліквор), а в 2023 році – 3,9% та 2,6% відповідно. Також спостерігається незначне зменшення частки *A. baumannii*, ізольованого із сечі пацієнтів, з 4,3% у 2018 році до 3,9% у 2023 році.

Додатково у 2018 році 7,7% ізолятів цього збудника було виявлено з плевральної рідини, а по 1,1% – із вмісту кишківника та мазка з вуха (рис. 3.1.5).

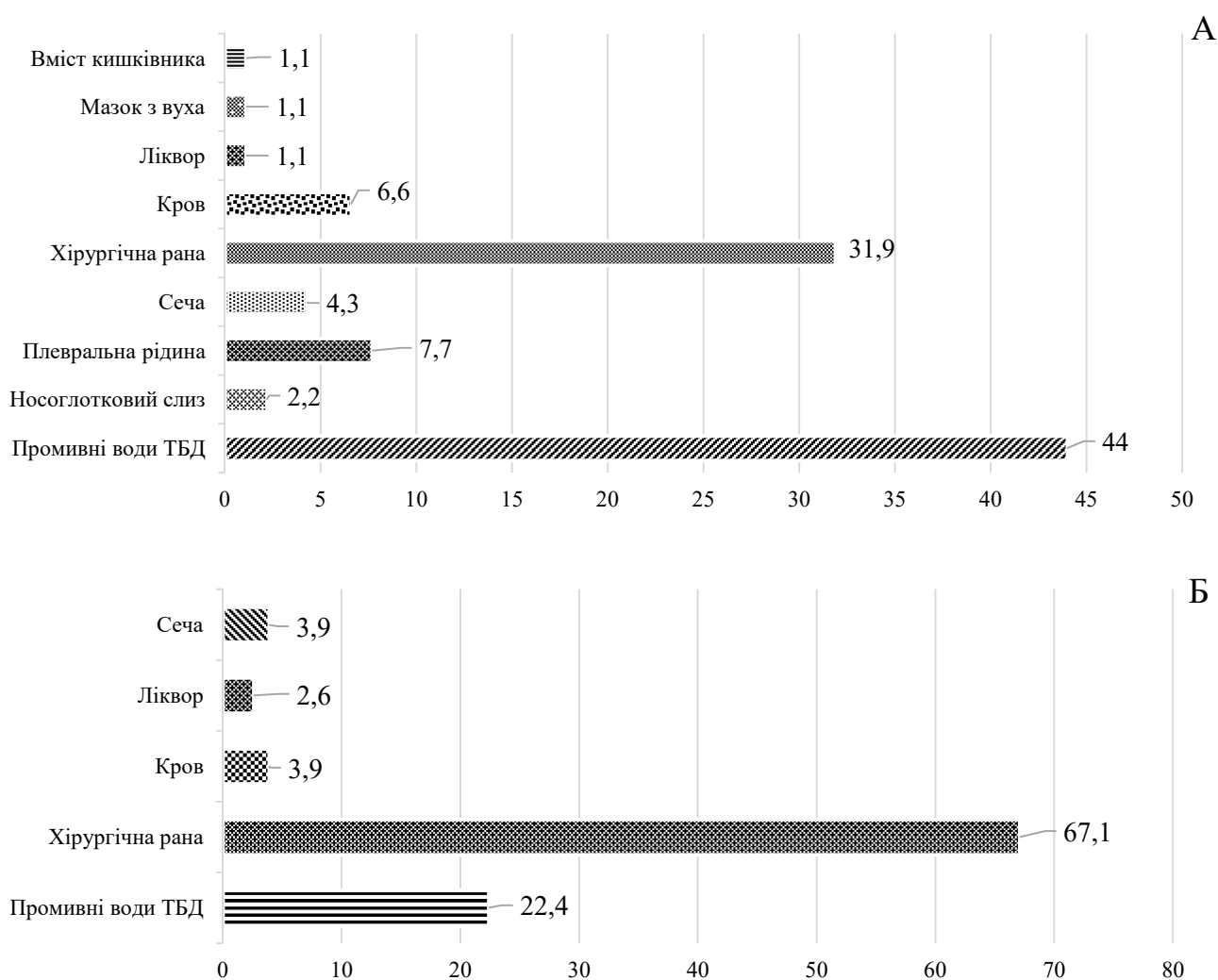


Рис. 3.1.5 – Порівняння ізоляції *A.baumannii* з різних біотопів у 2018 (А) та 2023 (Б) роках, у %

Аналізуючи походження *P.aeruginosa*, було встановлено, що найпоширенішими видами клінічного матеріалу, з яких ізолювали цей збудник, були промивні води ТБД та хірургічні рани. Однак є суттєва різниця у відсотковому співвідношенні по роках. Так, у 2018 році промивні води ТБД слугували джерелом для 40% ізолятів *P.aeruginosa*, тоді як у 2023 році лише 13,9% збудника було виявлено з цього виду біоматеріалу. Одночасно з цим у 2023 році майже на третину збільшилась частота виявлення *P.aeruginosa* з хірургічних ран, і вона становила 62,6% проти 41% у 2018 році. Також вдвічі зросла частота виявлення цього мікроорганізму із сечі — з 6,1% у 2018 до 12,1% у 2023 році. Відсоток інвазивних ізолятів *P.aeruginosa* залишався невеликим і становив 0,9% (спинно-мозкова

рідина) у 2018 році та 2,2% (кров) у 2023 році. Дещо збільшилась кількість ізолятів *P. aeruginosa*, виділених із носоглоткового слизу (з 0,9% у 2018 до 4,4% у 2023), проте ізоляти, що виділені з вуха демонструють протилежну тенденцію (2,6% у 2018 і 1,1% у 2023 роках). Частота виявлення цього збудника в плевральній рідині залишалася майже незмінною і становила 2,6% у 2018 та 2,2% у 2023 роках відповідно (рис. 3.1.6).

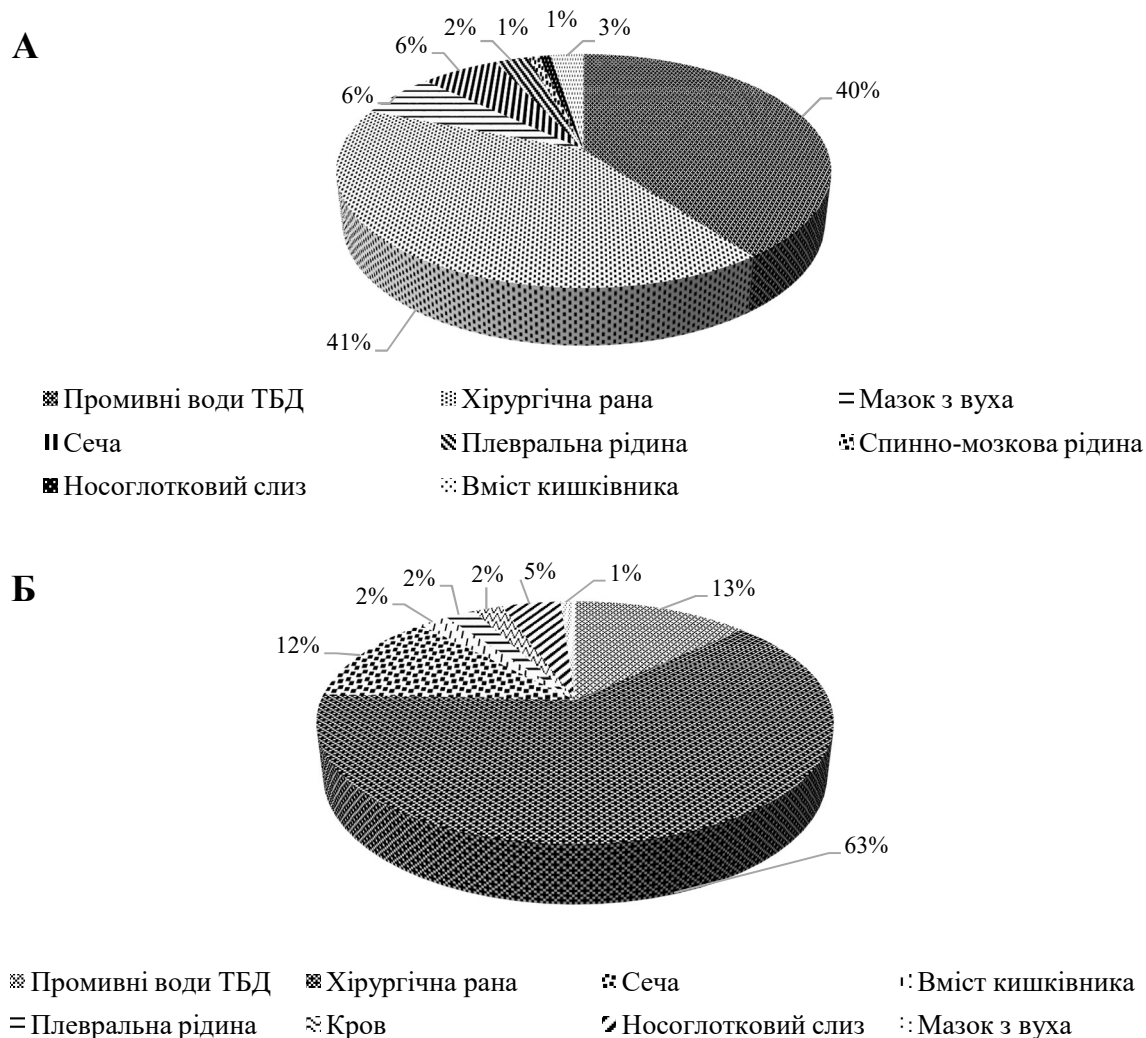
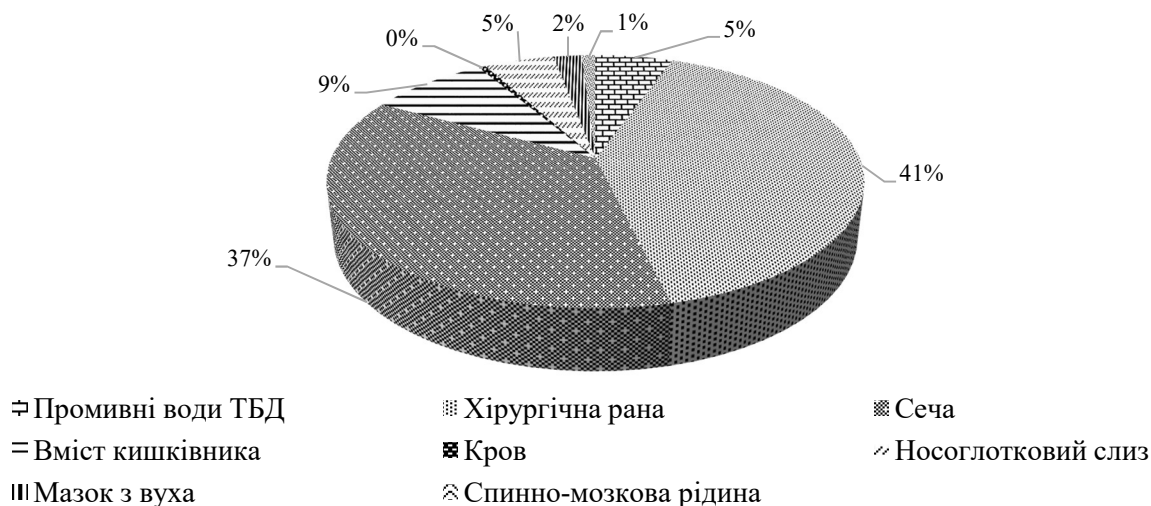


Рис. 3.1.6 – Порівняння походження ізолятів *P.aeruginosa* у 2018 (А) та 2023 (Б) роках, у %

E. coli — ще один з досліджуваних мікроорганізмів, для якого було відмічено зменшення кількості біотопів, звідки він був ізолюваний. Так, у 2018 році цей збудник було виділено з 8 різних локусів, тоді як у 2023 році лише з 5 видів біоматеріалу вдалося ізолювати *E. coli*. У обидва роки найбільша кількість цих

бактерій була виділена з хірургічних ран, причому у 2023 році цей показник збільшився до 55% порівняно з 40,7% у 2018 році. Друга за величиною частка була виділена з сечі, при цьому спостерігається зменшення відсотка ізолятів з 36,7% у 2018 до 28% у 2023 році. Проте *E. coli* стали частіше виділятися з промивних вод ТБД: у 2023 році цей показник становив 14%, тоді як у 2018 — лише 5,5%. Також було виявлено малу частку інвазивних ізолятів: 0,5% з крові та 1% зі спинно-мозкової рідини у 2018 році, і 1% з крові у 2023 році. У 2018 році патогени *E. coli* також були виділені з вмісту кишківника, носоглоткового слизу та мазку з вуха, що склало 8,5%, 5% та 2% відповідно (рис. 3.1.7).

А



Б

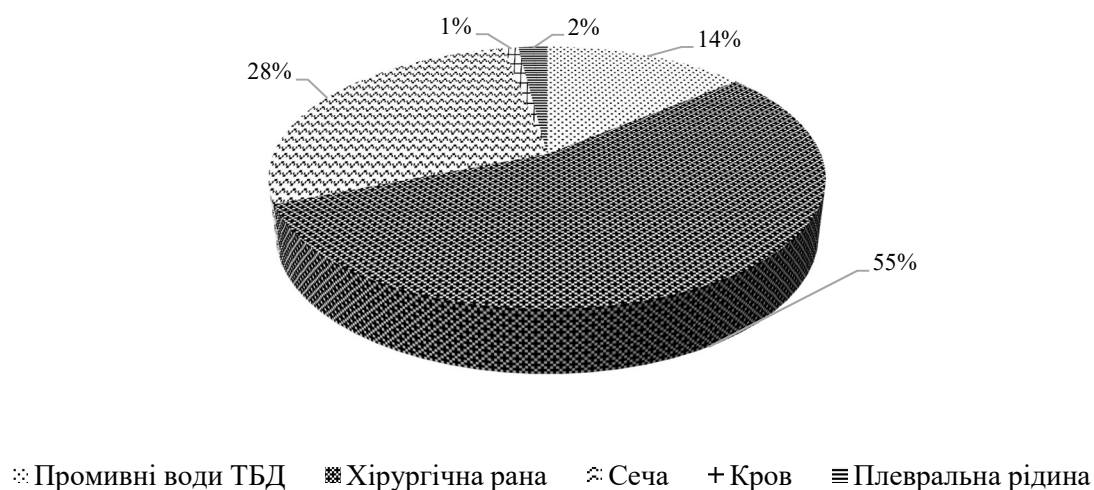
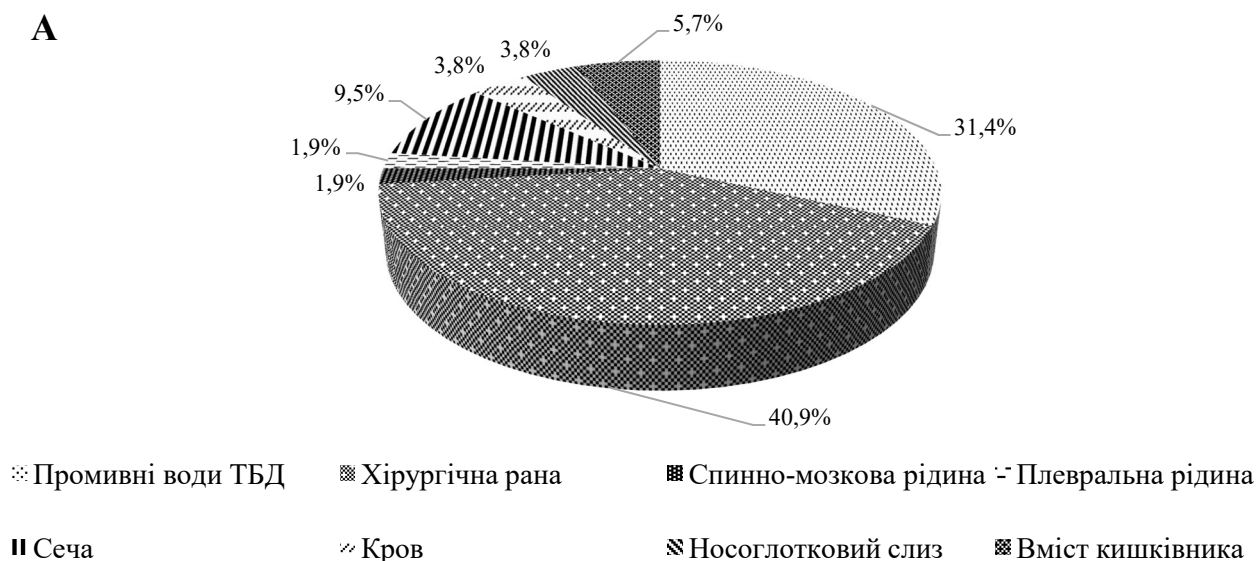


Рис. 3.1.7 – Порівняння походження ізолятів *E. coli* у 2018 (А) та 2023 (Б) роках, у %

Найбільший відсоток *K. pneumoniae* в обидва роки спостереження було виділено з хірургічних ран, причому у 2023 році цей показник збільшився майже на 7% і становив 46,7%, порівняно з 40,9% у 2018 році. Разом з тим дещо зменшилась частота виявлення цього збудника з промивних вод ТБД — з 31,4% у 2018 до 27,9% у 2023 році. Проте, на фоні цього, у 2023 році значно частіше *K. pneumoniae* виділялась із сечі: 19,5% у 2023 році порівняно з 9,5% у 2018 році. Невелика кількість цих мікроорганізмів була ізольована з плевральної рідини (1,9% у 2018 та 1,5% у 2023 роках) та носоглоткового слизу (3,8% у 2018 та 1,4% у 2023 роках). Також було виділено інвазивні штами *K. pneumoniae*: 3,8% з крові та 1,9% зі спинно-мозкової рідини у 2018 році, і 2,6% з крові у 2023 році. Крім того, на наявність цього мікроорганізму досліджувався вміст кишківника: 5,7% *K. pneumoniae* були ізольовані з цього виду біоматеріалу у 2018 році, тоді як у 2023 році цей показник значно зменшився і становив лише 0,4% (рис. 3.1.8).

A



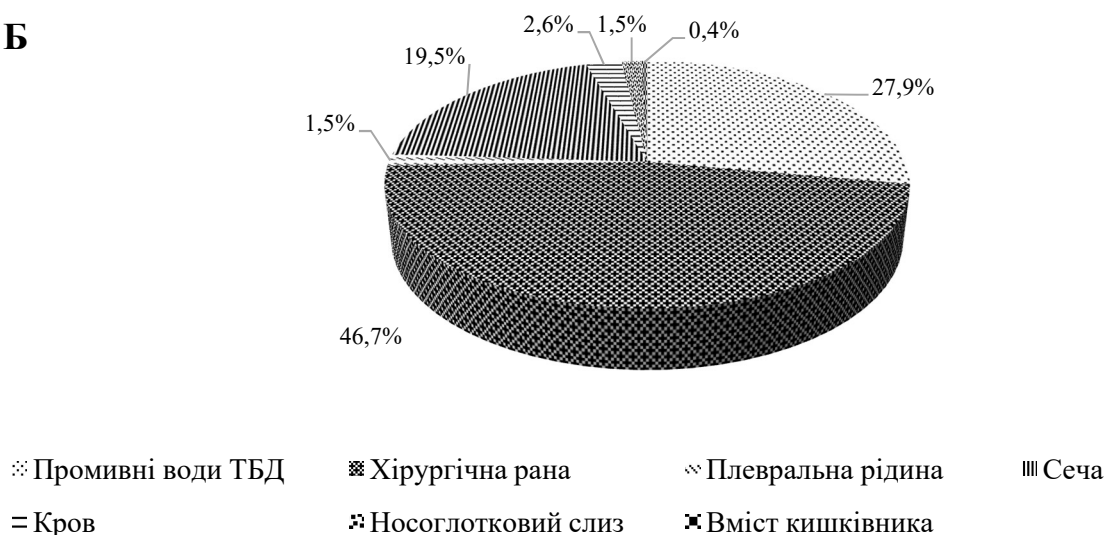
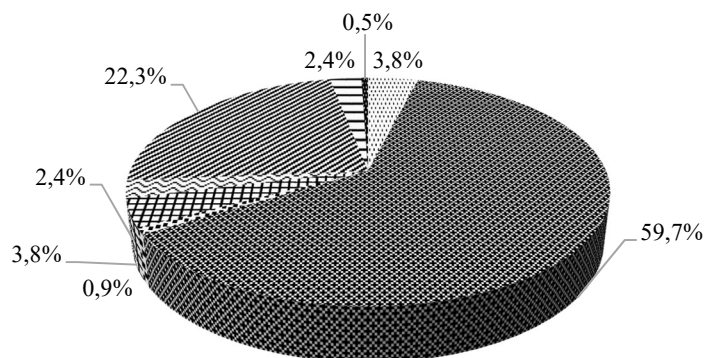
Б

Рис. 3.1.8 – Порівняння походження ізолятів *Klebsiella pneumoniae* у 2018 (А) та 2023 (Б) роках, у %

При аналізі походження *S. aureus* також виявлено ряд відмінностей у видах біоматеріалу, звідки був ізолюваний цей мікроорганізм. Основним біотопом цього збудника залишались хірургічні рани, причому відсоток *S. aureus*, ізолюваних з ран у 2023 році, значно збільшився і становив 82%, порівняно з 59,7% у 2018 році. Іншим важливим джерелом *S. aureus* став носоглотковий слиз. У 2018 році з цього виду біоматеріалу було ізолювано 22,3% цього мікроорганізму, проте у 2023 році цей показник суттєво зменшився і становив лише 7,2%. Досить рідко джерелом *S. aureus* виявлялись промивні води ТБД: у 2018 році з цього біоматеріалу було отримано 3,8% ізолятів, а у 2023 році — лише 1,4%. Подібна частка збудника була отримана й з сечі пацієнтів, при цьому цей показник також продемонстрував тенденцію до зменшення — з 3,8% у 2018 році до 2,2% у 2023 році. Звертає на себе увагу факт, що майже вдвічі збільшилась загальна частка інвазивних *S. aureus*. У 2018 році з крові було виділено 2,4% цього збудника, а жодного ізоляту не було отримано зі спинно-мозкової рідини, тоді як у 2023 році кров та спинно-мозкова рідина стали джерелом для 4,4% *S. aureus* (по 2,2% на окремий вид біоматеріалу). Найрідше золотистий стафілокок виявляли при дослідженні мазків з вуха та вмісту кишківника. Так, у 2018 році з вуха було виділено 0,5% цього збудника, а з вмісту

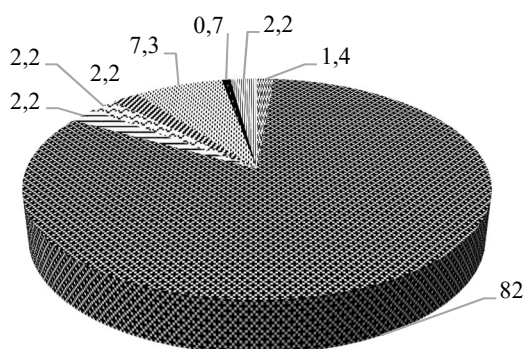
кишківника — 2,4%, тоді як у 2023 році, навпаки, частка ізолятів з вуха складала 2,2%, а 0,7% було отримано з вмісту кишківника (рис. 3.1.9).

А



✧ Промивні води ТБД ✧ Хірургічна рана ✧ Плевральна рідина ✧ Сеча
 ✧ Кров ✧ Носоглотковий слиз ✧ Вміст кишківника ✧ Мазок з вуха

Б



✧ Промивні води ТБД ✧ Хірургічна рана ✧ Спинно-мозкова рідина
 ✧ Сеча ✧ Кров ✧ Носоглотковий слиз
 ✧ Вміст кишківника ✧ Мазок з вуха

Рис. 3.1.9 – Порівняння ізоляції *S. aureus* у 2018 (А) та 2023(Б) роках, у %

Схожа тенденція з попереднім збудником спостерігалась і при аналізі місць ізоляції іншого грампозитивного мікроорганізму. Найбільшу частку *S. epidermidis* було ізольовано з хірургічних ран. Причому, як і при порівнянні походження *S. aureus*, в даному випадку також спостерігається суттєве збільшення частки збудника, ізольованого з ран — з 67% у 2018 році до 88,5% у 2023 році. Також збільшилась загальна частка інвазивних ізолятів — з 4,1% (2,4% — кров, 1,7% — спинно-мозкова рідина) у 2018 році до 6,6% (4,1% — кров, 2,5% — спинно-мозкова

рідина) у 2023 році. Проте значно зменшилась частка *S. epidermidis*, ізольованих із сечі: з 6,2% у 2018 році до 0,8% у 2023 році. Також носоглотковий слиз став ареалом для 3,3% *S. epidermidis* у 2023 році, тоді як у 2018 році з цього виду біоматеріалу було отримано 8,3% зазначеного мікроорганізму. Спостерігалось також зниження відсотка *S. epidermidis*, джерелом походження яких були мазки з вуха: у 2018 році цей показник становив 3,4%, а в 2023 році він впав до 0,8%. Крім того, у 2018 році невелика частка *S. epidermidis* була виділена з промивних вод ТБД (5,5%) та плеврального ексудату (5,5%), тоді як у 2023 році з цих видів біоматеріалу не було отримано жодного ізоляту цього мікроорганізму (рис. 3.1.10).

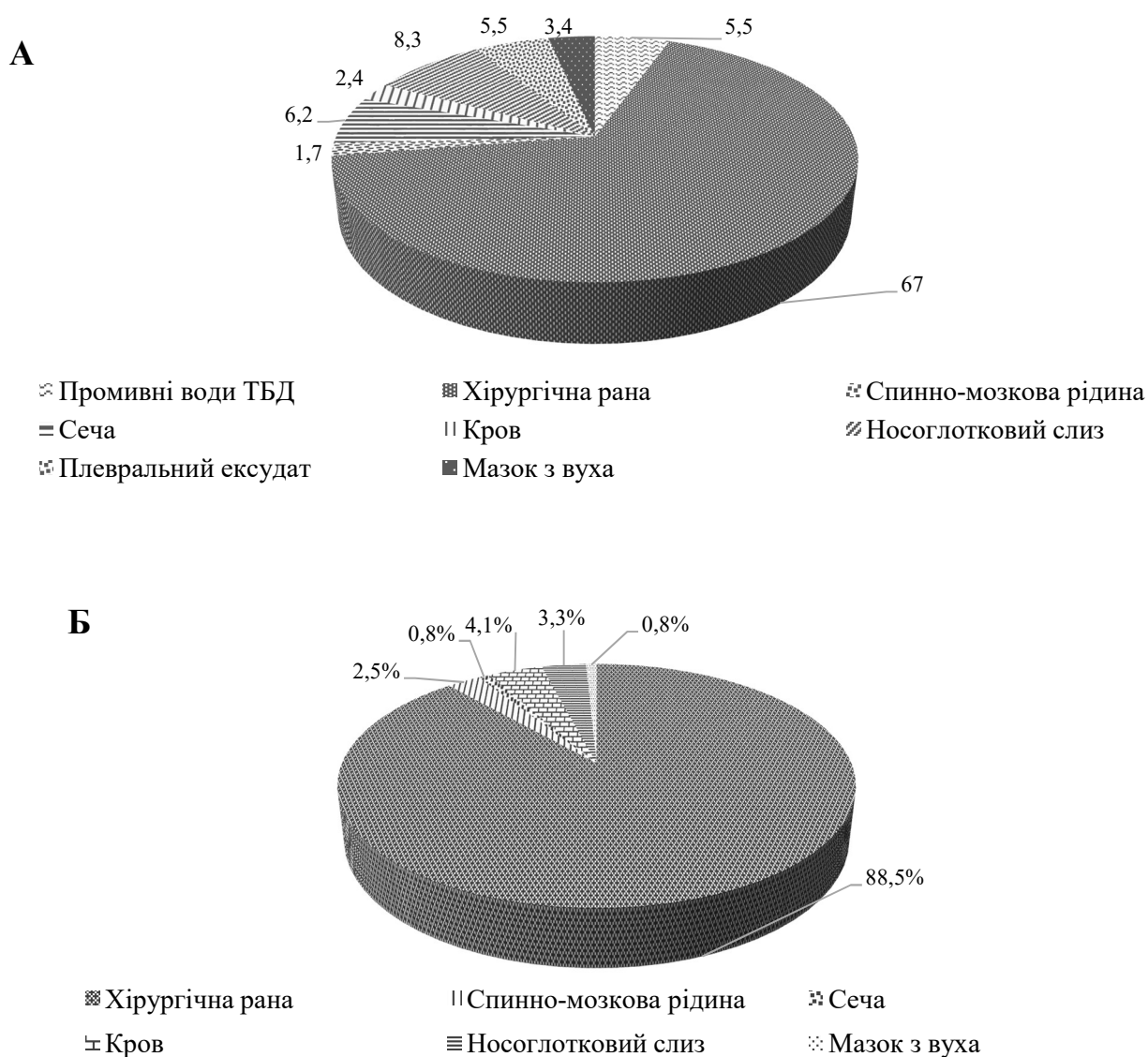


Рис. 3.1.10 – Порівняння ізоляції *S.epidermidis* у 2018 (А) та 2023(Б) роках, у

%

3.2. Характеристика чутливості виділених мікроорганізмів до антибіотиків

Наступним етапом дослідження стало визначення патернів резистентності клінічно значимих мікроорганізмів та встановлення їх змін протягом досліджуваного періоду. Згідно з вимогами до створення кумулятивних антибіотикограм, з метою надання статистично достовірної оцінки поширеності резистентності мікроорганізмів, їх кількість має перевищувати 30 ізолятів кожного виду щорічно [133]. Саме тому для аналізу тренду резистентності були обрані найбільш поширені серед пацієнтів КНП КОР «КОКЛ» види бактерій: *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*, що відповідало вищезазначеній характеристиці.

В ході дослідження спостерігалось збільшення загальної частоти виявлення резистентних до основних груп АМП штамів серед усіх досліджуваних видів мікроорганізмів. Так, резистентність *A. baumannii* до фторхінолонів зросла з 86% у 2018 році до 100% у 2019 році, і в подальші роки також не було виділено жодного чутливого до фторхінолонів штаму цього виду. Також стовідсоткова резистентність спостерігалась і до триметоприм/сульфаметоксазолу; починаючи з 2021 року, не виділялись чутливі штами. До цього відсоток резистентних *A. baumannii* знаходився в межах від 30% у 2018 році до 61,5% у 2020 році. Крім того, значно збільшилась резистентність до карбапенемів, і починаючи з 2020 року кількість нечутливих штамів варіює від 90% до 98%. У 2021 році стала спостерігатись тенденція до збільшення темпу набуття резистентності до аміноглікозидів. У 2018 та 2020 роках 38% ізольованих *A. baumannii* мали резистентність до цієї групи препаратів, а у 2019 році спостерігалось певне підвищення цього показника до 54%. Проте вже з 2021 року резистентність даного збудника до аміноглікозидів сягнула 80%, і продовжила зростати з коливаннями у 2022 році (73%). Так, у 2023 році цей показник сягнув вже 86,1% (рис. 3.2.1).

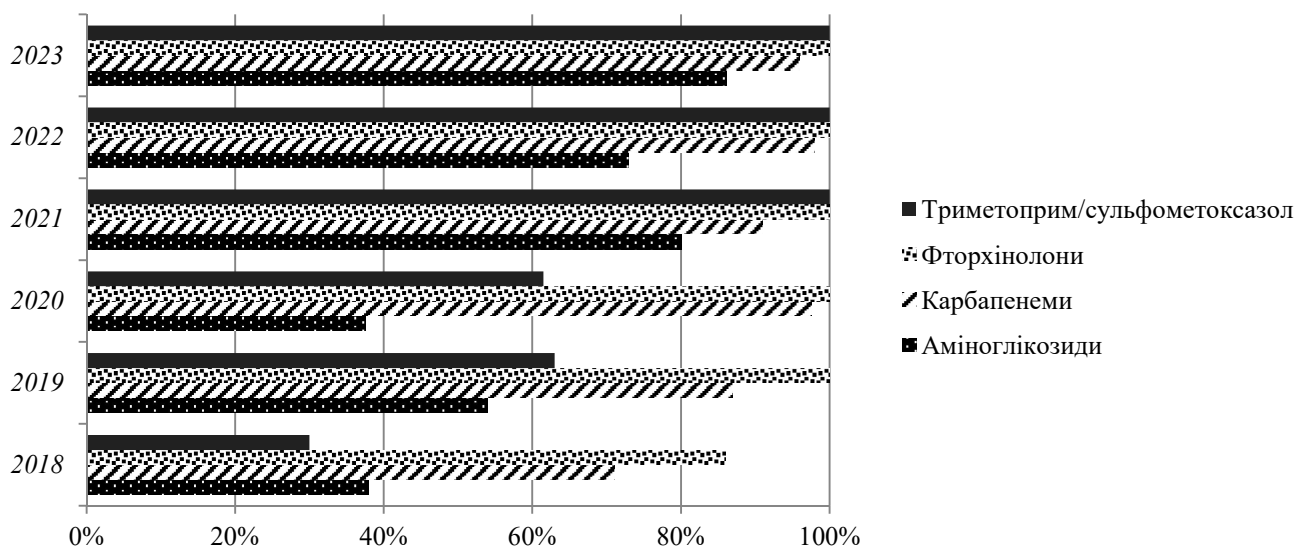


Рис. 3.2.1 – Зміна резистентності *A. baumannii* до основних груп АМП за період спостереження

Дещо менше зростання резистентності спостерігалось в іншого неферментуючого грамнегативного мікроорганізму — *P. aeruginosa*. Варто зазначити, що в цьому та подальших дослідженнях аналізувалась чутливість грамнегативних мікроорганізмів до цефалоспоринів III покоління, оскільки інші антибіотики цієї групи не використовувались в рутинній практиці даної лабораторії. Рівень резистентності до фторхінолонів у 2021 році сягнув 100%, проте в 2022 та 2023 роках виділялись поодинокі чутливі ізоляти. Резистентність до захищених пеніцилінів і цефалоспоринів III покоління залишалася стабільно високою і варіювала від 73% у 2018 році до понад 90% у подальші роки. Також суттєвих змін не спостерігалось при аналізі стійкості мікроорганізмів до аміноглікозидів. При цьому відзначено поступове зростання нечутливості з 63% до 78%. Спостерігався факт збільшення резистентності до карбапенемів на фоні одночасного зниження стійкості до азтреонаму. Це може свідчити про збільшення частоти зустрічі метало- β -лактамаз серед досліджуваних ізолятів *P. aeruginosa* [134]. В цілому, виражене збільшення резистентності *P. aeruginosa* до всіх груп антибіотиків спостерігається з 2021 року. Саме в цьому році фіксувався найнижчий

рівень резистентності до азтреонаму (22%) при відносно високому рівні стійкості до карбапенемів — 82,1% (рис. 3.2.2).

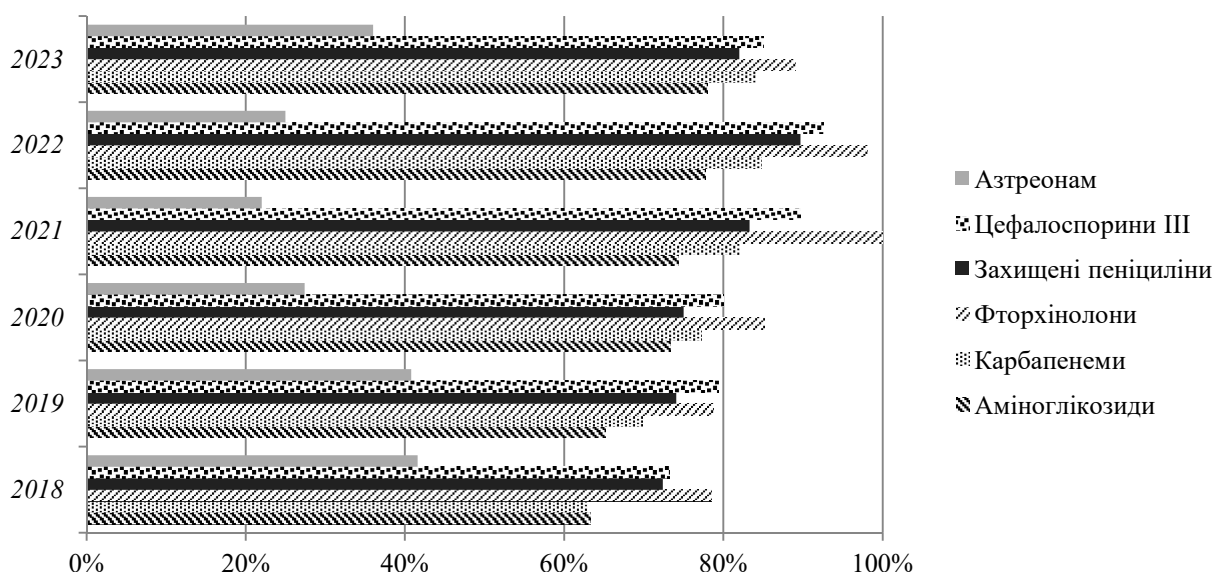


Рис.3.2.2 – Зміна резистентності *P.aeruginosa* до основних груп АМП за період спостереження

Набагато менший рівень резистентності до всіх груп АМП демонструвала *E. coli*. Найвищий рівень стійкості у цього мікроорганізму (62%) був зафіксований до фторхінолонів у 2023 році. Резистентність до інших груп антибіотиків за весь період спостереження залишалася відносно стабільною і не перевищувала 60% (рис. 3.2.3).

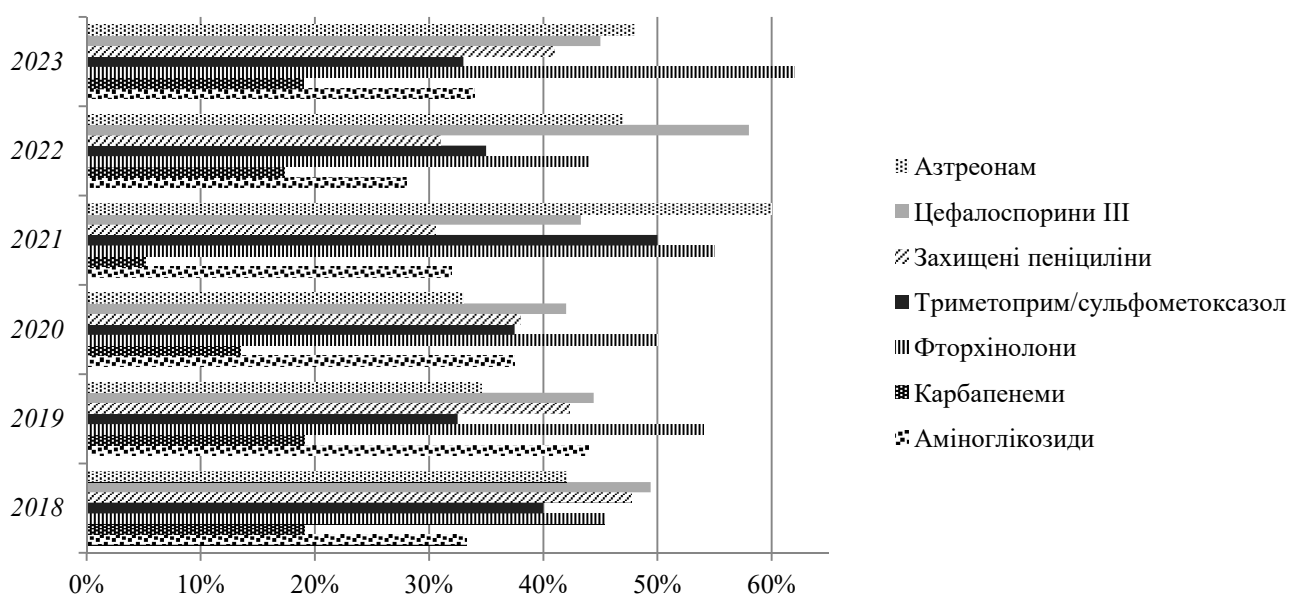


Рис. 3.2.3 – Зміна резистентності *E.coli* до основних груп АМП за період спостереження

Аналогічна тенденція, як і при дослідженні *E. coli*, спостерігалася і у *S. aureus*. В даному випадку також найвищий рівень стійкості був зафіксований до фторхінолонів. У 2023 році цей показник становив 33%. Для визначення стійкості до метициліну (оксациліну) використовувався тест з цефокситином згідно з рекомендаціями EUCAST [135]. Також звертає на себе увагу зниження резистентності до цефокситину (маркеру MRSA) з 32% у 2019 році до 6% у 2022 році. Проте вже у 2023 році спостерігається зростання резистентності до цефокситину більше ніж у два рази — до 15%, що свідчить про необхідність подальшого спостереження за цією групою мікроорганізмів. Спостерігалася зниження рівня стійкості до глікопептидів з 13% у 2018 році до менше ніж 2% у подальші роки, а в 2021 році не було виявлено жодного ізоляту *S. aureus*, резистентного до цієї групи АМП (рис.3.2.4).

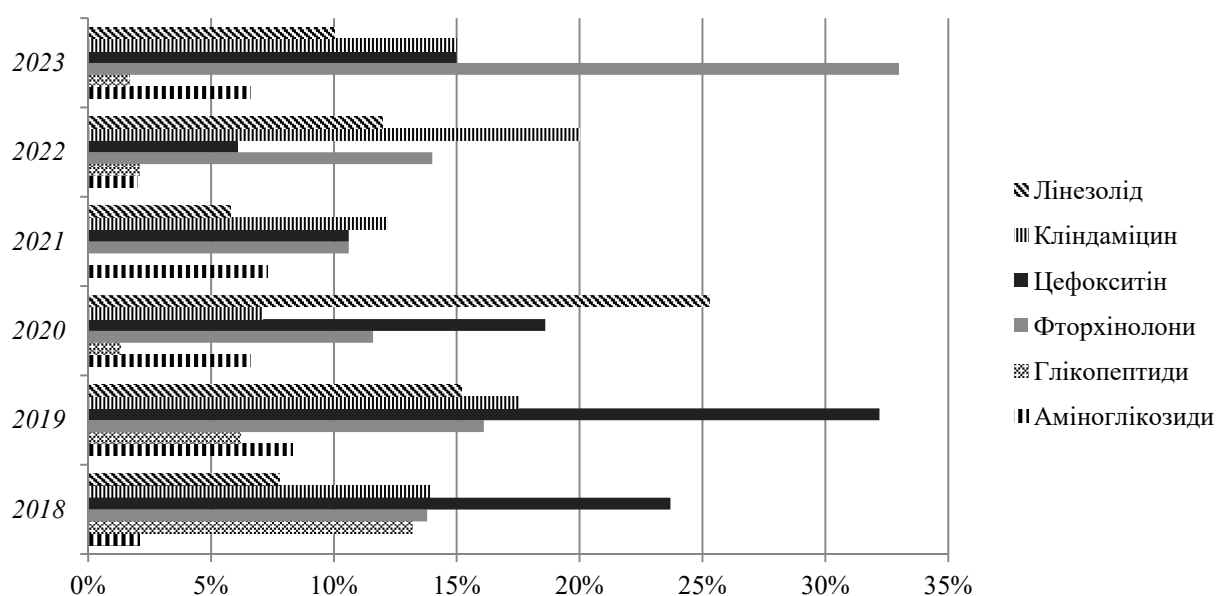


Рис. 3.2.4 – Зміна резистентності *S. aureus* до основних груп АМП за період спостереження

Набагато вищий рівень ізоляції метицилінрезистентних штамів у порівнянні з *S. aureus* спостерігається серед *S. epidermidis*. Цей показник сягав майже 60% у 2019 та 2020 роках, проте вже з 2020 року відбулося поступове зниження стійкості до

цефокситину, аж до 39% у 2023 році. Разом з тим цей показник значно перевищує аналогічний для *S. aureus*, що можна розглядати як ознаку приналежності більшої частки *S. epidermidis* до внутрішньолікарняних ековарів. Також звертає на себе увагу значне збільшення (більше ніж на 20%) резистентності до фторхінолонів у 2023 році порівняно з усім періодом спостереження (рис. 3.2.5).

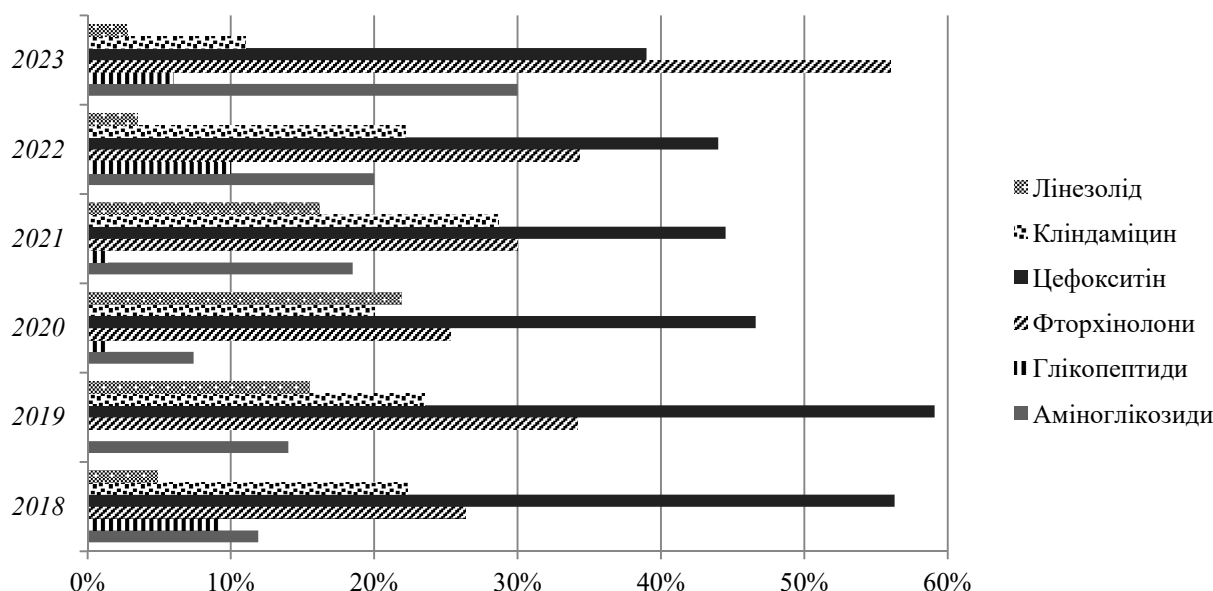


Рис. 3.2.5 – Зміна резистентності *S. epidermidis* до основних груп АМП за період спостереження

K. pneumoniae потребує окремого, більш детального розгляду, оскільки частота виділення цього мікроорганізму значно збільшилася з початком повномасштабного вторгнення в порівнянні з іншими збудниками. Окрім того, спостерігалася різка зміна чутливості цієї бактерії до основних груп антимікробних препаратів. Як і у всіх мікроорганізмах, які були розглянуті вище, у *K. pneumoniae* спостерігається значне підвищення резистентності до фторхінолонів починаючи з 2020 року, а в 2023 рівень стійкості становив уже 92%. Схожі тренди поширеності мають ізоляти *K. pneumoniae*, що резистентні до захищених пеніцилінів та цефалоспоринов III покоління. Так, у 2018 було ізольовано 71% *K. pneumoniae* стійких до захищених пеніцилінів та 66% – до цефалоспоринов III покоління. У 2019 році ці показники практично зрівнялися й становили 76% і 75% відповідно. У 2020 році резистентність цього збудника до захищених пеніцилінів сягнула 97%,

тоді як для цефалоспоринів III покоління цей показник становив 83%. На такому рівні резистентність *K. pneumoniae* до цефалоспоринів залишалася й у 2021 році, але в цей період дещо знизилася стійкість до захищених пеніцилінів – до 87%. Проте протягом наступних двох років аналізу спостерігалася стійке підвищення частоти виділення *K. pneumoniae*, резистентних до цих груп препаратів. Так, резистентність до захищених пеніцилінів у 2022 та 2023 році становила 98% та 92% відповідно, а стійкість до цефалоспоринів зросла з 92% у 2022 до 93% у 2023 роках. Стійкість до аміноглікозидів також збільшувалася від року до року, і в 2023 досягла 79,3%, порівняно з 52% у 2018 році. Проте саме до цієї групи антибіотиків зберегла чутливість найбільша кількість досліджуваних ізолятів *K. pneumoniae* (рис. 3.2.6).

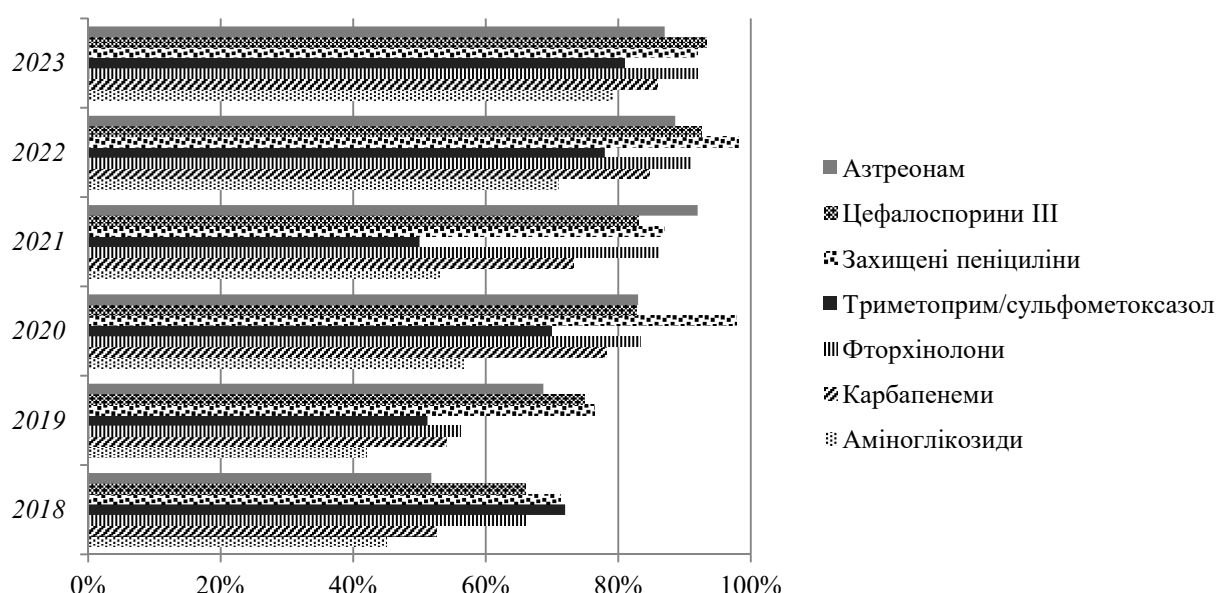


Рис. 3.2.6 – Зміна резистентності *K.pneumoniae* до основних груп АМП за період спостереження

Окремо варто проаналізувати зростання стійкості *K. pneumoniae* до карбапенемів та цефалоспоринів III покоління, оскільки до критичної групи списку пріоритетних мікроорганізмів, що був оновлений ВООЗ у 2024 році, входять *Enterobacterales*, резистентні до цих антибіотиків [136]. Також за розвитком стійкості цього мікроорганізму до карбапенемів та цефалоспоринів III покоління проводиться епіднагляд на національному, регіональному та глобальному рівнях

шляхом запровадження програм з дозорного епідеміологічного нагляду на території України, EARS-Net, CAESAR та GLASS.

Серед досліджених ізолятів *K. pneumoniae* спостерігається чітка тенденція зростання резистентності як до цефалоспоринів, так і до карбапенемів, причому в останніх не спостерігається зв'язку зі зміною рівня стійкості до азтреонаму, який було виявлено у *P. aeruginosa*. Особливо показовими є зміни в резистентності до карбапенемів, починаючи з 52% у 2018 році, з різким підвищенням до 78,2% у 2020 році та поступовим зростанням до 86% у 2023 році (рис. 3.2.7).

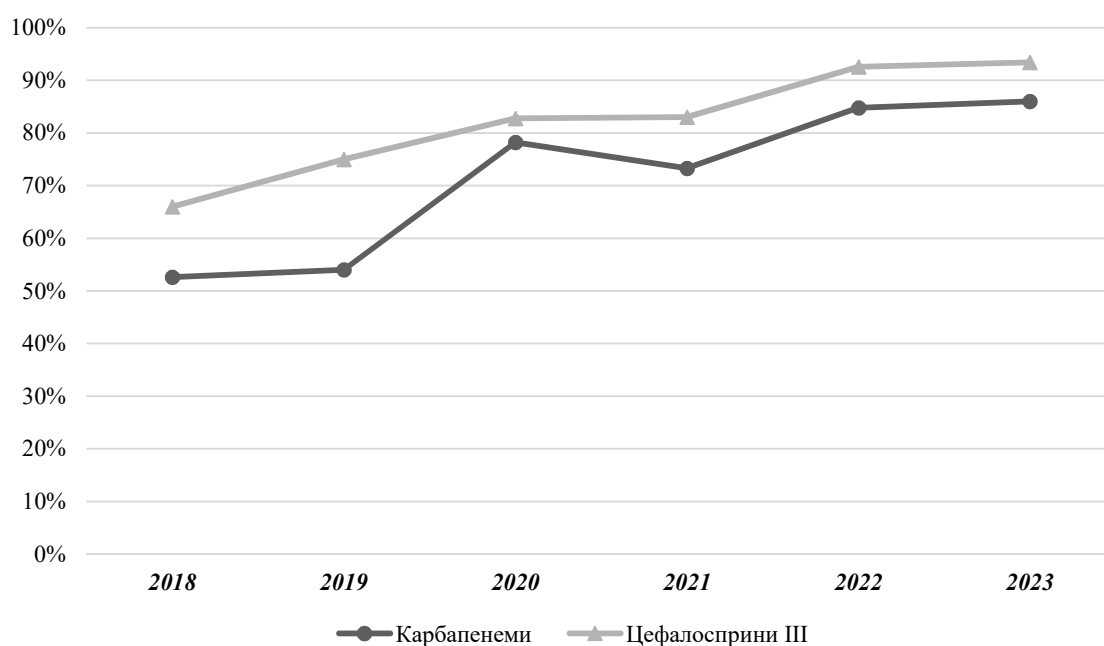


Рис. 3.2.7 – Збільшення резистентності *K.pneumoniae* до карбапенемів та цефалоспори́нів III покоління за період 2018-2023 рр.

Враховуючи вищезазначений аналіз, було прийнято рішення зосередити подальше дослідження на *K. pneumoniae*, оскільки саме цей мікроорганізм наразі демонструє найбільшу динаміку як у частоті виявлення, так і в зростанні стійкості до антибіотиків (АМП).

РОЗДІЛ 4. ФЕНОТИПИ ТА ГЕНОТИПИ АНТИБІОТИКО-РЕЗИСТЕНТНОСТІ ШТАМІВ *K.pneumoniae*, ІЗОЛЬОВАНИХ ВІД ПАЦІЄНТІВ РЕАНІМАЦІЙНОГО ТА ХІРУРГІЧНИХ ВІДДІЛЕНЬ ЗА ПЕРІОД 2020–2021 РР.

4.1. Характеристика колекції *K.pneumoniae* та профілі чутливості до антибактеріальних препаратів

У ході виконання дисертаційного дослідження було сформовано колекцію з 65 ізолятів *K.pneumoniae*, виділених із клінічного матеріалу, які характеризувалися різним ступенем антибіотикорезистентності. Основну увагу було зосереджено на визначенні їх чутливості до антибактеріальних препаратів, які широко застосовуються в клінічній практиці для лікування інфекцій, спричинених *K.pneumoniae*. До колекції були відібрані мікроорганізми, ізольовані від пацієнтів реанімаційного та хірургічних відділень у період з 2020 по 2021 роки. Найбільшу частку збудників за цей період було виділено з промивних вод трахеобронхіального дерева (46,15%) та хірургічних ран (40%). Крім того, 4,6% ізолятів *K.pneumoniae* були отримані зі зразків крові, по 3,1% — із сечі та спинномозкової рідини, і по 1,5% збудників — із вмісту кишечника та носоглоткового слизу. (рис. 4.1.1).

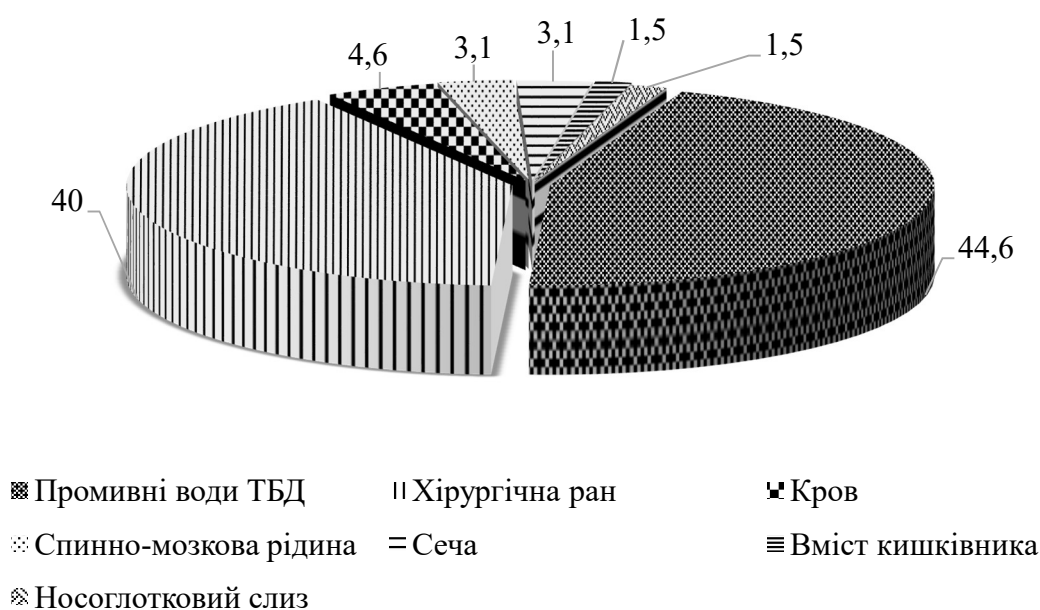


Рис. 4.1.1 – Походження ізолятів *K. pneumoniae*, відібраних для подальшого дослідження

Серед відібраних штамів були ізоляти як без набутих механізмів резистентності, так і штами з множинною стійкістю до різних класів протимікробних препаратів. Частка штамів, резистентних до захищених пеніцилінів та цефалоспоринов III покоління, становила по 90,77% для кожної з цих груп препаратів. Рівень резистентності до фторхінолонів та карбапенемів серед ізолятів досягав 87,97% та 86,58% відповідно. Крім того, 87,7% відібраних ізолятів *K.pneumoniae* проявляли стійкість до азтреонаму. Найменший рівень резистентності було відзначено до аміноглікозидів, однак навіть до цієї групи протимікробних препаратів стійкість виявляли 81% ізолятів *K.pneumoniae*. (рис. 4.1.2).

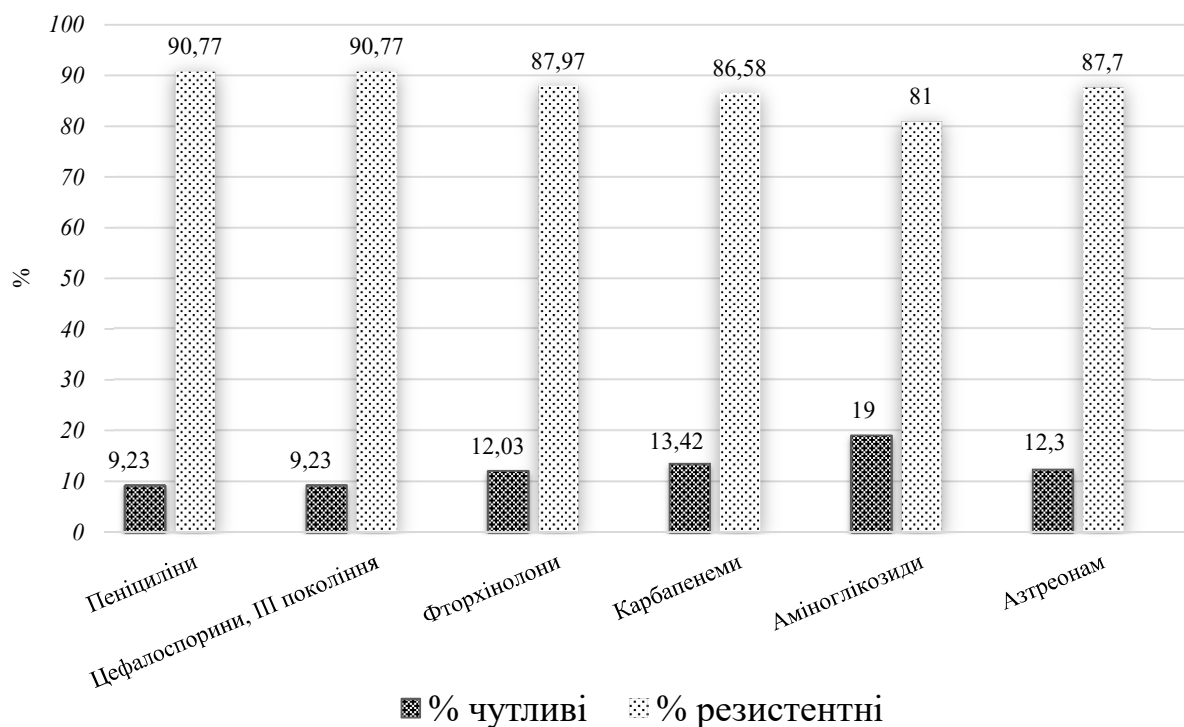


Рис. 4.1.2 – Результати визначення чутливості до антимікробних препаратів *K.pneumoniae*, ізольованих від пацієнтів хірургічних та реанімаційних відділень у 2020-2021 роках

4.2. Фенотипова характеристика механізмів антибіотикорезистентності у мультирезистентних штамів *K. pneumoniae*

В отриманих та охарактеризованих на попередньому етапі клінічних ізолятах *K. pneumoniae* досліджували механізми резистентності за допомогою фенотипових методів. Для цього було застосовано кілька підходів: використання хромогенних середовищ, CIM-тест (Carbapenem Inactivation Method) та методу комбінованих дисків.

За допомогою хромогенних середовищ визначали два можливі механізми резистентності до протимікробних препаратів у *K. pneumoniae*: ферментативну інактивацію антибіотиків β -лактамазами розширеного спектру дії (ESBL) та інактивацію карбапенемами (KPC). Інтерпретацію результатів проводили після 24-годинної інкубації чистої культури на хромогенному середовищі при температурі 37 °C. Спостерігали за характером росту бактерій на агарі, оцінюючи колір колоній відповідно до інструкції виробника (рис. 4.2.1).

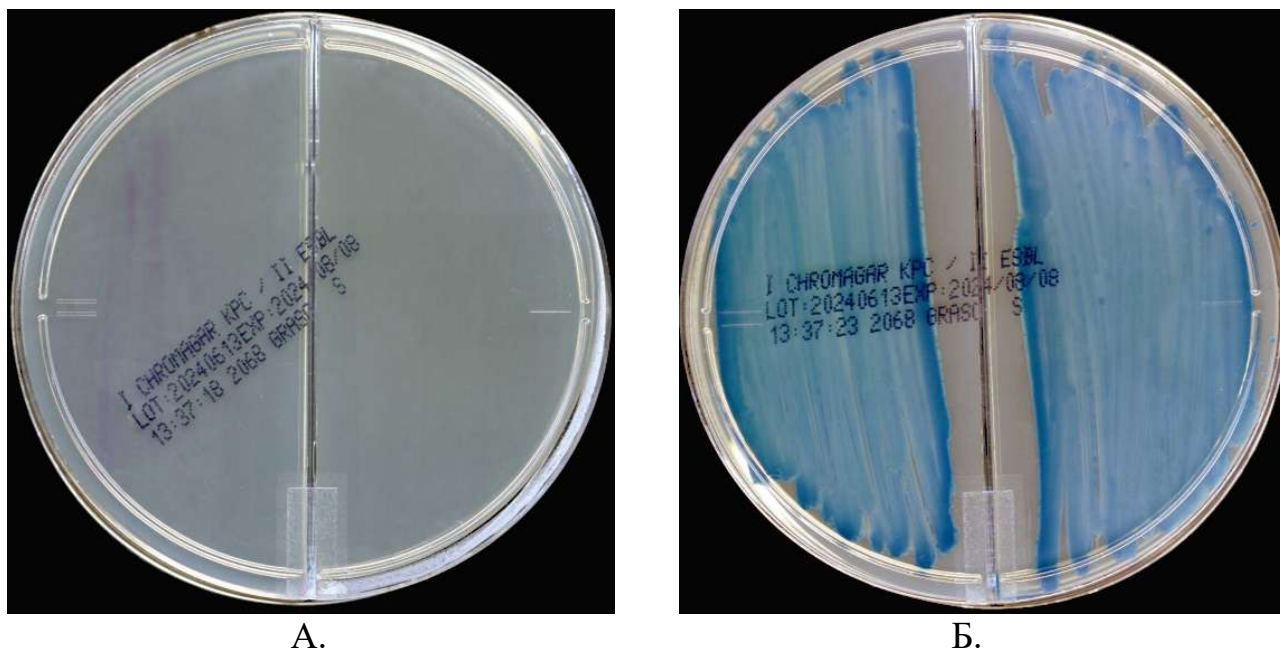


Рис. 4.2.1 – Ріст *K. pneumoniae* на хромогенному середовищі Chromagar KPC / Chromagar ESBL: А. – KPC-/ESBL-; Б. – KPC+/ESBL+ (блакитні колонії)

За результатами експериментальних досліджень із використанням хромогенних середовищ було встановлено, що 88,3% ізолятів *K. pneumoniae* були

позитивними на наявність ESBL, а 86,7% — на наявність KPC. 80 % ізолятів містили обидва механізми резистентності.

У подальшому вся зібрана колекція *K.pneumoniae* досліджувалася із використанням CIM-тесту. В основі методу лежить здатність паперового диска з меропенемом, що зазвичай використовується для визначення чутливості, виступати як субстрат для карбапенемаз, які продукують досліджувані мікроорганізми (рис. 4.2.2).

За результатами використання цього методу було встановлено, що лише 42% досліджуваних ізолятів були здатні гідролізувати меропенем.

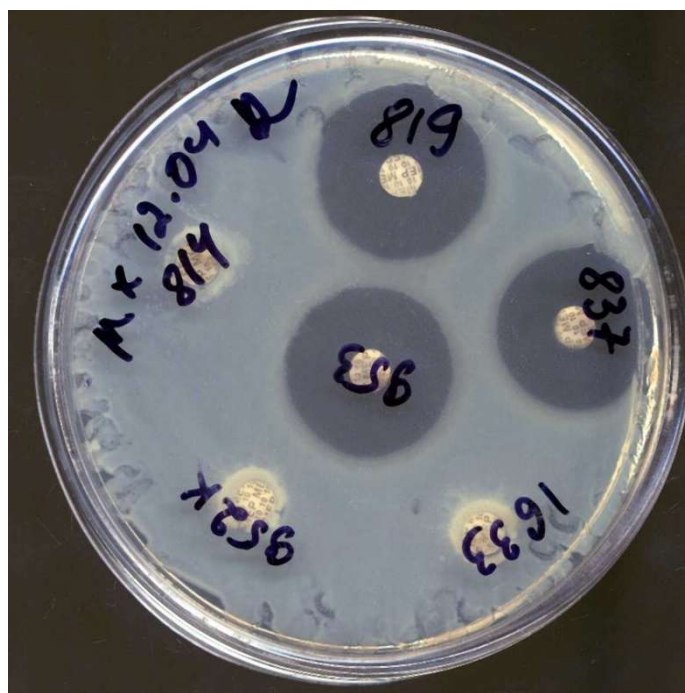


Рис. 4.2.2 – Визначення здатності *K.pneumoniae* до інактивації меропенему: штами 814, 952K та 1633 – позитивний результат; штами 953, 819 та 837 – негативний результат

Дещо інші дані було отримано під час визначення наявності β -лактамаз методом комбінованих дисків. Даний метод дозволяє визначити наявність наступних механізмів антибіотикорезистентності: ESBL + втрата порину, KPC (клас A за Ambler [137], серинові β -лактамази), MBL (клас B, метало- β -лактамази), AmpC (клас C, цефалоспориноми), OXA-48 (клас D, оксацилінази) (рис.4.2.3).

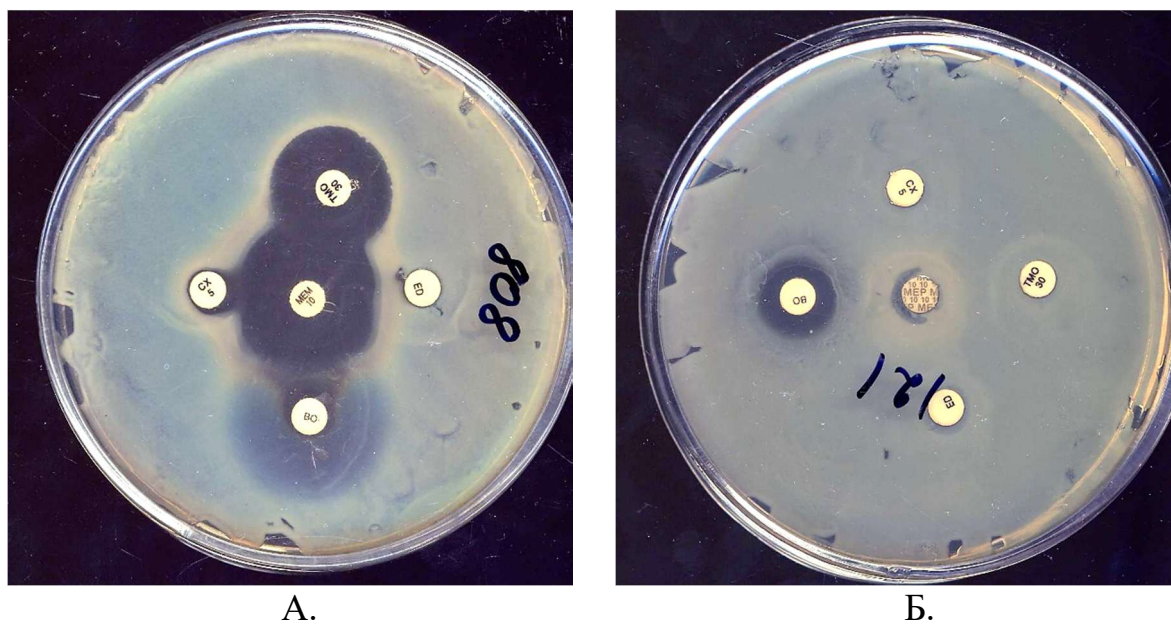


Рис. 4.2.3 – Визначення механізмів резистентності методом комбінованих дисків: А. – наявність β -лактамази AmpC та ESBL + втрата поринів; Б. – наявність карбапенемаз класу А

За результатами експериментальних досліджень із використанням методу комбінованих дисків встановлено, що найбільш поширеним механізмом резистентності серед клінічних ізолятів *K.pneumoniae* був варіант ESBL + втрата порину, який виявлено у 69,2% досліджених ізолятів. Другим за поширеністю механізмом резистентності був КРС (43%). Карбапенемази ОХА-48 виявлено у 30,8% досліджених мікроорганізмів. Найрідше зустрічалися β -лактамази AmpC та метало- β -лактамази (MBL) – 7,8% та 1,5% відповідно (рис. 4.2.4).

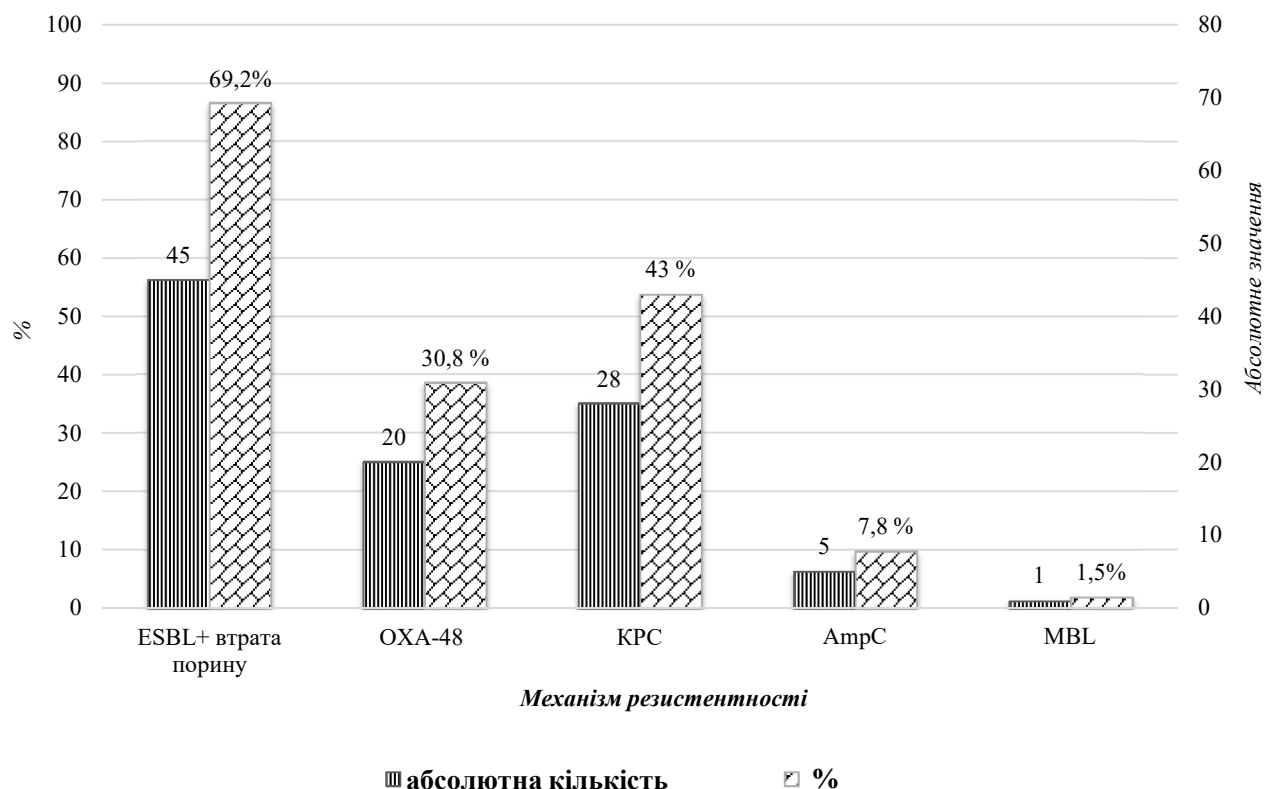


Рис. 4.2.4 – Поширеність механізмів резистентності, визначених методом комбінованих дисків серед штамів *K.pneumoniae*, ізолюваних у рамках дослідження

Також в ході проведеного дослідження було встановлено, що більшість досліджених ізолятів *K.pneumoniae* мали одночасно декілька механізмів резистентності (рис. 4.2.5). Найчастішою комбінацією механізмів антибіотикорезистентності був варіант ESBL + втрата поринів (52,3%), найрідше зустрічалася комбінація MBL, ESBL + втрата поринів (1,5%).

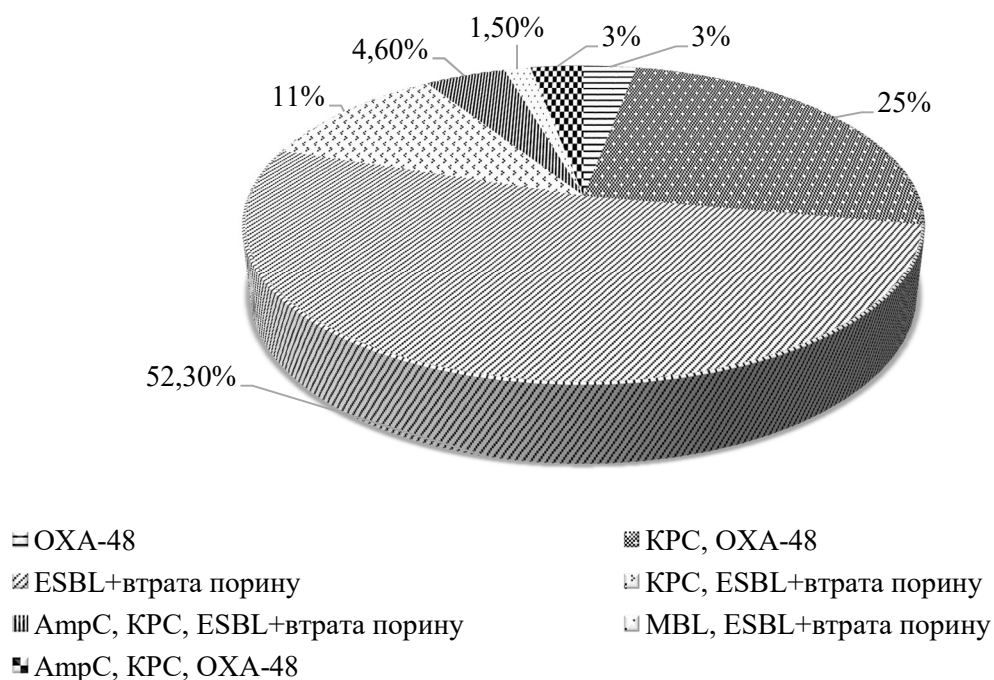


Рис. 4.2.5 – Комбінація фенотипових проявів механізмів резистентності у штамів *K. pneumoniae*, використаних в дослідженні

4.3. Генетичні детермінанти антибіотикорезистентності у клінічних ізолятів *K.pneumoniae*

Одним із ключових аспектів вивчення антибіотикорезистентності є визначення генетичних механізмів резистентності, що дозволяє встановити поширеність генів стійкості та оцінити ризики їх передачі.

Для молекулярно-епідеміологічної характеристики колекції мультирезистентних ізолятів *K. pneumoniae* надзвичайно важливим було підтвердження наявності маркерів генетичної стійкості до β -лактамних антибіотиків, зокрема до антибіотиків вибору — карбапенемів. Особливо важливим є виявлення п'яти основних β -лактамаз із карбапенемазною активністю, зокрема таких, як IMP, NDM, VIM, KPC, OXA-48-подібні, які відомі як «велика п'ятірка» [138].

Молекулярно-генетичний аналіз ізолятів *K.pneumoniae* дозволив виявити широкий спектр генів, що кодують ферменти з карбапенемазною активністю. У досліджених ізолятах були ідентифіковані гени β -лактамаз: *blaOXA-48-like*,

blaNDM, *blaKPC* та *blaVIM*. Варто зазначити, що жоден із штамів не містив ген *blaIMP*.

За отриманими експериментальними даними, найвищу поширеність серед досліджуваних клінічних ізолятів мав ген *blaNDM*, який було виявлено у 97% ізолятів (рис. 4.3.1). Ген *blaKPC* також мав високу частоту виявлення, становлячи 84,6% (55 штамів) серед усіх досліджених клінічних ізолятів. Ген *blaOXA-48* був ідентифікований у 44,6% ізолятів (29 штамів), що свідчить про значну присутність ОХА-48-подібних карбапенемаз у клінічних штамів *K. pneumoniae*. У відповідності до літературних даних дані гени найчастіше зустрічається у грамнегативних мікроорганізмах. Карбапенемази ОХА-48 та КРС, кодуються генами, що є плазмідними і трансмісивними та розповсюджені саме у *K. pneumoniae* [139]. Ген *blaVIM* мав найменшу поширеність серед досліджених ізолятів – лише 3% (рис. 26).

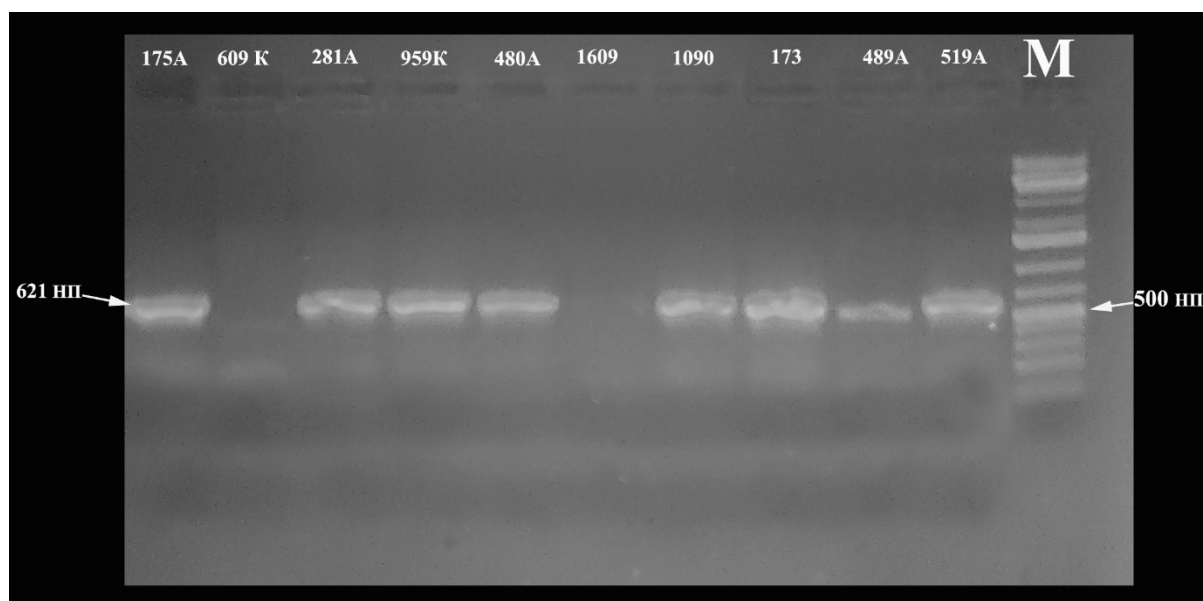


Рис 4.3.1 – Електрофореграма результатів ПЛР дослідження наявності генів антибіотикорезистентності у клінічних ізолятів *K. pneumoniae* (виявлення генів *blaNDM*)

При подальшому аналізі були ідентифіковані штами, які одночасно містили кілька карбапенемазних генів. Зокрема, 83,1% штамів мали комбінацію *blaKPC* та *blaNDM*, що вказує на високу ймовірність розвитку стійкості до більшості β -

лактамних антибіотиків, включаючи карбапенеми, що було підтверджено на попередньому етапі дослідження шляхом визначення чутливості даних мікроорганізмів до протимікробних препаратів. Одночасна наявність генів *blaKPC*, *blaNDM* та *blaOXA-48* спостерігалася у 44,6% ізолятів, що може вказувати на особливо високий рівень антибіотикорезистентності цих штамів.

Рідше зустрічалися комбінації чотирьох або більше карбапенемазних генів. Лише у 1,5% ізолятів були виявлені всі чотири гени (*blaKPC*, *blaNDM*, *blaOXA-48* та *blaVIM*). Також 1,5% штамів містили комбінацію *blaKPC*, *blaNDM* та *blaVIM*, що свідчить про їхню рідкість серед досліджених клінічних ізолятів (рис. 4.3.2).

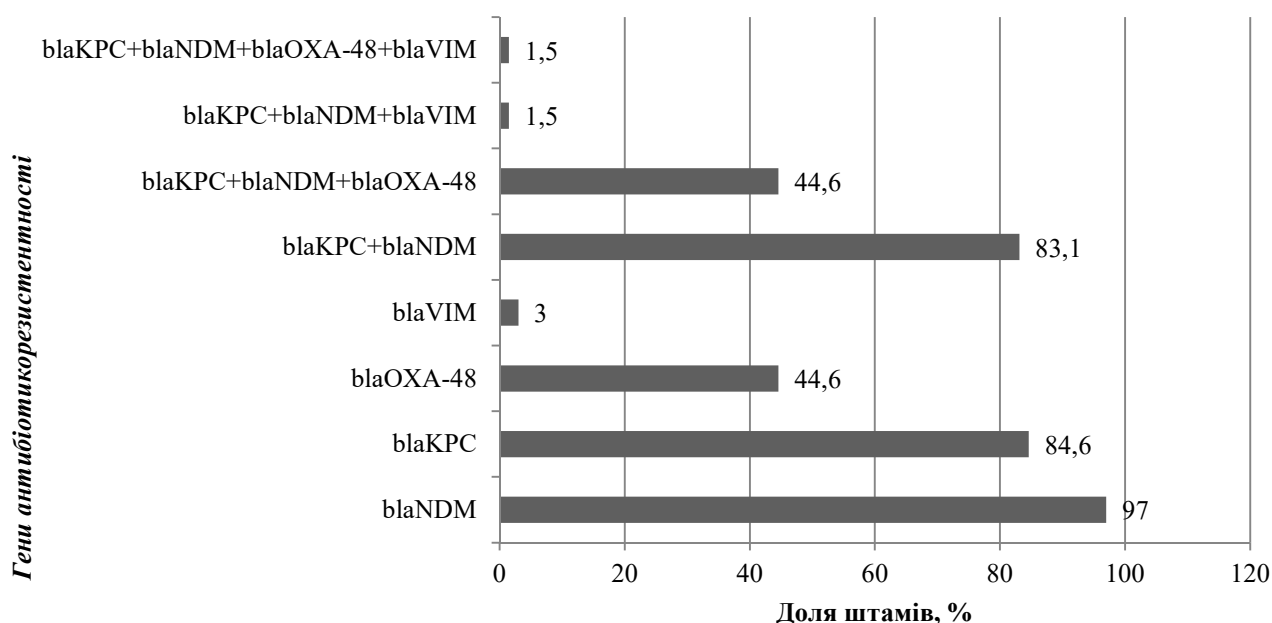


Рис. 4.3.2 – Поширеність генів, що кодують окремі механізми антибіотикорезистентності серед штамів *K. pneumoniae*, використаних в дослідженні

Отримані результати свідчать про високу поширеність карбапенемазних генів серед мультирезистентних ізолятів *K. pneumoniae*. Виявлення комбінацій декількох генів β-лактамаз у більшості досліджених штамів вказує на значну загрозу для антибіотикотерапії, оскільки такі ізоляти можуть мати розширений спектр стійкості до карбапенемів та інших β-лактамних антибіотиків.

РОЗДІЛ 5. РОЗРОБКА СТРАТЕГІЇ КОМБІНОВАНОЇ АНТИБІОТИКОТЕРАПІЇ У БОРОТБІ З МУЛЬТИРЕЗИСТЕНТНИМИ БАКТЕРІЯМИ *K. PNEUMONIAE*

5.1. Вплив комбінованого застосування азитроміцину та колістину на планктонні та біоплівкові форми *K. pneumoniae* з різним ступенем антибіотикорезистентності

Для аналізу ефектів комбінованого застосування азитроміцину (АЗМ) та колістину метансульфонату (МСК) на госпітальні ізоляти *K.pneumoniae*, зокрема штамми без набутих механізмів резистентності та мультирезистентні ізоляти, досліджено вплив цих препаратів у монотерапії та у комбінації в різних концентраціях на планктонні та біоплівкові форми бактерій.

Вибір препаратів ґрунтувався на тому, що азитроміцин може знижувати синтез екзополісахаридів, які є ключовими компонентами матриксу біоплівок. Це, своєю чергою, впливає на структуру самої біоплівки та підвищує чутливість бактерій, що входять до її складу, до антибіотиків і факторів імунного захисту організму. Зокрема, встановлено, що субінгібіторні концентрації азитроміцину зменшують утворення біоплівок *P.aeruginosa* та *S.aureus*, впливаючи на їхню здатність до адгезії та колонізації [140]. Також азитроміцин здатний інгібувати систему "quorum sensing" у *P.aeruginosa*, що призводить до зниження експресії генів, відповідальних за вірулентність та формування біоплівок [141].

Колістину метансульфонат – це неактивний пролікарський препарат, який у організмі людини гідролізується до активного колістину. Входить до групи поліміксинів (поліміксин Е) та використовується для лікування інфекцій, спричинених грамнегативними бактеріями з множинною лікарською стійкістю [142].

На першому етапі дослідження проводили відбір мікроорганізмів за здатністю утворювати біоплівки в умовах *in vitro*. Для підбору найбільш адекватної бактеріальної моделі здатність до утворення біоплівок досліджували за допомогою кількох типів носіїв: нейтральної полістиролової пластикової поверхні та органічної поверхні, яку отримували шляхом покриття пластику колагеном.

У дослідженнях були використані клінічні ізоляти *K.pneumoniae*, які були охарактеризовані на попередньому етапі. Біоплівкоутворювальні властивості клінічних ізолятів *K.pneumoniae* досліджували за допомогою спектрофотометричного методу.

Отримані експериментальні дослідження показали, що клінічні ізоляти відрізняються за ступенем біоплівкоутворювальної здатності як на нейтральній (рис. 5.1.1), так і на модифікованій поверхні (рис. 5.1.2).

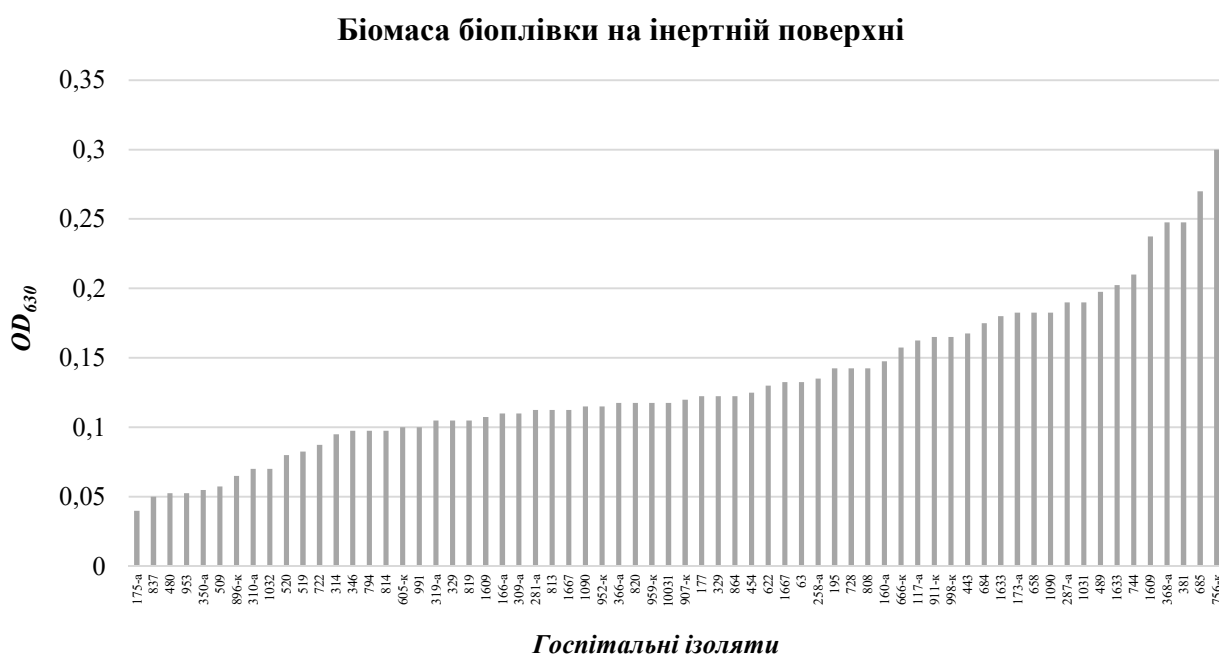


Рис. 5.1.1 – Біомаса 24-годинних біоплівок госпітальних ізолятів *K.pneumoniae*, адсорбованих на інертній полістирольній пластиковій поверхні. Дані наведені як середнє відносне значення $OD_{630} \pm SE$ ($n = 4$)

При дослідженні здатності утворювати біоплівки на нейтральній поверхні було встановлено, що 24,2 % штамів мають слабку здатність до формування біоплівок, 65,2 % — помірну, а 10,6 % — сильну.

Деяко відмінні результати були отримані при використанні модифікованих полістиролових поверхонь. Було показано, що 21,2 % штамів мають слабку здатність до формування біоплівок, 31,8 % — помірну, а 50 % — сильну здатність до утворення біоплівок. Примітно, що штами, які утворювали сильну біоплівку на нейтральних поверхнях, формували слабку чи помірну біоплівку на модифікованих

поверхнях. Наприклад, штамп № 744 мав показник OD_{630} на нейтральній поверхні 0,21, тоді як на модифікованій поверхні — 0,03.

Зафіксоване явище здатності більшості клінічних ізолятів *K. pneumoniae* до сильного чи помірного біоплівкоутворення (>80% ізолятів) на фоні високих показників антибіотикорезистентності може свідчити про важливу роль біоплівок у механізмах виживання бактерій та їх стійкості до антимікробної терапії, особливо в умовах нозокоміальних інфекцій.



Рис. 5.1.2 – Біомаса 24-годинних біоплівок госпітальних ізолятів *K.pneumoniae*, що адсорбовані на колагенізованій пластиковій поверхні. Дані наведені як середнє відносне значення $OD_{630} \pm SE$ ($n = 4$)

Спираючись на дані щодо чутливості мікроорганізмів до протимікробних препаратів, а також їх здатності утворювати біоплівки, для подальших експериментальних досліджень було відібрано 10 клінічних ізолятів *K.pneumoniae*: п'ять ізолятів клебсієл без набутої резистентності (non-MDR) та п'ять штамів із множинною лікарською стійкістю (PDR).

Було проведено аналіз ефектів АЗМ і МСК у комбінації та за умов монотерапії цими протимікробними засобами на обраних ізолятах.

Для реалізації цього завдання нічні планктонні культури обраних штамів отримували за умов інтенсивної аерації шляхом струшування при 37°C. Після завершення інкубації суспензії нічних культур розводили свіжим МХБ до щільності 0,5–0,6 за McFarland, що приблизно відповідає навантаженню $1-2 \times 10^8$ КУО/мл. У стартові культури об'ємом 5 мл на зразок додавали відповідні антибіотики в монорежимі або в комбінаціях за схемою у трикратній повторності (таблиця 5.1.1).

Таблиця 5.1.1

**Схема внесення протимікробних препаратів до планктонних форм
бактерій *K.pneumoniae***

АЗМ МКГ/МЛ	-	-	-	-	-	9	9	9	9	9	18	18	18	18	18
МСК МКГ/МЛ	-	6	8	10	12	-	6	8	10	12	-	6	8	10	12

Для вимірювання інтенсивності росту культури 200 мкл суспензії з певною концентрацією антибіотика(ів) вносили у 96-лункові планшети. Оптичну густину визначали спектрофотометрично при OD₆₃₀ за допомогою спектрофотометра MR-96A (Mindray, Китай) та при OD₅₇₀ за допомогою спектрофотометра Multiskan™ FC Microplate Photometer (Thermo Fisher Scientific, США). Оброблені результати наведено на рис. 5.1.3 і 5.1.4.

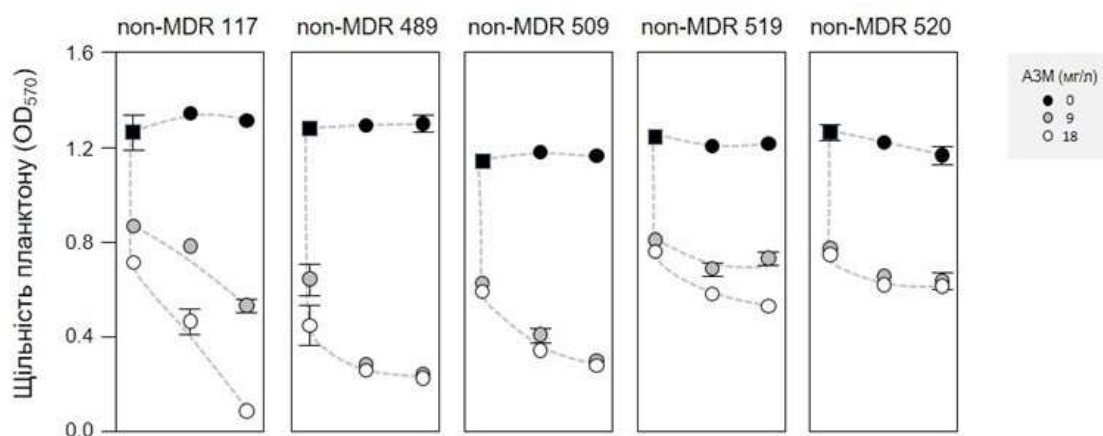


Рис. 5.1.3 – Вплив азитроміцину (АЗМ) та колістину метансульфонату (МСК) на планктонні культури ізолятів *K.pneumoniae* без проявів набутої резистентності досліджували шляхом вимірювання оптичної щільності (OD_{570}) після 16 годин інкубації. Дані наведені як середнє відносне значення $OD_{570} \pm SE$ ($n = 3$), при цьому культура без АЗМ (контроль) зазначено темними колами, 9 мг/л АЗМ сірими колами та 18 мг/л АЗМ білими колами (тенденції позначені штриховими кривими). Для спрощення сприйняття статистичну обробку даних не візуалізували

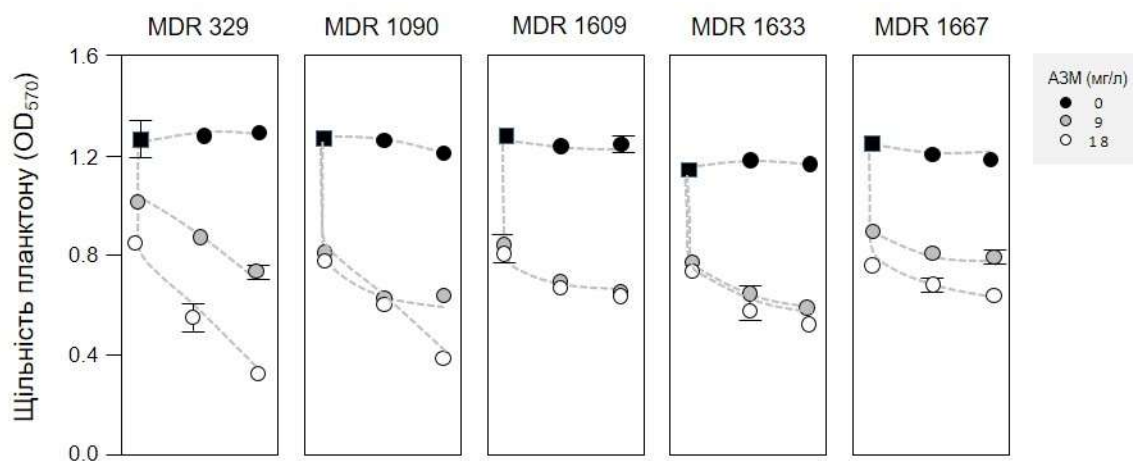


Рис. 5.1.4 – Вплив азитроміцину (АЗМ) та колістину метансульфонату (МСК) на планктонні культури мультирезистентних ізолятів *K.pneumoniae* досліджували шляхом вимірювання оптичної щільності (OD_{570}) після 16 годин інкубації. Дані наведені як середнє відносне значення $OD_{570} \pm SE$ ($n = 3$), при цьому культура без АЗМ (контроль) зазначено темними колами, 9 мг/л АЗМ сірими колами та 18 мг/л АЗМ білими колами (тенденції позначені штриховими кривими). Для спрощення сприйняття статистичну обробку даних не візуалізували

Таким чином, експериментально було підтверджено, що МСК не має бактерицидної дії по відношенню до планктонних культур *K.pneumoniae* як мультирезистентних, так і без проявів набутої стійкості.

В більшості випадків планктонна форма існування бактерій є короткочасною формою росту, яка швидко перетворюється на біоплівку. Показано, що прикріплена та захищена форма існування бактерій – біоплівка – є домінантною формою існування бактерій та охоплює не менше 95% життєвого циклу мікроорганізмів. Крім того, велику роль біоплівки в інфекційному процесі та у розвитку антибіотикорезистентності важко переоцінити. Тому окрему увагу в роботі було приділено дослідженням ефектів АЗМ і МСК у моно-застосуванні та у комбінації по відношенню до біоплівок.

Для дослідження впливу АЗМ і МСК на культури *K.pneumoniae* (мультирезистентні та без проявів набутої стійкості) були використані ті самі ізоляти, що й для дослідження ефектів на планктоні.

Для отримання біоплівок нічні культури планктону обраних штамів отримувалися за умов інтенсивної аерації струшуванням за температури 37°C. В подальшому суспензії нічних культур розбавлялися свіжим МХБ до щільності 0,5–0,6 за шкалою McFarland, що приблизно відповідає навантаженню $1\text{--}2 \times 10^8$ КУО/мл. Біоплівки вирощувалися у 96-лункових плашках протягом 24 годин. У стартові культури в кількості 200 мкл на лунку додавалися відповідні антибіотики в моно-режимі або у комбінаціях за схемою в трикратній повторності (таблиця 5.1.2) та інкубували ще 24 години.

Таблиця 5.1.2

Схема внесення протимікробних препаратів до біоплівкови форм бактерій

АЗМ мкг/мл	-	-	-	-	9	9	9	9	9	18	18	18	18
МСК мкг/мл	-	8	10	12	-	6	8	10	12	-	8	10	12

Після закінчення терміну інкубації інтенсивність росту біоплівки, тобто оптичну густина, вимірювали спектрофотометрично при OD_{570} за допомогою спектрофотометра типу MR-96A (Mindray, Китай) і за допомогою Multiskan™ FC Microplate Photometer (ThermoFisher Scientific, США). Дані експерименту наведені на рис. 5.1.5 і 5.1.6.

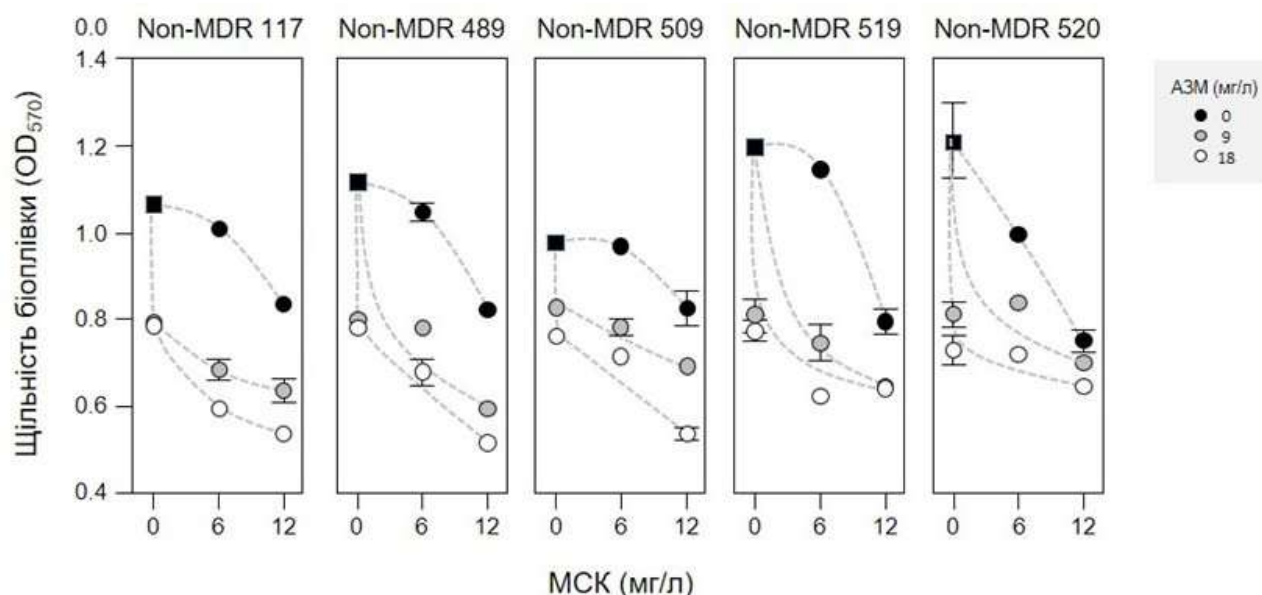


Рис. 5.1.5 – Вплив азитроміцину (АЗМ) та колістину метансульфонату (МСК) на біоплівкові культури *K. pneumoniae* без проявів набутої резистентності досліджували шляхом вимірювання оптичної щільності (OD_{570}) після 24 годин статичної інкубації. Дані наведені як середнє відносне значення $OD_{570} \pm SE$ ($n = 3$), при цьому культуру без АЗМ (контроль) зазначено темними колами, 9 мг/л АЗМ сірими колами та 18 мг/л АЗМ білими колами (тенденції позначені штриховими кривими). Для спрощення сприйняття статистичну обробку даних не візуалізували

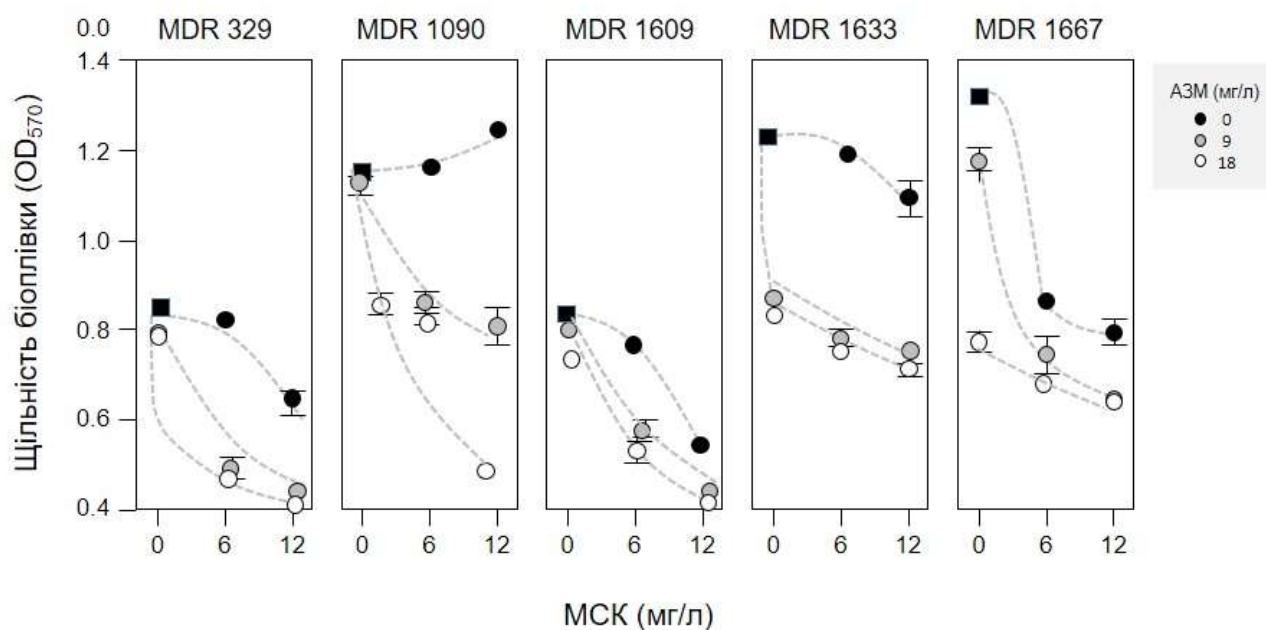


Рис. 5.1.6 – Вплив азитроміцину (АЗМ) та колістину метансульфонату (МСК) на біоплівкові культури мультирезистентних ізолятів *K.pneumoniae* досліджували шляхом вимірювання оптичної щільності (OD_{570}) після 24 годин статичної інкубації. Дані наведені як середнє відносне значення $OD_{570} \pm SE$ ($n = 3$), при цьому культуру без АЗМ (контроль) зазначено темними колами, 9 мг/л АЗМ сірими колами та 18 мг/л АЗМ білими колами (тенденції позначені штриховими кривими). Для спрощення сприйняття статистичну обробку даних не візуалізували

Щодо досліджуваних штамів, АЗМ проявляв виражену антибіоплівкову дію. При цьому не було виявлено залежності від ступеня резистентності та чутливості до антибіоплівкової дії АЗМ. Вплив МСК не мав передбачуваного ефекту відповідно до фенотипу чутливості до даного препарату. Тобто, МСК пригнічував розвиток біоплівки із різною ефективністю як у випадку ізолятів без проявів набутої стійкості, так і у випадку мультирезистентних штамів. В цілому, комбінація АЗМ і МСК мала виражену антибіоплівкову дію на всі досліджені мікроорганізми.

5.2. Вплив азитроміцину на фенотипову зміну чутливості *K. pneumoniae* до основних груп антимікробних препаратів

5.2.1. Характеристика та походження штамів відібраних для дослідження

Для дослідження довготривалого низькодозового впливу АЗМ на патерн чутливості мультирезистентних клебсієл було обрано чотири клінічні ізоляти. За профілем стійкості всі штами (KP 1090, KP 1633 і KP 1667) були віднесені до PDR-мікроорганізмів — повністю резистентних до протимікробних препаратів, що застосовуються на практиці для лікування інфекційних ускладнень (табл. 5.2.1.1).

Таблиця 5.2.1.1

Походження та чутливість до антимікробних препаратів ізолятів *K. pneumoniae*, що використані у планктонній та біоплівковій адаптації до АЗМ

Штами		1090	1633	1667
Походження*	Вид біоматеріалу**	<i>E</i>	<i>H</i>	<i>E</i>
Чутливість до антимікробних препаратів***	Азтреонам	R	R	R
	Амікацин	R	R	R
	Ампіцилін/сульбактам	R	R	R
	Гентаміцин	R	R	R
	Іміпенем	R	R	R
	Левовфлоксацин	R	R	R
	Меропенем	R	R	R
	Піперацилін/тазобактам	R	R	R
	Тобраміцин	R	S	S
	Триметоприм/сульфаметоксазол	R	R	R
	Цефепім	R	R	R

	Цефотаксим	R	R	R
	Цефтазидім	R	R	R
	Цефтазидім/авібактам	R	R	R
	Цефуросим	R	R	R
	Ципрофлоксацин	R	R	R

* Ізоляти було отримано від пацієнтів хірургічного та реанімаційних відділень КНП КОР «Київська обласна клінічна лікарня».

**В дослідженні використано наступні види біоматеріалу: Е – ендотрахеальний аспірат, Н – носоглотковий слиз.

***Чутливість до антимікробних препаратів визначалась відповідно стандартів EUCAST 13.0: S – чутливий, R – стійкий.

За допомогою хромогенних середовищ у штамів № 1633 і № 1677 було підтверджено наявність карбапенемаз KPC, а у штаму № 1090 – β -лактамази розширеного спектру. Методом ПЛР у дослідних штамів вдалося ідентифікувати гени *blaNDM* (клас В за Ambler [137], метало- β -лактамази) та *blaKPC* (клас А за Ambler, серинові β -лактамази) у штаму № 1667, *blaKPC* – у штаму № 1633 та ген *blaNDM* – у штаму № 1090.

5.2.2. Процес адаптації культур мікроорганізмів до азитроміцину

На наступному етапі експериментального дослідження проводили адаптацію виділених та охарактеризованих ізолятів *K. pneumoniae* до азитроміцину. Для цього використовували комерційний препарат азитроміцину (Фармекс Груп, Україна).

Адаптацію культур проводили у рідкому середовищі МХБ, що містило азитроміцин у концентрації 5 мг/л. Азитроміцин, згідно з рекомендаціями EUCAST та CLSI [143,135], застосовується лише для лікування інфекцій, спричинених окремими представниками *Enterobacterales*, зокрема *Salmonella Typhi* та *Shigella* spp. При цьому МІК становить ≤ 16 мг/л. Таким чином, у дослідженні використовували сублетальні дози антибіотика.

Для приготування цього середовища готували стоковий розчин шляхом розчинення 2,5 мг азитроміцину в 500 мкл диметилсульфоксиду. Після цього до 70 мл МХБ додавали 70 мкл отриманого розчину. Готовий бульйон з азитроміцином розливали по 5 мл у пробірки, після чого інокулювали його добовою культурою мікроорганізмів, що використовувалася у дослідженні.

Інкубація досліджуваних культур у середовищі з азитроміцином тривала 24 години за температури 35°C. Щодоби з приготовленого свіжого стокового розчину готували нову порцію МХБ з 5 мг/л азитроміцину та переносили 50 мкл попереднього пасажу досліджуваних культур до 5 мл свіжого бульйону. Початкові (неадаптовані) культури, що використовувалися як контроль, зберігали при температурі 4–6 °C на триптонно-соевому агарі.

Для дослідження ефективності адаптації за різних фізіологічних форм бактерій адаптацію проводили паралельно у планктонній та у біоплівковій формі. Для цього культури вирощували стаціонарно за термостатних умов при 37°C та за умов агітації (струшування) при 180 агітацій за хвилину за таких самих температурних умов при 37°C. Як зазначалось вище, середовище для кожного наступного пасажу готувалось свіже через хімічну нестабільність АЗМ у вигляді водного розчину. Пасажування проводилось щоденно протягом 14 днів. Останній 14й пасаж розсівався на середовище МХА, обирались три випадкові колонії, які розсівались окремо на агаризоване середовище та визначали їх чутливість до антибіотиків диско-дифузійним способом.

5.2.3. Зміни фенотипу чутливості *K. pneumoniae* в результаті адаптації до азитроміцину

Порівняльний аналіз результатів адаптації до АЗМ виявив статистично значущі зміни у зонах затримки росту для окремих груп антибіотиків як при адаптації у планктонній формі (рис. 5.2.3.1), так і у біоплівковій формі (рис. 5.2.3.2).

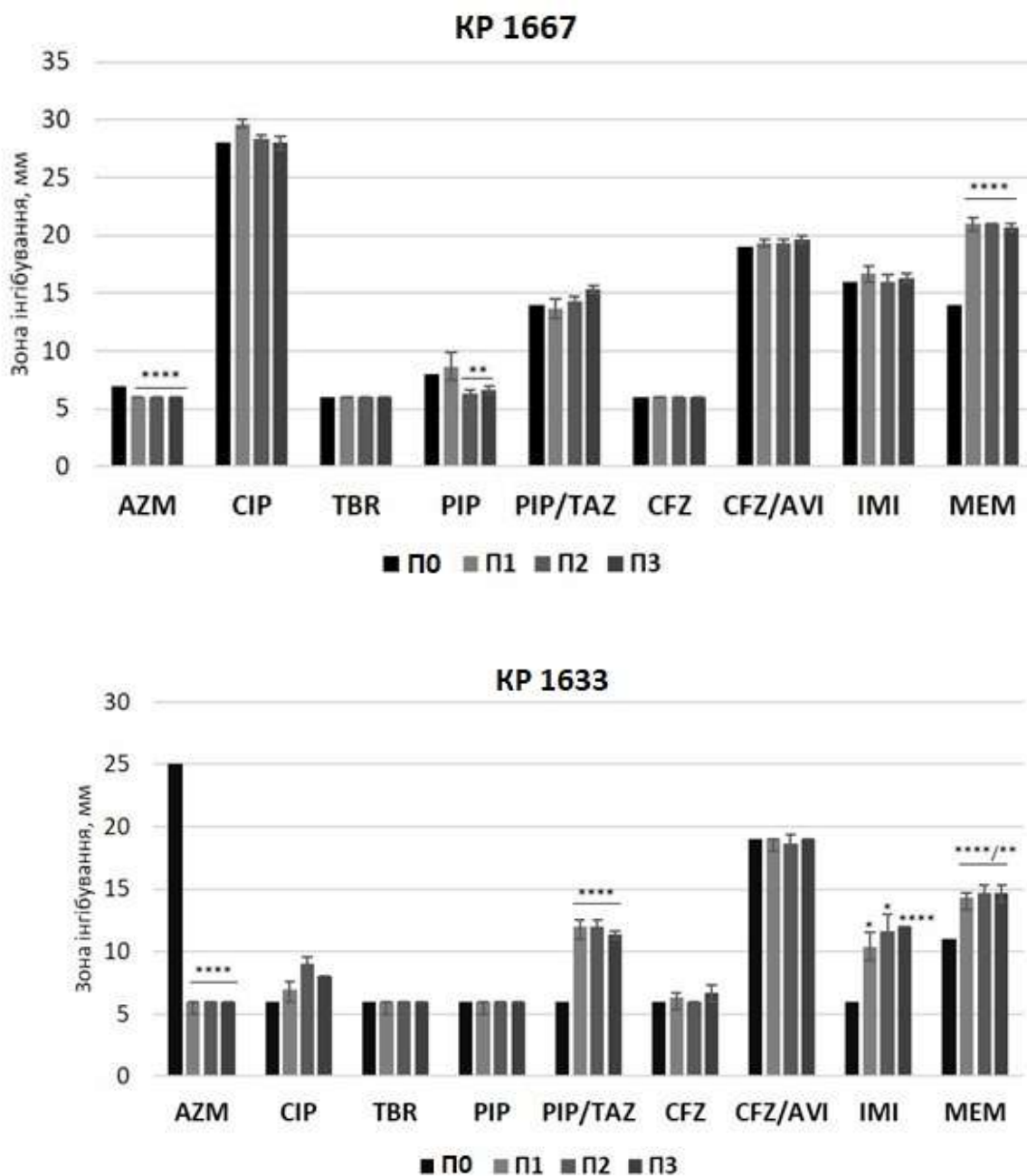
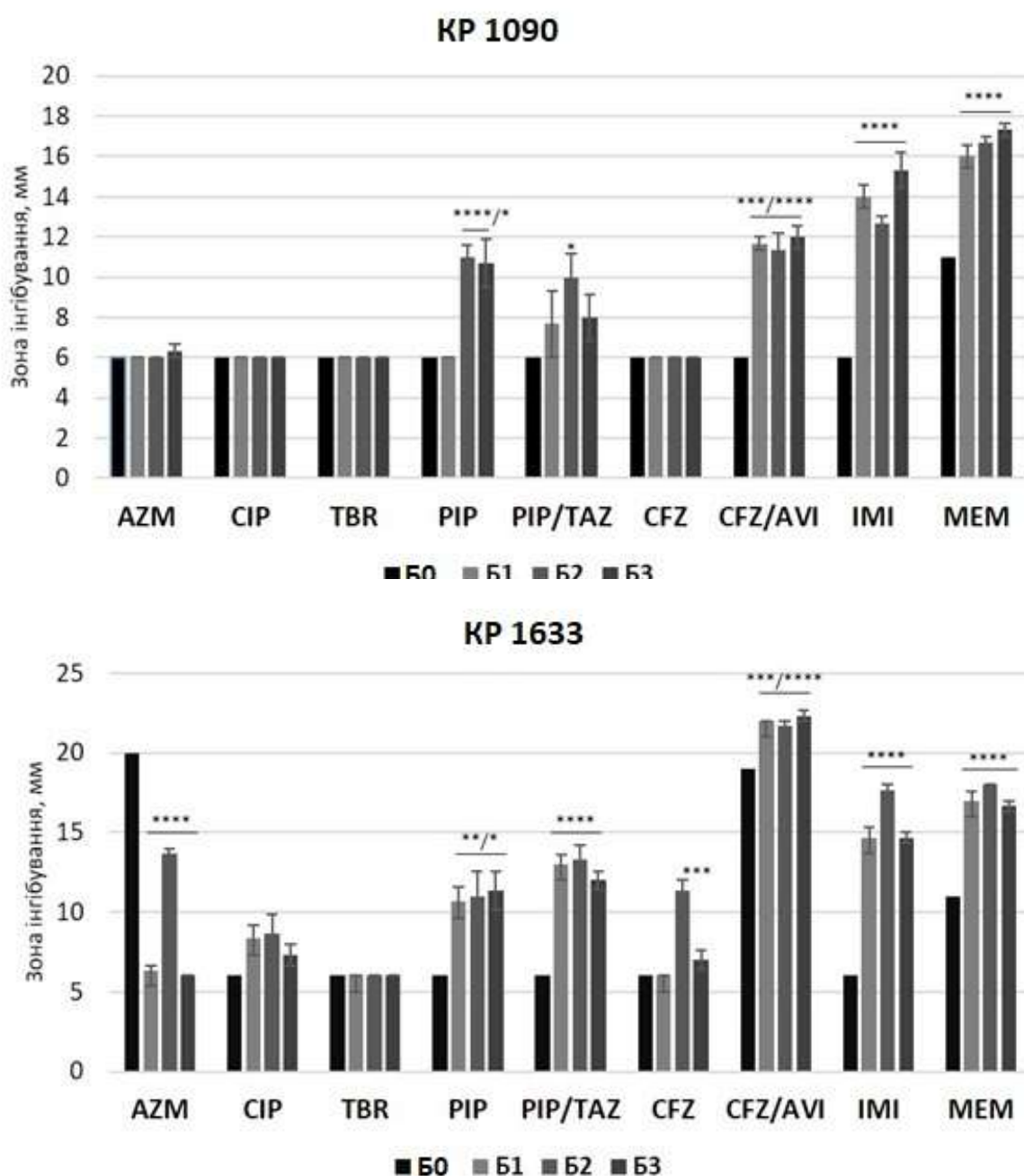


Рис. 5.2.3.1– Результати адаптація трьох штамів PDR *K. pneumoniae* (P0) до азитроміцину (5 мг/л) у планктонних культурах (180 об/хв), 14 пасажів. P1, P2, P3 — три випадково вибрані колонії з 14-го пасажу (планктонна адаптація). AZM – азитроміцин, CIP – ципрофлоксацин, TBR – тобраміцин, PIP – піперацилін, PIP/TAZ – піперацилін/тазобактам, CFZ – цефтазидим, CFZ/AVI – цефтазидим/авібактам, IMI – іміпенем, MEM – меропенем. Статистична значущість порівняно з контролем. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,005$; **** $p < 0,001$

Під час 14-денного впливу сублетальних доз азитроміцину на клінічні ізоляти *K. pneumoniae* було встановлено, що під дією цього препарату змінювалася чутливість планктонної культури до карбапенемів, а також окремих пеніцилінових і цефалоспоринових антибіотиків. У всіх трьох ізолятів статистично значуще збільшилася чутливість до меропенему, а у штамів № 1090 та № 1633 також і до іміпенему. Разом з тим зросла чутливість штаму № 1633 до піперациліну/тазобактаму, а штаму № 1090 — до цефтазидиму/авібактаму. Водночас у штамів № 1667 та № 1633 спостерігалось статистично значуще зменшення чутливості до азитроміцину.



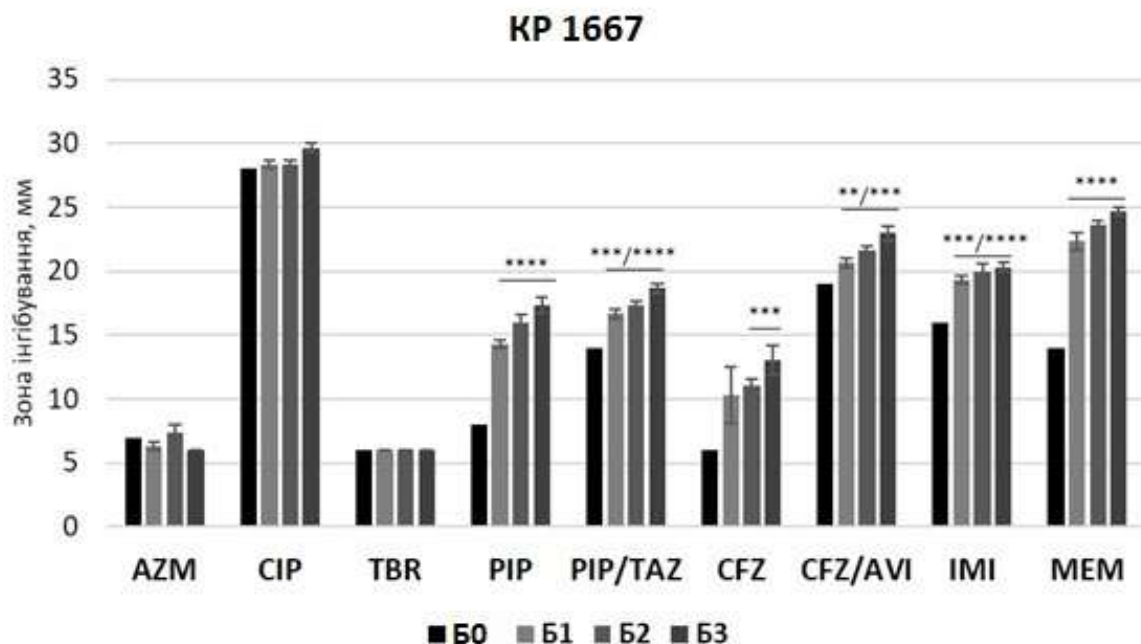


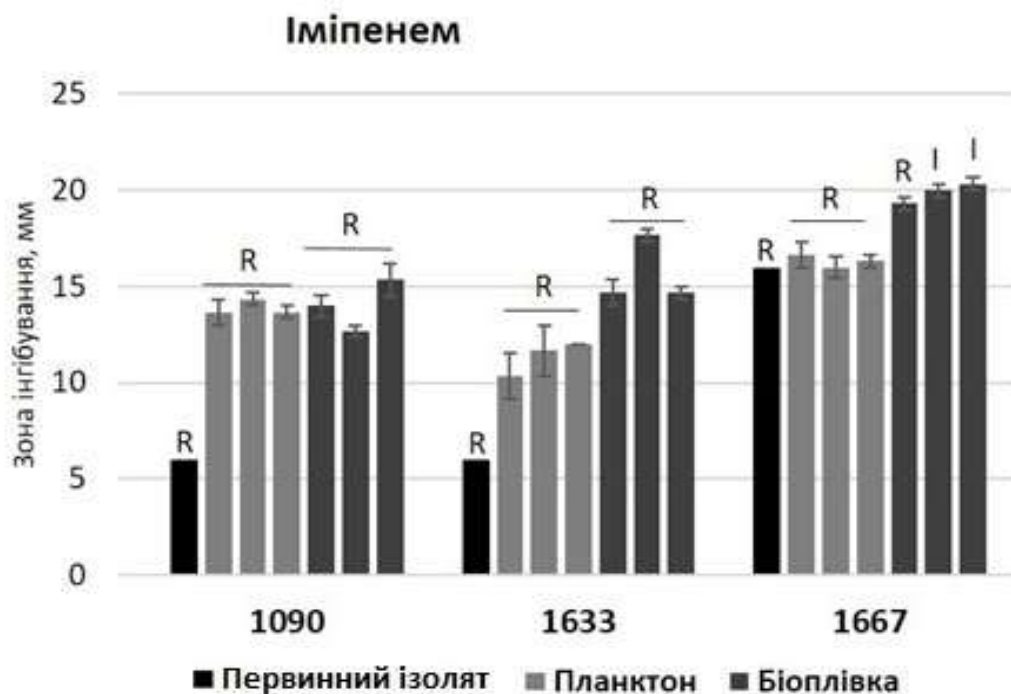
Рис. 5.2.3.2 – Результати адаптації трьох штамів PDR *K. pneumoniae* (B0) до азитроміцину (5 мг/л) у культурах біоплівки, 14 пасажів. B1, B2, B3 — три випадково вибрані колонії з 14-го пасажу (біоплівкова адаптація). AZM – азитроміцин, CIP – ципрофлоксацин, TBR – тобраміцин, PIP – піперацилін, PIP/TAZ – піперацилін/тазобактам, CFZ – цефтазидим, CFZ/AVI – цефтазидим/авібактам, IMI – іміпенем, MEM – меропенем. Статистична значущість порівняно з контролем. * $p < 0,05$; ** $p < 0,01$; *** $p < 0,005$; **** $p < 0,001$

Більша різниця в реверсії чутливості спостерігалася при використанні біоплівкової форми бактеріальних культур *K. pneumoniae*. У всіх трьох досліджених культурах статистично значуще підвищувалася чутливість до карбапенемів, пеніцилінів та цефалоспоринів (за винятком штаму № 1090 до цефтазидиму). Як і в попередньому випадку, у штамів № 1667 та № 1633 спостерігалася зменшення чутливості до азитроміцину.

В результаті пасажування у середовищі з АЗМ відбулося підвищення толерантності до цього антибіотика до абсолютного мінімуму, тобто всі культури стали до нього абсолютно нечутливими. Під час порівняльного аналізу статистично значущих змін у зонах затримки росту з'ясувалося, що адаптація до АЗМ призвела до підвищення чутливості штамів до окремих β -лактамних антибіотиків. При

цьому рівень підвищення чутливості був вищим за умов адаптації у біоплівковій формі, ніж у планктонній.

Цікаво, що змін чутливості до фторхінолонів (ципрофлоксацин) та аміноглікозидів (тобраміцин) не спостерігалось для всіх похідних ізолятів. Також варто зазначити, що серед β -лактамів особливо підвищилася чутливість до тих антибіотиків, резистентність до яких забезпечується переважно підвищенням ефективності ефлюксу (зворотних трансмембранних pomp). Серед таких антибіотиків були піперацилін/тазобактам, цефтазидим/авібактам, меропенем та іміпенем. Найбільші зміни чутливості спостерігалися до іміпенему та меропенему, що виражалося у збільшенні зони затримки росту біля дисків з вище зазначеними антибіотиками. При цьому саме до меропенему інтерпретація зон затримки росту дозволила встановити зміну фенотипу з резистентного (R) до чутливого з підвищеною експозицією (I) для штамів КР 1090, КР 1633, або чутливого (S), як для штаму КР 1667. Рівень чутливості був вищим у біоплівкових ізолятах (рис. 5.2.3.3).



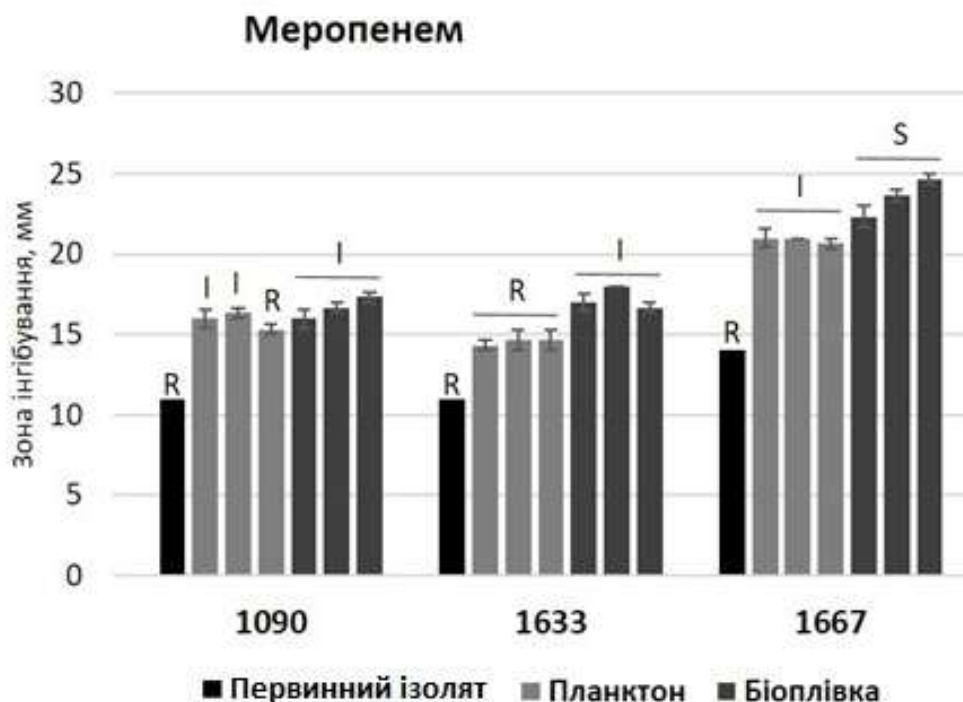


Рис. 5.2.3.3 – Порівняння чутливості до меропенему та імipенему культур *K. pneumoniae*, адаптованих до азитроміцину (14 пасаж) у планктонних культурах (світло-сірий) та біоплівках (темно-сірий) з інтерпретацією фенотипів: R – резистентний; I – чутливий, підвищена експозиція, S – чутливий

Таким чином, було встановлено, що в результаті впливу низьких (сублетальних) концентрацій АЗМ на три PDR штами *K. pneumoniae* протягом 14 пасажів (14 діб) розвинулася адаптація до АЗМ, що призвела до зменшення чутливості до нього в межах цієї концентрації. Водночас підвищилася чутливість до деяких β -лактамних антибіотиків, зокрема до меропенему та імipенему. При цьому для меропенему чутливість змінилася якісно і перейшла з категорії «резистентний» до категорії «чутливий, підвищена експозиція» або «чутливий». Отже, меропенем виявився найбільш перспективним антибіотиком щодо підвищення чутливості до нього внаслідок адаптації до АЗМ. Комбінація препаратів азитроміцин та меропенем є перспективною для лікування важких інфекцій, спричинених *K. pneumoniae* з множинною лікарською стійкістю.

РОЗДІЛ 6. АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ ДОСЛІДЖЕНЬ

Спостереження за резистентністю до протимікробних препаратів уже понад десять років залишається одним із ключових глобальних пріоритетів у сфері охорони здоров'я. Це питання набуває дедалі більшої ваги через загрозливі масштаби поширення антибіотикорезистентності, яка підриває ефективність сучасної медицини. За даними ВООЗ, у звіті «Antimicrobial resistance: global report on surveillance» наголошується, що резистентність до протимікробних препаратів є серйозною загрозою для глобальної охорони здоров'я, яка потребує комплексного моніторингу та багатосторонніх зусиль для її подолання [144]. Особливу увагу привертає роль зовнішніх факторів, таких як військові конфлікти та природні катастрофи, у прискоренні розвитку протимікробної резистентності. У таких екстремальних умовах часто виникають ситуації, які сприяють неконтрольованому використанню антибіотиків, порушенню санітарно-гігієнічних норм та обмеженню доступу до ефективних систем охорони здоров'я. Це створює сприятливе середовище для швидкого поширення резистентних патогенів. Як зазначено у дослідженні Pallett SJC та співавторів, вплив конфліктів на розвиток антибіотикорезистентності стає дедалі більш очевидним, що підтверджується численними емпіричними спостереженнями [145]. Це незалежне міркування також було озвучено у політичній заяві після Засідання високого рівня Генеральної Асамблеї Організації Об'єднаних Націй щодо протимікробної резистентності у 2024 році. У тексті політичної декларації було наголошено на критичній важливості боротьби з антибіотикорезистентністю та визнано, що глобальна координація та співпраця між країнами є необхідними для протидії цій загрозі у 2024 році [146]. Отже, активні бойові дії та природні катастрофи значно погіршують ситуацію, створюючи умови, у яких доступ до контрольованого лікування антибіотиками стає утрудненим, а неконтрольоване застосування препаратів стає поширеною практикою. Це, своєю чергою, сприяє прискореному відбору та поширенню резистентних штамів, які важко лікувати навіть сучасними препаратами. Проблема потребує не лише посиленого моніторингу, але й розробки комплексних стратегій, що враховують вплив зовнішніх кризових факторів.

Таким чином, антибіотикорезистентність є багатогранною проблемою, яка вимагає комплексного підходу, що включає як глобальний моніторинг, так і врахування ролі локальних факторів у її прискоренні. Це питання має залишатися у фокусі міжнародної спільноти для забезпечення ефективної координації дій, спрямованих на її стримування.

Перший етап дисертаційного дослідження полягав в аналізі інформації з бази даних WHONET з моменту запровадження в лабораторії методології визначення чутливості мікроорганізмів до протимікробних препаратів згідно рекомендацій EUCAST (2018, 2019 pp), 2 роки періоду пандемії (2020, 2021 pp) та за два роки повномасштабного вторгнення РФ на територію України. Аналіз даних дозволив встановити, що найбільш поширеними мікроорганізмами в даному лікувальному закладі є *K. pneumoniae*, *A. baumannii*, *E. coli*, *P. aeruginosa*, *S. aureus*, *S. epidermidis*. Причому тенденція поширеності мікроорганізмів змінювалось від року до року.

Активні бойові дії на території України значно вплинули на мікробний пейзаж та рівень стійкості до антибактеріальних препаратів, що знаходить своє підтвердження як у закордонних, так і в українських дослідженнях. Умови, створені військовим конфліктом, включаючи порушення санітарно-гігієнічних норм, обмежений доступ до контрольованого лікування та нерегульоване використання антибіотиків, сприяють швидкому поширенню мультирезистентних організмів.

Дослідження Zwittink Romy D. та співавторів, проведене в Нідерландах, підкреслює важливість моніторингу мультирезистентних бактерій серед пацієнтів з України. У період з березня по серпень 2022 року було зібрано дані, які свідчать про значне поширення стійких до протимікробних препаратів штамів серед пацієнтів з України, госпіталізованих у медичні заклади Нідерландів. Це дослідження демонструє, що рівень стійкості до антибіотиків серед ізолятів, отриманих від цих пацієнтів, суттєво вищий порівняно з локальними популяціями бактерій [147].

Значна частина нещодавньої літератури в цій галузі зосереджена на розпізнаванні грамнегативних мікроорганізмів з високою множинною стійкістю,

що ускладнює медичне обслуговування пацієнтів з України [148, 149, 150, **Ошибка! Источник ссылки не найден.**, 152]. До початку повномасштабного вторгнення РФ у 2022 році Україна вже брала активну участь у глобальних програмах моніторингу протимікробної резистентності, що є важливим елементом боротьби з поширенням мультирезистентних мікроорганізмів. Зокрема, Україна почала подавати дані наглядку за протимікробною резистентністю до міжнародних систем, таких як програма ВООЗ для Центральної Азії та Європи. Ці дані є цінним джерелом інформації для оцінки регіональних і глобальних тенденцій у поширенні резистентних до антибіотиків збудників.

Дані, представлені у звіті «Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023-2021 data», свідчать про значне зростання рівня стійкості ключових грамнегативних мікроорганізмів до β -лактамів, які традиційно використовуються для лікування бактеріальних інфекцій [153]. Це є тривожним сигналом, оскільки β -лактами, включаючи пеніциліни, цефалоспорини та карбапенеми, є основними класами антибіотиків для лікування тяжких інфекцій, оскільки мають добру біодоступність, пероральні форми та низьку токсичність, відносно до інших класів протимікробних препаратів.

Зростання стійкості до β -лактамів виявляється серед таких ключових збудників, як *Klebsiella pneumoniae*, *Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa*. Ці мікроорганізми, особливо у госпітальному середовищі, відіграють основну роль у виникненні тяжких інфекційних ускладнень, включаючи сепсис, пневмонію та інфекції сечовивідних шляхів. Більше того, значна частина штамів цих бактерій демонструє мультирезистентність, тобто нечутливість до кількох класів антибіотиків, що значно ускладнює вибір ефективної терапії.

Підвищення рівня стійкості до β -лактамів також є наслідком неконтрольованого використання антибіотиків, відсутності належного контролю за призначенням препаратів, а також недостатнього впровадження заходів інфекційного контролю в медичних установах. Ця тенденція характерна не лише для України, але й для інших країн регіону, що підкреслює важливість колективних зусиль у боротьбі з цією проблемою.

Україна, як частина міжнародної системи моніторингу, надає можливість аналізувати динаміку поширення резистентних мікроорганізмів, що є важливим елементом для розробки ефективних заходів боротьби з антибіотикорезистентністю. Участь у таких програмах дозволяє не лише покращити обізнаність про поширення резистентності, але й адаптувати підходи до лікування інфекцій відповідно до сучасних викликів.

Таким чином, участь України у програмах нагляду за протимікробною резистентністю є важливим кроком для інтеграції до глобальної системи боротьби з антибіотикорезистентністю. Це дозволяє не лише вчасно реагувати на нові загрози, але й сприяє розвитку національної системи моніторингу, що є ключовим для збереження ефективності протимікробних препаратів у майбутньому.

Відтоді виявлення та характеристика мультирезистентних мікроорганізмів часто покладалися на програми скринінгу та епіднагляду, які проводились у сусідніх європейських країнах. Це було особливо актуально для пацієнтів, які отримували травми під час війни та потребували переведення до декількох медичних закладів або проходили тривале лікування у стаціонарі. Така ситуація відображає складність моніторингу та контролю за поширенням мультирезистентних патогенів у регіонах, де через активні бойові дії можливості локального епіднагляду значно обмежені.

Згідно з дослідженням Sandfort M. і співавторів, у Німеччині у 2022 році було зафіксовано значне зростання кількості ізолятів *Klebsiella pneumoniae*, які продукують NDM-1 та NDM-1/OXA-48. Це явище було безпосередньо пов'язане з війною в Україні та медичною евакуацією пацієнтів, які отримували допомогу у декількох лікарнях [154]. Додатково, дослідження Stein C. та співавторів, яке було проведено в німецькому медичному закладі, продемонструвало високу частоту мультирезистентних ізолятів, отриманих від українських пацієнтів. У цьому дослідженні також було проведено геномний аналіз, який дозволив оцінити стійкість до антибіотиків і генетичну спорідненість цих ізолятів, що підкреслює складність проблеми та необхідність посиленого епіднагляду [155]. **Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Однак відсутність даних епіднагляду на ранніх

етапах лікування пацієнтів значно ускладнює розуміння факторів ризику зараження мультирезистентними інфекціями. Без цих даних стає майже неможливим ефективно оцінити шляхи передачі резистентних патогенів або визначити оптимальні методи лікування. Такий дефіцит інформації обмежує можливості для розробки цілеспрямованих заходів із пом'якшення наслідків поширення мультирезистентних штамів, а також ускладнює впровадження антимікробного контролю в умовах обмежених ресурсів.

Недостатність локальних епідаглядових даних підкреслює необхідність інтеграції національних систем у міжнародні програми моніторингу, які дозволяють збирати більш точну інформацію про поширення резистентних мікроорганізмів. Це також створює можливості для впровадження більш ефективних заходів інфекційного контролю, адаптованих до специфічних умов регіону, та для покращення стратегій лікування мультирезистентних інфекцій.

В нашому дослідженні найбільш видиме підвищення виділення грам-негативних мікроорганізмів спостерігається з липня 2022 року. На нашу думку, це пов'язано з поступовим збільшенням хірургічних пацієнтів, яких було евакуйовано з прифронтових територій України. Особливу увагу звертає на себе стрімке збільшення частоти виділення ізолятів *Klebsiella pneumoniae ss. pneumoniae* та *Pseudomonas aeruginosa* серед пацієнтів хірургічних відділень. Проте в дослідженні Фоміна О.О. домінуючим мікроорганізмом був *A. baumannii*, а *K. pneumoniae* займала друге місце за поширеністю [156]. Одночасно з цим спостерігається тривожна тенденція до підвищення рівня стійкості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів, що суттєво ускладнює вибір ефективної терапії для лікування інфекцій. Це явище може бути зумовлене кількома факторами, серед яких одним із ключових є можливість госпітального походження ізолятів. У випадку військових дій та масових евакуацій пацієнтів цей фактор стає ще більш вагомим, оскільки більшість постраждалих проходить декілька етапів медичної евакуації, часто через кілька медичних установ. Умови надання допомоги в таких установах можуть варіюватися, що створює можливості для поширення внутрішньолікарняних інфекцій, зокрема серед пацієнтів із тяжкими пораненнями

або тривалим перебуванням у реанімаційних відділеннях.

Наразі в Україні недостатньо вивчена поширеність внутрішньолікарняних інфекцій, що значно ускладнює повне розуміння масштабів проблеми. Проте вже доступні деякі дані, які демонструють серйозність ситуації. Зокрема, за результатами пілотного дослідження, проведеного у 2021 році, було визначено одномоментну поширеність інфекційних хвороб, пов'язаних із наданням медичної допомоги (ІПНМД), а також використання антимікробних препаратів у закладах охорони здоров'я, які надають цілодобову стаціонарну допомогу. Згідно з цими даними, у відділеннях з високим ризиком, таких як реанімаційні та хірургічні, поширеність ІПНМД досягала 10% [157, 158]. Такі показники є вагомим аргументом на користь посилення заходів інфекційного контролю, особливо у відділеннях з високим ризиком, де пацієнти найбільш уразливі до розвитку інфекцій. Тривалість госпіталізації, необхідність інвазивних медичних втручань, таких як встановлення катетерів або вентиляційної підтримки, а також перебування у переповнених медичних установах створюють сприятливі умови для поширення резистентних штамів мікроорганізмів.

Поширеність ІПНМД та зростання резистентності до антибіотиків серед таких ізолятів ще більше підкреслюють важливість подальших досліджень, спрямованих на вивчення цієї проблеми. Зокрема, необхідно проводити регулярний моніторинг резистентності, щоб краще розуміти механізми її поширення та адаптувати протоколи лікування відповідно до змін епідеміологічної ситуації. Важливим також є впровадження ефективних стратегій антимікробного управління, спрямованих на раціональне використання антибіотиків та запобігання розвитку нових резистентних штамів.

Разом з тим, тенденція до зниження частоти виділення стійкої до антибактеріальних препаратів грампозитивної мікрофлори може свідчити про те, що інфікування рани відбулось у позагоспітальних умовах.

Порівнюючи проведений аналіз з роботою І.Г. Березнякова [27], в якому найчастішими збудниками ранової інфекції були *Staphylococcus* spp. з високою часткою стійкості до метициліну, спостерігалася менша частка виділення грам-

позитивної мікрофлори з ран, а найрозповсюдженішим ізолятом був *Staphylococcus epidermidis*. При цьому слід зауважити тенденцію до зменшення загальної резистентності серед всіх грам-позитивних ізолятів. Порівнюючи частку грам-негативної мікрофлори, яка виділялася з ран, з вищезазначеним дослідженням, проведений аналіз вказує на збільшення її виділення як у 2021 році, так і ще більшою мірою у 2022 році. Передовим ізолятами, які виділялися, були мікроорганізми *Klebsiella* spp., *Escherichia coli* та *Pseudomonas aeruginosa*.

Порівнюючи дане дослідження з попередньою роботою [159] спостерігалось збереження або збільшення динаміки виділення стійких грам-негативних мікроорганізмів, особливо у 2022 році.

Тенденція до збільшення стійкості до антибактеріальних препаратів грам-негативної мікрофлори зберігається по всьому світу, але різке збільшення цього явища в Україні обумовлене викликами, які постають перед медичною системою на всіх етапах евакуації поранених.

В ході дослідження була виявлена виражена тенденція зростання резистентності *A.baumannii* до аміноглікозидів, що спостерігалась з 2019 року. Ця тенденція викликає занепокоєння, оскільки аміноглікозиди є важливим класом антибактеріальних препаратів, які широко використовуються для лікування тяжких інфекцій, викликаних грамнегативними мікроорганізмами. У цей же період за даними дослідження компанії «Proxima Research» було зафіксовано значне зростання споживання фторхінолонів серед населення України [160]. Ця кореляція привертає увагу до потенційного зв'язку між широким використанням фторхінолонів і розвитком резистентності до аміноглікозидів та інших антибактеріальних препаратів.

Фторхінолони є потужними антимікробними засобами, що активно застосовуються для лікування широкого спектра інфекцій. Проте відомо, що вони здатні викликати посилення експресії ефлюкських pomp у бактерій, що є одним із механізмів розвитку резистентності до антибіотиків. Ефлюкські помпи відіграють важливу роль у стійкості бактерій, оскільки вони забезпечують активне видалення антибактеріальних препаратів із клітини, що знижує їх ефективність. Це стосується

не лише фторхінолонів, але й інших антибіотиків, які мають внутрішньоклітинні мішені, таких як аміноглікозиди, тетрацикліни та макроліди. Таким чином, підвищене використання фторхінолонів може створювати селективний тиск, що сприяє поширенню резистентних штамів *A. baumannii* та інших грамнегативних мікроорганізмів [161].

Окрім цього, підвищення рівня резистентності до аміноглікозидів можна також пов'язати із генетичними механізмами, зокрема наявністю генів, які кодують модифікуючі ферменти. Ці ферменти змінюють структуру антибіотика, роблячи його неактивним. Однак ключовим є саме взаємозв'язок між широким використанням фторхінолонів та підвищенням активності ефлюксних pomp, який значно ускладнює лікування інфекцій, спричинених *A. baumannii*.

Ця ситуація підкреслює важливість раціонального використання антибактеріальних препаратів та впровадження програм антимікробного управління, спрямованих на зменшення селективного тиску, що створює підґрунтя для поширення резистентних штамів. Додатково необхідно зосередити зусилля на моніторингу використання антибіотиків, зокрема фторхінолонів, для зниження ризиків подальшого поширення резистентності.

Таким чином, виявлена тенденція зростання резистентності *A. baumannii* до аміноглікозидів, яка може бути обумовлена посиленням використанням фторхінолонів, вимагає подальшого детального дослідження. Це дозволить розробити ефективні стратегії для контролю та зниження поширення резистентності, забезпечуючи тим самим збереження ефективності антибактеріальної терапії у майбутньому.

Під час дослідження було зафіксовано факт збільшення резистентності *Pseudomonas aeruginosa* до карбапенемів на тлі одночасного зниження стійкості до азтреонаму. Це явище привертає увагу, оскільки може бути обумовлене змінами превалюючих штамів у популяції даного мікроорганізму. Зокрема, збереження чутливості до азтреонаму при резистентності до карбапенемів є важливою ознакою наявності у бактерій метало- β -лактамаз (МБЛ).

МБЛ — це ферменти, які ефективно гідролізують карбапенеми та інші β -

лактамі антибіотики, але не впливають на азтреонам. Азтреонам, як представник монобактамів, є унікальним у своїй нечутливості до гідролізу МБЛ. Водночас його активність може бути легко нейтралізована за наявності серинових β -лактамаз, що пояснює різницю у профілях чутливості між карбапенемами та азтреонамом. Ця відмінність дозволяє використовувати азтреонам як маркер для виявлення штамів, що продукують МБЛ, особливо у випадках, коли ці ферменти діють окремо від серинових β -лактамаз.

Дана тенденція найбільш чітко спостерігається у *Pseudomonas aeruginosa*, оскільки у цього виду бактерій продукція МБЛ та серинових β -лактамаз може бути незалежною. На відміну від *Enterobacterales*, де ці ферменти часто продукуються разом, у *Pseudomonas aeruginosa* збереження чутливості до азтреонаму на фоні стійкості до карбапенемів є важливим діагностичним показником.

Зазначений феномен підтримується даними дослідження, проведеного Vázquez-Ucha J.C., Alonso-García I. та співавторами. Вони підтвердили, що активність азтреонаму у комбінації з новими інгібіторами β -лактамаз є ефективним підходом до терапії інфекцій, викликаних МБЛ-продукуючими *Enterobacterales*. Однак у випадку з *Pseudomonas aeruginosa* роль азтреонаму в терапії може бути навіть більш значущою завдяки його унікальному профілю активності [162].

Варто звернути увагу, що *E.coli*. визначається CDC як другий за поширеністю збудник інфекцій кровотоку, але разом з тим в звіті показана тенденція до зниження резистентності до цефалоспоринов III покоління за період 2018-2022 років [163]. Результати нашого дослідження, навпаки, демонструють збільшення частоти виділення *E.coli*, стійких до цефалоспоринов III покоління та інших груп антибіотиків. Разом з тим, стійкість цього збудника до антибактеріальних препаратів була найнижчою серед досліджених груп грамнегативних мікроорганізмів і не перевищувала 60%. На нашу думку це може бути пов'язано з тим, що більшість виділених штамів *E.coli* не були госпітальними, а становили первинну причину гнійно-запальних уражень у пацієнтів.

Також було виявлено суттєві відмінності у трендах резистентності *Staphylococcus aureus* до цефокситину (який є маркером метицилін-резистентного

S. aureus — MRSA) під час нашого дослідження порівняно з даними, які надає система моніторингу Central Asian and Eastern European Surveillance of Antimicrobial Resistance (CAESAR). Ці розбіжності можуть бути обумовлені відмінностями у методології досліджень, географічними особливостями, доступом до антибіотиків та місцевими практиками їх використання.

За даними OneHealthTrust, у більшості країн Європи спостерігається збільшення частоти виділення MRSA, що підкреслює глобальну проблему поширення цього резистентного патогену [164]. MRSA є значущим викликом для сучасної медицини, оскільки його стійкість до метициліну робить неефективними стандартні β -лактамі антибіотики, що значно обмежує варіанти терапії та ускладнює лікування інфекцій, спричинених цим збудником.

У країнах з розвинутою системою охорони здоров'я, де активно використовуються антимікробні препарати, поширення MRSA пов'язане зі значним селективним тиском, який сприяє виживанню та розмноженню стійких штамів. У нашому дослідженні відзначаються відмінності в динаміці цього процесу, що може свідчити про різні епідеміологічні профілі або менш активний контроль за поширенням MRSA у порівнянні з країнами, які беруть участь у CAESAR.

Особливо тривожним є те, що MRSA не лише асоціюється з госпітальними інфекціями, але й все частіше виявляється у пацієнтів поза межами лікарень. Це підкреслює необхідність впровадження широкомасштабних заходів інфекційного контролю та програм раціонального використання антибіотиків. Про це ж свідчать і дані Європейського центру контролю і профілактики хвороб (ECDC) [165]. Причому відповідно цих даних в Україні також збільшується частота виділення метицилінрезистентного золотистого стафілокока. Відмінність цього факту від результатів нашого дослідження можна пояснити тим, що глобальному моніторингу підлягали виключно інвазивні ізоляти, виділені із крові та спинномозкової рідини, в той час як в нашому дослідженні оцінювалась загальна поширеність золотистого стафілококу та рівень його резистентності в окремих лікарнях, не залежно від виду біоматеріалу. Оскільки більшість *S. aureus* в нашому

дослідженні було виділено із хірургічних ран, зниження серед них відсотка MRSA може свідчити про зменшення ролі цього мікроорганізму в етіології ПНМД на фоні збільшення грамнегативної флори, про що вказано в розділі 3.1.

Як зазначалось вище, через брак молекулярно-епідеміологічних досліджень маркерів антибіотикорезистентності в Україні наразі відсутні систематизовані та повні дані щодо типів і поширеності найважливіших генетичних конструкцій, а також генів, які відповідають за антибіотикорезистентність у збудників госпітальних інфекцій. Ця проблема ускладнює розуміння реального масштабу поширення мультирезистентних штамів і їхнього впливу на клінічні результати лікування вітчизняних пацієнтів. Водночас, хоча комплексної системи спостереження немає, у країні було проведено певну кількість локальних досліджень, результати яких дозволяють отримати фрагментарне уявлення про ситуацію.

Так, у дослідженні В.М. Ганюк та співавторів було також визначено *Klebsiella pneumoniae* як домінуючий госпітальний штам серед збудників інфекцій, які асоційовані з наданням медичної допомоги. Однак за результатами цього дослідження превалюючим геном, що забезпечує стійкість до карбапенемів, виявився OXA-48. Цей результат відрізняється від висновків нашого дослідження, де домінуючим геном резистентності став NDM. Такі розбіжності можуть бути пов'язані з регіональними особливостями поширення різних генів резистентності, а також з відмінностями у досліджуваних зразках та умовах їхнього збору.

Цей факт підкреслює важливість подальшого проведення молекулярно-генетичних досліджень у різних регіонах країни. Вивчення поширеності та характеристик генів резистентності, таких як OXA-48, NDM та інші, має велике значення для розробки ефективних протоколів лікування інфекцій, спричинених мультирезистентними патогенами. Крім того, такі дослідження сприяють кращому розумінню епідеміології антибіотикорезистентності на національному рівні та створенню основ для подальшої інтеграції отриманих даних у міжнародні системи моніторингу.

Незважаючи на локальність нинішніх досліджень, вони є важливим внеском у

розуміння особливостей поширення госпітальних штамів *Klebsiella pneumoniae* та механізмів їхньої резистентності до протимікробних препаратів в Україні. Однак для ефективної боротьби з антибіотикорезистентністю необхідне створення загальнодержавної системи моніторингу, яка дозволить об'єднати локальні дослідження в єдину структуру, що дасть змогу краще оцінювати ситуацію та розробляти ефективніші стратегії боротьби з цією глобальною проблемою [166]. При порівнянні результатів дослідження з подібними роботами закордонних дослідників було відмічено схожі результати [167], але зустрічались також роботи, в результатах яких переважали інші карбапенемази [168, 169]. Важливо зазначити, що в багатьох публікаціях проілюстровані випадки комбінації одночасно декількох механізмів резистентності [170, 171], що було виявлено і в нашому дослідженні. Поєднання декількох механізмів резистентності у госпітальних штамів є важливим фактором, що значно ускладнює діагностику та вибір ефективної терапії, оскільки такі мікроорганізми можуть мати одночасно кілька генів стійкості, які не завжди проявляються на фенотиповому рівні. Відтак, подальше дослідження впливу різноманітних зовнішніх факторів на зростання антибіотикорезистентності, таких як активні військові дії, економічні зміни чи впровадження нових наказів з боку МОЗ, залишається критично важливим. Однак у поточних умовах реалізація таких досліджень є надзвичайно складною. Саме тому було проведено одне з перших лімітованих досліджень, метою якого було визначення розповсюдженості генів антибіотикорезистентності з карбапенемазною активністю серед штамів *Klebsiella pneumoniae*, ізолюваних від пацієнтів одного медичного закладу протягом 2020-2021 років. Результати цього дослідження були також порівняні із класичними фенотиповими тестами для виявлення карбапенемаз.

Таким чином, 65 ізолятів було досліджено фенотиповими та генотиповими методами. При визначенні чутливості в складі колекції було виявлено як полірезистентні мікроорганізми (59 ізолятів), так і чутливі до основних груп антибіотиків (6 ізолятів). Всі мікроорганізми було протестовано на здатність до гідролізу карбапенемів. Виявилось, що більша частина досліджуваних *K. pneumoniae* (58%) не мають такої здатності в умовах *in vitro*. В такому випадку

резистентність цих мікроорганізмів може бути зумовлена іншими механізмами, або такі показники свідчать про недосконалість методу, що також описано в літературних джерелах [172, 173, **Ошибка! Источник ссылки не найден.**]. Застосування методу комбінованих дисків показало певне поліпшення результатів порівняно з СІМ-тестом, однак і цей метод виявився недостатньо чутливим. Зокрема, метод комбінованих дисків виявив фенотипові ознаки КРС лише у 43% ізолятів, тоді як генетичні тести підтвердили наявність відповідного гена у 84,6% штамів. Щодо ОХА-48, фенотипові прояви були виявлені лише у 30,8% ізолятів, тоді як генотиповий аналіз підтвердив наявність цього гена у 44,6% ізолятів. Це свідчить про те, що фенотипові методи тестування не завжди здатні повністю відобразити генетичну природу резистентності. Крім того, у 6 штамів із чутливим до антибіотиків фенотипом було виявлено NDM (усі 6 ізолятів), ген ОХА-48 (1 штам) і КРС (3 штами).

Проте під час використання хромогенних середовищ було отримано більш точні результати. Цей метод показав набагато вищу чутливість у порівнянні з СІМ-тестом та методом комбінованих дисків. Результати скринінгу на наявність КРС-фенотипу майже співпали з результатами генетичного аналізу, а саме 86,7% проти 84,6%, що підтверджує ефективність цього методу. Отримані дані також підкреслюють високу поширеність КРС генотипу серед українських госпітальних штамів.

Таким чином, результати дослідження демонструють необхідність подальшого вдосконалення фенотипових методів виявлення карбапенемаз, а також підтверджують важливість використання генотипових підходів та хромогенних середовищ для скринінгу та аналізу резистентності. Це дозволить покращити діагностику, оптимізувати антибіотикотерапію та сприяти боротьбі з поширенням мультирезистентних штамів у госпітальних умовах.

Серед доступних джерел з 2022 року все частіше спостерігається зростання резистентності до протимікробних препаратів групи резерву, що викликає значну стурбованість у медичній спільноті. Це явище особливо характерне для мікроорганізмів, які продукують метало- β -лактамазу Нью-Делі (NDM). Цей

фермент є одним із ключових механізмів, що дозволяє грамнегативним бактеріям успішно протистояти дії карбапенемів, які є важливими препаратами для лікування тяжких інфекцій. У нещодавніх дослідженнях описані випадки поширення NDM-продукуючої *Pseudomonas aeruginosa* ST773 серед пацієнтів з України в лікарнях Нідерландів і Іспанії [175]. Це підкреслює глобальний характер проблеми і важливість міжнародної співпраці у боротьбі з антимікробною резистентністю.

Водночас залишаються значні прогалини у знаннях про поширеність як фенотипових, так і генотипових механізмів резистентності в Україні, особливо в контексті ранових інфекцій, що виникають унаслідок травм, отриманих у зонах активних бойових дій. Відсутність цієї інформації стає особливо критичною під час раннього хірургічного лікування поранень, коли своєчасне та точне призначення антимікробної терапії має життєво важливе значення. Відсутність комплексних даних ускладнює прийняття рішень щодо вибору протимікробних препаратів та оцінки ефективності заходів профілактики та контролю інфекцій.

Все вищезазначене підтверджує той факт, що фенотип мультирезистентності (MDR) у грамнегативних бактерій є надзвичайно складним явищем. Він не залежить лише від наявності генів стійкості, але є результатом взаємодії численних факторів. З іншого боку, наявність генів, таких як *blaIMP*, *blaNDM*, *blaVIM*, *blaKPC* та *blaOXA-48*, у полірезистентних штамів підтверджує їхню роль у формуванні резистентного фенотипу. Крім того, це вказує на високий потенціал таких генів до горизонтального розповсюдження в популяції, що робить проблему ще більш значущою.

Продовжуючи тему багатфакторної зумовленості антибіотикорезистентності, важливо звернути увагу на явище фенотипової стійкості, яке зумовлене утворенням біоплівки. Біоплівка, як додатковий механізм резистентності, суттєво ускладнює ефективність антимікробної терапії. Генетично обумовлена резистентність доповнюється структурними та фізіологічними особливостями біоплівки, що унеможлиблює її передбачення шляхом традиційного аналізу фенотипу. Практичний досвід застосування антибіотиків та результати лабораторних досліджень підтверджують, що профіль стійкості кожної конкретної

біоплівки відрізняється і залежить від її будови [176].

Важливо зазначити, що нечутливість біоплівки до протимікробних препаратів не має прямого зв'язку з резистентністю планктонної форми бактерій. Морфологічні особливості колоній, мукоїдність або інші параметри не дозволяють передбачити профіль стійкості біоплівки, оскільки на її структуру та поведінку значний вплив мають зовнішні сигнали середовища, які змінюються в процесі інфекції. Це ускладнює розуміння природи біоплівок і вимагає проведення детальних досліджень для кожного конкретного ізоляту. Таким чином, утворення біоплівки є однією з ключових причин фенотипової стійкості. Подальше вивчення її механізмів дозволить краще розуміти процес формування резистентності, зробити терапію більш раціональною та підвищити ефективність лікування пацієнтів із хронічними інфекціями. Впровадження індивідуалізованого підходу до діагностики біоплівок є важливим напрямом для подальшого розвитку антимікробної терапії.

Інше дослідження демонструє аналіз чутливості клінічних ізолятів *Pseudomonas aeruginosa* до протимікробних препаратів в умовах утворення біоплівки. Досліджувані антибіотики включали ципрофлоксацин, тобраміцин та колістин, а загальна вибірка становила 352 клінічних ізоляти. Це масштабне дослідження дозволило оцінити різницю між чутливістю мікроорганізмів у планктонній формі та в умовах біоплівки, що краще моделює природне середовище існування бактерій у макроорганізмі.

Результати дослідження показали, що, незважаючи на однаково високу чутливість ізолятів *Pseudomonas aeruginosa* до зазначених антибіотиків у планктонній формі, рівень чутливості в умовах біоплівки суттєво варіював між різними ізолятами. Зокрема, у деяких клінічних ізолятів спостерігалась надзвичайна чутливість до антибіотиків навіть у біоплівковій формі. Цікаво, що саме низькі концентрації антибіотиків, таких як ципрофлоксацин чи тобраміцин, могли суттєво зменшувати кількість життєздатних клітин у цих умовах. Це підкреслює потенціал використання менших доз протимікробних препаратів у певних клінічних сценаріях, за умови правильного підбору терапії.

Однак така тенденція не була універсальною. Для частини ізолятів зменшення кількості життєздатних клітин у біоплівковій формі досягалось лише за умови застосування високих концентрацій антибіотиків. Це свідчить про те, що фактори, які визначають чутливість мікроорганізмів у біоплівці, є складними та залежать від індивідуальних характеристик кожного ізоляту. Наприклад, у випадку порівняння біоплівкової чутливості до тобраміцину двох ізолятів *Pseudomonas aeruginosa*, було встановлено, що рівень чутливості суттєво різнився, хоча мінімальна інгібуюча концентрація (МІК) тобраміцину для обох ізолятів була однаковою і складала 1 мг/л. Це свідчить про те, що чутливість у біоплівковій формі не завжди корелює з результатами, отриманими для планктонної форми бактерій.

Дані дослідження підкреслюють, що чутливість бактерій до антибіотиків у біоплівці залежить від багатьох факторів, які виходять за межі традиційної оцінки за допомогою МІК. Ці фактори включають метаболічний статус клітин у біоплівці, доступність антибіотиків у товщі біоплівки, а також специфічні властивості матриксу біоплівки.

Таким чином, дослідження чутливості в умовах біоплівок надає важливу інформацію для розробки нових підходів до терапії інфекцій, пов'язаних із біоплівками. Це підтверджує необхідність застосування біоплівкових моделей при оцінці ефективності антибіотиків для кращого розуміння реального впливу препаратів у клінічних умовах [177]. Причиною такої різниці є те, що біоплівка є природною формою існування мікроорганізмів, яка еволюційно пристосована до виживання у складних і змінних умовах навколишнього середовища, тоді як агаризовані колонії — це штучне явище, створене у лабораторних умовах для зручності вивчення мікроорганізмів. Це визначає суттєві відмінності у функціонуванні біоплівки в макроорганізмі порівняно з колоніями, вирощеними на штучних поживних середовищах.

У обох випадках перший шар клітин прикріплюється до твердої поверхні, що є необхідною умовою для формування стійкої структури. В агаризованих культурах та біоплівках клітини утримуються разом завдяки взаємодії компонентів матриксу з клітинними поверхнями. Ці компоненти утворюють своєрідний "клей",

який забезпечує механічну стабільність і дозволяє мікроорганізмам ефективно координувати свої функції.

Однак ключова різниця полягає в механізмах постачання поживних речовин. В агаризованих культурах поживні речовини надходять через капілярний потік із нижніх шарів агарового середовища. Цей потік забезпечує відносно стабільне і передбачуване живлення клітин, що впливає на їхній ріст і чутливість до антибіотиків. У біоплівках, які формуються у макроорганізмі, постачання нутрієнтів здійснюється шляхом дифузії з оточуючої рідини, такої як міжклітинна рідина чи кров. Цей процес залежить від багатьох факторів, включаючи хімічний склад середовища, гідродинамічні умови та наявність імунних клітин.

Така різниця у постачанні поживних речовин визначає унікальні властивості біоплівок і суттєво впливає на їхню чутливість до антибіотиків. На відміну від лабораторних культур, які вирощені на агарі, біоплівки характеризуються нерівномірним розподілом нутрієнтів і антибіотиків по їхній товщині. Це створює зони з різним рівнем активності клітин: поверхневі шари можуть бути метаболічно активними, тоді як внутрішні клітини залишаються в стані низької метаболічної активності або навіть у стані спокою. Така організація сприяє виживанню бактерій у несприятливих умовах, включаючи дію антимікробних препаратів.

Ці особливості роблять неможливим прогнозування чутливості біоплівок до антибіотиків на основі результатів класичних досліджень, проведених на культурах, вирощених на агарі. Підхід, заснований на вивченні планктонної форми бактерій, не може повною мірою врахувати складність структури і метаболічних процесів, які притаманні біоплівкам. Це підтверджується результатами досліджень, які підкреслюють необхідність розробки специфічних методів для оцінки чутливості біоплівок до антибіотиків [178].

Таким чином, відмінності у природі та функціонуванні біоплівок порівняно з агаризованими колоніями вимагають більш складного та індивідуального підходу до дослідження і лікування інфекцій, пов'язаних із біоплівками. Вивчення цих особливостей є необхідним кроком до розробки ефективних стратегій терапії, які враховуватимуть складну багатофакторну природу біоплівок.

В 2018 році Cornforth D.M. та інш., було проведено дослідження, яке полягало в порівнянні транскрипційної активності геному збудників різних інфекційних патологій людини під час культивування в лабораторних умовах. Зокрема, аналізу підлягали результати секвенування РНК *P. aeruginosa* із трьох типів зразків: біоматеріал від пацієнтів, збудники, отримані з мишей, культури, вирощені на штучних поживних середовищах. Результатом дослідження стало виявлення суттєвої відмінності в експресії генів, що кодують такі ознаки як резистентність до протимікробних препаратів, обмін речовин та здатність клітин до взаємодії. Виявилося, що *P. aeruginosa* в зразках людини та зразках *in vitro* має різні транскриптоми, що підтверджує різницю фізіології мікроорганізмів в природному стані у вогнищі інфекційного процесу в порівнянні зі штучно культивованими бактеріями. Це зумовлює важливість розробки більш точних лабораторних моделей для визначення чутливості до антибіотиків, що сприятиме покращенню терапії інфекційної патології [179].

Також було досліджено можливість синергідної дії метансульфонату колістину й азитроміцину.

Також проводилось спостереження за зміною зони затримки росту навколо дисків з поліміксином, яке мало на меті оцінити вплив комбінації різних протимікробних препаратів на ріст та активність *Klebsiella pneumoniae*. Було досліджено 10 штамів, серед яких 5 мультирезистентних та 5 немультрезистентних ізолятів. Ці штами культивували як на агаризованих середовищах без додавання азитроміцину, так і на середовищах із його включенням. Крім того, досліджували, як змінюється процес біоплівкотворення вказаних ізолятів під дією різних концентрацій азитроміцину та колістину. Це дозволило порівняти вплив препаратів на мікроорганізми як у формі планктонної культури, так і у вигляді біоплівки.

Результати дослідження продемонстрували відсутність кореляційного зв'язку між ефектами обох протимікробних препаратів у планктонній формі, представленій колоніями на агарі, та у вигляді біоплівок. Незважаючи на це, було зафіксовано підвищення дії колістину в присутності азитроміцину у поживному

середовищі. Це підсилення ефекту є важливим відкриттям, оскільки воно підкреслює потенціал комбінованого використання цих двох препаратів. Однак отримані результати вказують на необхідність використання саме біоплівкової моделі для оцінки справжньої синергічної дії препаратів, оскільки біоплівка є більш природною формою існування мікроорганізмів у макроорганізмі.

Дослідження також підкреслює важливість підходу, який враховує специфічні особливості біоплівок, зокрема їхню структуру, метаболічну активність та реакцію на антибіотики. У середовищі, що моделює умови біоплівки, азитроміцин не лише демонстрував біоплівкоінгібуючу активність, але й сприяв потенціюванню дії колістину, навіть якщо останній зазвичай виявлявся менш ефективним проти ізолятів у планктонній формі. Це підтверджує необхідність глибшого вивчення механізмів синергічної дії препаратів на біоплівки.

Окремо слід зазначити, що отримані результати не дозволяють робити прямі висновки щодо ефективності препаратів у реальних клінічних умовах без проведення додаткових досліджень. Однак вони створюють перспективу для розробки нових підходів до комбінованої терапії інфекцій, пов'язаних із біоплівками, спричинених мультирезистентними штамами *Klebsiella pneumoniae*.

Таким чином, це дослідження підкреслює значення біоплівкових моделей у вивченні механізмів дії антибіотиків, що важливо як для оцінки ефективності терапії, так і для розробки нових стратегій боротьби з інфекціями. Необхідність врахування природної форми існування бактерій у вигляді біоплівок залишається важливим напрямом подальших досліджень у цій галузі [180].

ВИСНОВКИ

У ході виконання дисертаційної роботи охарактеризовано видовий склад мікроорганізмів, виділених у пацієнтів, які проходили лікування в хірургічному стаціонарі, встановлено рівні антибіотикорезистентності у клінічно значимих збудників, у клінічних ізолятах *Klebsiella pneumoniae* виявлено генетичні детермінанти стійкості до протимікробних препаратів та здатність до біоплівкоутворення.

1) Виявлено тенденцію зміни основних видів умовно-патогенних мікроорганізмів, які є причиною інфекційних ускладнень у пацієнтів, що поступили і перебували в хірургічному стаціонарі. Показано, що *Klebsiella pneumoniae* є найбільш поширеним етіологічним чинником інфекційної патології в хірургічних та реанімаційних відділеннях КНП КОР «Київська обласна клінічна лікарня», і цей тренд продовжує наростати. Найчастіше цей збудник виділявся з хірургічних ран та промивних вод трахео-бронхіального дерева. 46,7% штамів вказаного збудника було виділено з різних хірургічних ран, а 27,9% було ізольовано з промивних вод трахеї і бронхів. Водночас з інших видів біоматеріалу (кров, спинно-мозкова рідина, сеча, носоглотковий слиз, плевральна рідина) виділялося від 0,4 до 19,5% штамів *K. pneumoniae*.

2) За дослідний період найбільша резистентність ізольованих штамів *Klebsiella pneumoniae* реєструвалася щодо β -лактамних антибіотиків. Так, стійкість до цефалоспоринів III покоління та карбапенемів у 2023 році сягала 93% і 86% відповідно. Це були найвищі показники стійкості до цієї групи протимікробних препаратів за весь період спостережень, що вказує на складність ситуації та потребу в удосконаленні підходів до лікування інфекцій, викликаних *Klebsiella pneumoniae*.

3) Результати фенотипового виявлення маркерів резистентності за допомогою методу оцінки гідролізу карбапенемів і методу подвійних дисків продемонстрували їх нижчу чутливість у порівнянні з методом ПЛР, який ґрунтується на виявленні генетичних особливостей мікроорганізмів. Натомість результати, отримані за використанням хромогенних середовищ, добре співпадали

з результатами молекулярно-генетичних досліджень. Це, у свою чергу, дозволяє рекомендувати використання цих середовищ для проведення скринінгу на наявність окремих карбапенемаз у мікроорганізмів з множинною лікарською стійкістю. Упровадження таких методів у клінічну практику дозволить підвищити точність діагностики та оперативність вибору адекватної терапії.

4) Було проведено молекулярно-генетичний аналіз розповсюдження найважливіших карбапенемаз у популяції шпитальних штамів *Klebsiella pneumoniae* з множинною лікарською стійкістю. Результати експериментальних досліджень дозволили встановити, що найбільш поширеними є гени стійкості, які кодують NDM, KPC карбапенемази (97% і 84,6% штамів відповідно), та ген *blaOXA-48* (оксацилінази), який виявився у 44,6% штамів. Лише 3% ізолятів із колекції мали ген *blaVIM*. Також виявлено, що переважна більшість досліджуваних мікроорганізмів (97%) поєднувала кілька різних механізмів резистентності. Це вказує на складність і багатофакторність проблеми антибіотикорезистентності, що значно ускладнює вибір ефективної терапії.

5) Проведено дослідження впливу комбінованого використання різних класів протимікробних препаратів на штами *Klebsiella pneumoniae* з множинною лікарською стійкістю. Було встановлено, що вплив низьких (сублетальних) концентрацій азитроміцину на PDR-штами *K. pneumoniae* протягом 14 пасажів спричиняє адаптацію мікроорганізмів до цього препарату, що призводить до втрати чутливості до нього в межах зазначених концентрацій. Водночас у всіх досліджуваних штамів спостерігалось підвищення чутливості до певних β-лактамних антибіотиків, зокрема до меропенему та іміпенему. Для меропенему чутливість якісно змінилася, і в деяких випадках рівень чутливості переходив із категорії «резистентний» до «чутливий, підвищена експозиція» або навіть «чутливий». Це відкриває нові можливості для використання цієї комбінації в лікуванні тяжких інфекцій, спричинених мультирезистентними штамми *K. pneumoniae*. Розширення таких стратегій терапії може суттєво підвищити ефективність лікування тяжких інфекцій, спричинених мультирезистентними штамми. Упровадження нових підходів до комбінованої терапії сприятиме

розширенню арсеналу засобів боротьби з антибіотикорезистентністю, яка залишається одним із найбільших викликів сучасної медицини.

СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ

1. Al-Tawfiq, J. A., Ebrahim, S. H., & Memish, Z. A. (2024). Preventing Antimicrobial Resistance Together: Reflections on AMR Week 2023. *Journal of Epidemiology and Global Health*, 14(2), 249–251. <https://doi.org/10.1007/s44197-023-00178-1>Kuzin I, Matskov O, Bondar R, et al.
2. Kuzin, I., Matskov, O., Bondar, R., Lapin, R., Vovk, T., Howard, A., Vodianyk, A., Skov, R., Legare, S., Azarskova, M., Al-Samarrai, T., Barzilay, E., & Vitek, C. (2023). Notes from the Field: Responding to the Wartime Spread of Antimicrobial-Resistant Organisms — Ukraine, 2022. *MMWR Morbidity and Mortality Weekly Report*, 72(49), 1333–1334. <https://doi.org/10.15585/mmwr.mm7249a5>.
3. Наказ МОЗ України від 23.08.2023 № 1513 "Про затвердження Стандарту медичної допомоги «Раціональне застосування антибактеріальних і антифунгальних препаратів з лікувальною та профілактичною метою»"<https://moz.gov.ua/uk/decrees/nakaz-moz-ukraini-vid-23082023--1513-pro-zatverdzhennja-standartu-medichnoi-dopomogi-racionalne-zastosuvannja-antibakterialnih-i-antifungalnih-preparativ-z-likuvalnoju-ta-profilaktichnoju-metoju>.
4. Mah, T. (2012). Biofilm-Specific Antibiotic resistance. *Future Microbiology*, 7(9), 1061–1072. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.76>.
5. Olsen, I. (2015). Biofilm-specific antibiotic tolerance and resistance. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 34(5), 877–886. <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2323-z>
6. Moshynets, O. V., & Spiers, A. J. (2016). Viewing Biofilms within the Larger Context of Bacterial Aggregations. *InTech*. doi: 10.5772/62912.
7. Skandalis N, Maeusli M, Papafotis D, Miller S, Lee B, Theologidis I, Luna B. Environmental Spread of Antibiotic Resistance. *Antibiotics*. 2021; 10(6):640. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10060640>.
8. Romo, A. L., & Quirós, R. (2019). Appropriate use of antibiotics: an unmet need. *Therapeutic Advances in Urology*, 11. <https://doi.org/10.1177/1756287219832174>
9. Borg, M. A., & Camilleri, L. (2020). What Is Driving the Epidemiology of

- Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Infections in Europe? *Microbial Drug Resistance*, 27(7), 889–894. <https://doi.org/10.1089/mdr.2020.0259>
10. National Academies Press (US). (2006). Challenges for the development of new antimicrobials— Rethinking the approaches. *Treating Infectious Diseases in a Microbial World* - NCBI Bookshelf. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/books/NBK19843/>.
11. World Health Organization. 10 global health issues to track in 2021. 2020. Available from: <https://www.who.int/news-room/spotlight/10-global-health-issues-to-track-in-2021> [Accessed June 11, 2023].
12. Murray, C. J. L., Ikuta, K. S., Sharara, F., Swetschinski, L., Aguilar, G. R., Gray, A., Han, C., Bisignano, C., Rao, P., Wool, E., Johnson, S. C., Browne, A. J., Chipeta, M. G., Fell, F., Hackett, S., Haines-Woodhouse, G., Hamadani, B. H. K., Kumaran, E. a. P., McManigal, B., . . . Naghavi, M. (2022). Global burden of bacterial antimicrobial resistance in 2019: a systematic analysis. *The Lancet*, 399(10325), 629–655. [https://doi.org/10.1016/s0140-6736\(21\)02724-0](https://doi.org/10.1016/s0140-6736(21)02724-0)
13. Magiorakos, A., Srinivasan, A., Carey, R., Carmeli, Y., Falagas, M., Giske, C., Harbarth, S., Hindler, J., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D., Rice, L., Stelling, J., Struelens, M., Vatopoulos, A., Weber, J., & Monnet, D. (2011). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>
14. World Health Organization. "Antimicrobial Stewardship." 2019. <https://www.who.int/publications/i/item/9789241515481>.
15. Antibiotic resistance threats in the United States, 2019. (2019). <https://doi.org/10.15620/cdc:82532>.
16. Castanheira, M., Mendes, R. E., & Gales, A. C. (2023). Global Epidemiology and Mechanisms of Resistance of *Acinetobacter baumannii*-calcoaceticus Complex. *Clinical Infectious Diseases*, 76(Supplement_2), S166–S178. <https://doi.org/10.1093/cid/ciad109>.

17. Yaacoub, S., Truppa, C., Pedersen, T. I., Abdo, H., & Rossi, R. (2022). Antibiotic resistance among bacteria isolated from war-wounded patients at the Weapon Traumatology Training Center of the International Committee of the Red Cross from 2016 to 2019: a secondary analysis of WHONET surveillance data. *BMC Infectious Diseases*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07253-1>
18. Kondratiuk, V., Jones, B., Kovalchuk, V., Kovalenko, I., Ganiuk, V., Kondratiuk, O., & Frantsishko, A. (2021). Phenotypic and genotypic characterization of antibiotic resistance in military hospital-associated bacteria from war injuries in the Eastern Ukraine conflict between 2014 and 2020. *Journal of Hospital Infection*, 112, 69–76. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2021.03.020>
19. Goldmann, D., Rajan, S., & Udayakumar, K. (2024). Preventing and controlling global antimicrobial resistance — Implementing a Whole-System approach. *New England Journal of Medicine*, 391(8), 681–685. <https://doi.org/10.1056/nejmp2401360>
20. Cantón, R., Gottlieb, T., Coombs, G. W., Woo, P. C., Korman, T. M., Garcia-Castillo, M., Daley, D., Bauer, K. A., Wong, M., Wolf, D. J., Siddiqui, F., & Motyl, M. (2023). Antimicrobial surveillance: A 20-year history of the SMART approach to addressing global antimicrobial resistance into the future. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 62(6), 107014. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2023.107014>.
21. Diallo, O. O., Baron, S. A., Abat, C., Colson, P., Chaudet, H., & Rolain, J. (2020). Antibiotic resistance surveillance systems: A review. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 23, 430–438. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.10.009>.
22. Gandra, S., Alvarez-Uria, G., Turner, P., Joshi, J., Limmathurotsakul, D., & Van Doorn, H. R. (2020). Antimicrobial Resistance Surveillance in Low- and Middle-Income Countries: Progress and challenges in eight South Asian and Southeast Asian countries. *Clinical Microbiology Reviews*, 33(3). <https://doi.org/10.1128/cmr.00048-19>
23. Surveillance report: Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) Annual Epidemiological Report for 2022

<https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER-antimicrobial-resistance.pdf>.

24. Pandey, R., Mishra, S. K., & Shrestha, A. (2021). Characterisation of ESKAPE Pathogens with Special Reference to Multidrug Resistance and Biofilm Production in a Nepalese Hospital. *Infection and drug resistance*, 14, 2201–2212. <https://doi.org/10.2147/IDR.S306688>.
25. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2022; World Health Organization and the European Centre for Disease Prevention and Control, 2022.
26. Ricciardi, W., Giubbini, G., & Laurenti, P. (2016). Surveillance and control of antibiotic resistance in the mediterranean region. *Mediterranean Journal of Hematology and Infectious Diseases*, 8, 2016036. <https://doi.org/10.4084/mjhid.2016.036>
27. Березняков І.Г. (2020). Стан антибіотикорезистентності в Україні: результати дослідження АУРА. *Здоров'я України*. №4. №5.
28. Джораєва, С. К., Гончаренко, В. В., Щоголева, О. В., Іванцова, О. К., Соболев, Н. В., Бабута, А. Р., & Пугачова, О. В. (2019). Мікробіологічний моніторинг динаміки антибіотикорезистентності клінічних ізолятів *E. coli*. *Дерматологія та венерологія*, (2), 40-45.
29. Richwagen, N., Lyles, J. T., Dale, B. L. F., & Quave, C. L. (2019). Antibacterial Activity of *Kalanchoe mortagei* and *K. fedtschenkoi* Against ESKAPE Pathogens. *Frontiers in Pharmacology*, 10. <https://doi.org/10.3389/fphar.2019.00067>.
30. Naylor NR, Atun R, Zhu N, Kulasabanathan K, Silva S, Chatterjee A, Knight GM, Robotham JV. (2018). Estimating the burden of antimicrobial resistance: a systematic literature review. *Antimicrob Resist Infect Control* 7:58. <https://doi.org/10.1186/s13756-018-0336-y>.
31. Giddins MJ, Macesic N, Annavajhala MK, Stump S, Khan S, McConville TH, Mehta M, Gomez-Simmonds A, Uhlemann AC. (2017). Successive emergence of ceftazidime-avibactam resistance through distinct genomic adaptations in bla(KPC-2)-harboring *Klebsiella pneumoniae* sequence type 307 isolates. *Antimicrob Agents Chemother* 62:e02101-17. <https://doi.org/10.1128/AAC.02101-17>.

32. Herc ES, Kauffman CA, Marini BL, Perissinotti AJ, Miceli MH. (2017). Daptomycin nonsusceptible vancomycin resistant *Enterococcus* bloodstream infections in patients with hematological malignancies: risk factors and outcomes. *Leuk Lymphoma* 58:2852–2858. <https://doi.org/10.1080/10428194.2017.1312665>.
33. Regev-Yochay, G., Margalit, I., Smollan, G., Rapaport, R., Tal, I., Hanage, W. P., Zade, N. P., Jaber, H., Taylor, B. P., Che, Y., Rahav, G., Zimlichman, E., & Keller, N. (2023). Sink-traps are a major source for carbapenemase-producing *Enterobacteriaceae* transmission. *Infection Control and Hospital Epidemiology*, 45(3), 284–291. <https://doi.org/10.1017/ice.2023.270>.
34. Marturano, J. E., & Lowery, T. J. (2019). ESKAPE Pathogens in Bloodstream Infections Are Associated With Higher Cost and Mortality but Can Be Predicted Using Diagnoses Upon Admission. *Open forum infectious diseases*, 6(12), ofz503. <https://doi.org/10.1093/ofid/ofz503>.
35. Pendleton, J. N., Gorman, S. P., & Gilmore, B. F. (2013). Clinical relevance of the ESKAPE pathogens. *Expert review of anti-infective therapy*, 11(3), 297–308. <https://doi.org/10.1586/eri.13.12>.
36. Cherry Lim, Emi Takahashi, Maliwan Hongsuwan, Vanaporn Wuthiekanun, Visanu Thamlikitkul, Soawapak Hinjoy, Nicholas PJ Day, Sharon J Peacock, Direk Limmathurotsakul (2016). Epidemiology and burden of multidrugresistant bacterial infection in a developing country. <https://doi.org/10.7554/eLife.18082>.
37. Tacconelli, E., Carrara, E., Savoldi, A., Harbarth, S., Mendelson, M., Monnet, D. L., Pulcini, C., Kahlmeter, G., Kluytmans, J., Carmeli, Y., Ouellette, M., Outterson, K., Patel, J., Cavaleri, M., Cox, E. M., Houchens, C. R., Grayson, M. L., Hansen, P., Singh, N., . . . Zorzet, A. (2017). Discovery, research, and development of new antibiotics: the WHO priority list of antibiotic-resistant bacteria and tuberculosis. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(3), 318–327. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(17\)30753-3](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(17)30753-3).
38. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance

39. Mollerach, M. (2024). ESKAPE Pathogen Infection and Antibiotic Resistance. *Antibiotics*, Special Issue. https://www.mdpi.com/journal/antibiotics/special_issues/ESKAPE_Pathogens.
40. Ravi, K., & Singh, B. (2024). ESKAPE: Navigating the Global Battlefield for Antimicrobial Resistance and Defense in Hospitals. *Bacteria*, 3(2), 76-98. <https://doi.org/10.3390/bacteria3020006>.
41. Rice, L. B. (2020). The ESKAPE Pathogens and Antibiotic Resistance: Challenges and Potential Solutions. *Clinical Infectious Diseases*, 69(1), 46-53. <https://doi.org/10.1093/cid/ciz1123>.
42. Iovleva, A., Mustapha, M. M., Griffith, M. P., Komarow, L., Luterbach, C., Evans, D. R., Cober, E., Richter, S. S., Rydell, K., Arias, C. A., Jacob, J. T., Salata, R. A., Satlin, M. J., Wong, D., Bonomo, R. A., Van Duin, D., Cooper, V. S., Van Tyne, D., & Doi, Y. (2021). Carbapenem-Resistant *Acinetobacter baumannii* in US hospitals: diversification of circulating lineages and antimicrobial resistance. *bioRxiv* (Cold Spring Harbor Laboratory). <https://doi.org/10.1101/2021.09.21.461323>
43. Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *BioMed Research International*, 2016, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>
44. Ellen, M. E., Shach, R., & Perlman, S. (2019). Exploring community healthcare providers' perceptions on antimicrobial resistance. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 18, 215–222. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2019.02.010>.
45. Chew, K. L., Lin, R. T. P., Teo, J. W. P. (2021). Mechanisms of Resistance and Prevalence of Carbapenem-Resistant Enterobacteriaceae and *Acinetobacter baumannii* in a Tertiary Hospital. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*, 24, 44-50. <https://doi.org/10.1016/j.jgar.2020.11.013>.
46. Suardíaz, R., Lythell, E., Hinchliffe, P., Van Der Kamp, M., Spencer, J., Fey, N., & Mulholland, A. J. (2021). Catalytic mechanism of the colistin resistance protein MCR-1. *Organic & Biomolecular Chemistry*, 19(17), 3813–3819. <https://doi.org/10.1039/d0ob02566f>.

47. Teng, J., Imani, S., Zhou, A., Zhao, Y., Du, L., Deng, S., Li, J., & Wang, Q. (2023). Combatting resistance: Understanding multi-drug resistant pathogens in intensive care units. *Biomedicine & Pharmacotherapy*, 167, 115564. <https://doi.org/10.1016/j.biopha.2023.115564>.
48. Ruekit, S., Srijan, A., Serichantalergs, O., Margulieux, K. R., Gann, P. M., Mills, E. G., Stribling, W. C., Pimsawat, T., Kormanee, R., Nakornchai, S., Sakdinava, C., Sukhchat, P., Wojnarski, M., Demons, S. T., Crawford, J. M., Lertsethtakarn, P., & Swierczewski, B. E. (2022). Molecular characterization of multidrug-resistant ESKAPEE pathogens from clinical samples in Chonburi, Thailand (2017–2018). *BMC Infectious Diseases*, 22(1). <https://doi.org/10.1186/s12879-022-07678-8>
49. Alipour, M., Rajabi, M., Khalili, R., & Torkamanzadeh, P. (2021). Prevalence of antibiotic resistance genes among *Enterococcus* strains isolated from the clinical specimens. *Gene Reports*, 23, 101092. <https://doi.org/10.1016/j.genrep.2021.101092>
50. Boccella, M., Santella, B., Pagliano, P., De Filippis, A., Casolaro, V., Galdiero, M., Borrelli, A., Capunzo, M., Boccia, G., & Franci, G. (2021). Prevalence and antimicrobial resistance of enterococcus species: a retrospective cohort study in Italy. *Antibiotics*, 10(12), 1552. <https://doi.org/10.3390/antibiotics10121552>
51. Genç, S., Kolaylı, F. and Özçelik, E.Y. (2022) ‘Molecular characterization of carbapenemase producing *Klebsiella pneumoniae* strains by multiplex PCR and PFGE methods: The first *k.pneumoniae* isolates co-producing oxa-48/kpc and KPC/NDM in Turkey’, *Journal of Infection and Chemotherapy*, 28(2), pp. 192–198. doi:10.1016/j.jiac.2021.10.009.
52. Ripabelli, G., Sammarco, M., Salzo, A., Scutellà, M., Felice, V., & Tamburro, M. (2020). New Delhi metallo- β -lactamase (NDM-1)-producing *Klebsiella pneumoniae* of sequence type ST11: first identification in a hospital of central Italy. *Letters in Applied Microbiology*, 71(6), 652–659. <https://doi.org/10.1111/lam.13384>
53. Moubareck, C.A.; Halat, D.H. (2020) Insights into *Acinetobacter baumannii*: A review of microbiological, virulence, and resistance traits in a threatening

- nosocomial pathogen. *Antibiotics*, 9, 119. doi: 10.3390/antibiotics9030119
54. Basatian-Tashkan, B., Niakan, M., Khaledi, M., Afkhami, H., Sameni, F., Bakhti, S., & Mirnejad, R. (2020). Antibiotic resistance assessment of *Acinetobacter baumannii* isolates from Tehran hospitals due to the presence of efflux pumps encoding genes (*adeA* and *adeS* genes) by molecular method. *BMC Research Notes*, 13(1). <https://doi.org/10.1186/s13104-020-05387-6>.
 55. Mentasti, M., Prime, K., Sands, K., Khan, S., & Wootton, M. (2019). Rapid detection of IMP, NDM, VIM, KPC and OXA-48-like carbapenemases from Enterobacteriales and Gram-negative non-fermenter bacteria by real-time PCR and melt-curve analysis. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 38(11), 2029–2036. <https://doi.org/10.1007/s10096-019-03637-5>.
 56. Wheeler, N. E., Price, V., Cunningham-Oakes, E., Tsang, K. K., Nunn, J. G., Midega, J. T., Anjum, M. F., Wade, M. J., Feasey, N. A., Peacock, S. J., Jauneikaite, E., & Baker, K. S. (2023). Innovations in genomic antimicrobial resistance surveillance. *The Lancet Microbe*, 4(12), e1063–e1070. [https://doi.org/10.1016/s2666-5247\(23\)00285-9](https://doi.org/10.1016/s2666-5247(23)00285-9)
 57. Laborda, P., Hernando-Amado, S., Martínez, J. L., & Sanz-García, F. (2022). Antibiotic resistance in pseudomonas. *Advances in Experimental Medicine and Biology*, 117–143. https://doi.org/10.1007/978-3-031-08491-1_5.
 58. Mah, T. C., & O'Toole, G. A. (2001). Mechanisms of biofilm resistance to antimicrobial agents. *Trends in Microbiology*, 9 (1), 34–39. [https://doi.org/10.1016/s0966-842x\(00\)01913-2](https://doi.org/10.1016/s0966-842x(00)01913-2)
 59. Schulze, A., Mitterer, F., Pombo, J. P., Schild, S. (2021). Biofilms by bacterial human pathogens: Clinical relevance - development, composition and regulation - therapeutical strategies. *Microb. Cell* 8 (2), 28–56. doi: 10.15698/mic2021.02.741.
 60. Furlong, S. C. (2013). Maternal Diet Habits and the Salivary Microbiome of Caries-Free Children [Master's thesis, Ohio State University]. OhioLINK Electronic Theses and Dissertations Center. http://rave.ohiolink.edu/etdc/view?acc_num=osu1371806627.
 61. Socransky SS, Haffajee AD. Dental biofilms: difficult therapeutic targets.

- Periodontol 2000. (2002);28:12-55. doi: 10.1034/j.1600-0757.2002.280102.x.
62. Sutherland, I. W. (2001). Biofilm exopolysaccharides: a strong and sticky framework. *Microbiology*, 147(1), 3–9. <https://doi.org/10.1099/00221287-147-1-3>
 63. Lembre, P., Lorentz, C., & Di Martino, P. (2012). Exopolysaccharides of the biofilm matrix: a complex biophysical world. *The complex world of polysaccharides*, 371-392.
 64. L Boyd, A., & Chakrabarty, A. M. (1995). *Pseudomonas aeruginosa* biofilms: role of the alginate exopolysaccharide. *Journal of industrial microbiology and biotechnology*, 15(3), 162-168.
 65. Jang, I. A., Kim, J., & Park, W. (2016). Endogenous hydrogen peroxide increases biofilm formation by inducing exopolysaccharide production in *Acinetobacter oleivorans* DR1. *Scientific reports*, 6(1), 21121.
 66. Montanaro, L., Poggi, A., Visai, L., Ravaioli, S., Campoccia, D., Speziale, P., & Arciola, C. R. (2011). Extracellular DNA in biofilms. *The International journal of artificial organs*, 34(9), 824-831.
 67. Slobodanyk-Kolomoiets, M., Khlebas, S., Mazur, I., Rudnieva, K., Potochilova, V., Iungin, O., Kamyshnyi, O., Kamyshna, I., Potters, G., Spiers, A. J., & Moshynets, O. (2024). Extracellular host DNA contributes to pathogenic biofilm formation during periodontitis. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 14. <https://doi.org/10.3389/fcimb.2024.1374817>.
 68. Flemming, H. C., & Wingender, J. (2010). The biofilm matrix. *Nature reviews microbiology*, 8(9), 623-633.
 69. Dueholm, M. S., Søndergaard, M. T., Nilsson, M., Christiansen, G., Stensballe, A., Overgaard, M. T., ... & Nielsen, P. H. (2013). Expression of Fap amyloids in *Pseudomonas aeruginosa*, *P. fluorescens*, and *P. putida* results in aggregation and increased biofilm formation. *Microbiologyopen*, 2(3), 365-382.
 70. Hall-Stoodley, L., Stoodley, P., Kathju, S., Høiby, N., Moser, C., Costerton, J. W., et al. (2012). Towards diagnostic guidelines for biofilm-associated infections. *FEMS Immunol. Med. Microbiol.* 65 (2), 127–145. doi: 10.1111/j.1574-695X.2012.00968.x.

71. Høiby, N., Ciofu, O., Johansen, H. K., Song, Z., Moser, C., Jensen, P. Ø., Molin, S., Givskov, M., Tolker-Nielsen, T., & Bjarnsholt, T. (2011). The clinical impact of bacterial biofilms. *International Journal of Oral Science*, 3(2), 55–65. <https://doi.org/10.4248/ijos11026>.
72. Sharma, S., Mohler, J., Mahajan, S. D., Schwartz, S. A., Bruggemann, L., & Aalinkeel, R. (2023). Microbial Biofilm: A Review on Formation, Infection, Antibiotic Resistance, Control Measures, and Innovative Treatment. *Microorganisms*, 11(6), 1614. <https://doi.org/10.3390/microorganisms11061614>.
73. Niveditha, S., Pramodhini, S., Umadevi, S., Kumar, S., Stephen, S. (2012). The Isolation and the Biofilm Formation of Uropathogens in the Patients with Catheter Associated Urinary Tract Infections (UTIs), *J Clin of Diagn Res*. 6(9), 1478-1482.
74. Wi, Y. M., & Patel, R. (2018). Understanding biofilms and novel approaches to the diagnosis, prevention, and treatment of Medical Device-Associated infections. *Infectious Disease Clinics of North America*, 32(4), 915–929. <https://doi.org/10.1016/j.idc.2018.06.009>.
75. Waters, C. M., & Bassler, B. L. (2005). QUORUM SENSING: Cell-to-Cell communication in bacteria. *Annual Review of Cell and Developmental Biology*, 21(1), 319–346. <https://doi.org/10.1146/annurev.cellbio.21.012704.131001>
76. Johnston, C., Martin, B., Fichant, G., Polard, P., & Claverys, J. (2014). Bacterial transformation: distribution, shared mechanisms and divergent control. *Nature Reviews Microbiology*, 12(3), 181–196. <https://doi.org/10.1038/nrmicro3199>
77. Carnes, E. C., Lopez, D. M., Donegan, N. P., Cheung, A., Gresham, H., Timmins, G. S., & Brinker, C. J. (2009). Confinement-induced quorum sensing of individual *Staphylococcus aureus* bacteria. *Nature Chemical Biology*, 6(1), 41–45. <https://doi.org/10.1038/nchembio.264>.
78. Moreno-Gámez, S., Hochberg, M. E., & Van Doorn, G. S. (2023). Quorum sensing as a mechanism to harness the wisdom of the crowds. *Nature Communications*, 14(1). <https://doi.org/10.1038/s41467-023-37950-7>.
79. WHO. (2015). Global Action Plan on Antimicrobial Resistance. World Health

Organization

https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/193736/9789241509763_eng.pdf?sequence=1.

80. MacNair, C. R., Rutherford, S. T., & Tan, M. (2023). Alternative therapeutic strategies to treat antibiotic-resistant pathogens. *Nature Reviews Microbiology*, 22(5), 262–275. <https://doi.org/10.1038/s41579-023-00993-0>.
81. Berger, FK, Schmartz, GP, Fritz, T, Veith, N, Alhussein, F, Roth, S, et al. Occurrence, resistance patterns, and management of carbapenemase-producing bacteria in war-wounded refugees from Ukraine. *Int J Infect Dis.* (2023) 132:89–92. doi: 10.1016/j.ijid.2023.04.394.
82. AWaRe classification (2021). Geneva: World Health Organization. Available at: <https://www.who.int/publications/i/item/2021-aware-classification>.
83. Karakonstantis, S., Rousaki, M., & Kritsotakis, E. I. (2022). Cefiderocol: Systematic review of mechanisms of resistance, heteroresistance and in vivo emergence of resistance. *Antibiotics*, 11(6), 723. <https://doi.org/10.3390/antibiotics11060723>.
84. Lu, Y., Tian, H., Chen, R., Liu, Q., Jia, K., Hu, D., Chen, H., Ye, C., Peng, L., & Fang, R. (2022). Synergistic antimicrobial effect of antimicrobial peptides CATH-1, CATH-3, and PMAP-36 with erythromycin against bacterial pathogens. *Frontiers in Microbiology*, 13. <https://doi.org/10.3389/fmicb.2022.953720>.
85. Basavegowda, N., & Baek, K. (2022). Combination Strategies of different antimicrobials: an efficient and alternative tool for pathogen inactivation. *Biomedicines*, 10(9), 2219. <https://doi.org/10.3390/biomedicines10092219>
86. Kamble, E., Sanghvi, P., & Pardesi, K. (2022). Synergistic effect of antibiotic combinations on *Staphylococcus aureus* biofilms and their persister cell populations. *Biofilm*, 4, 100068. <https://doi.org/10.1016/j.bioflm.2022.100068>
87. Michalopoulos, A. S., & Falagas, M. E. (2011). Colistin: recent data on pharmacodynamics properties and clinical efficacy in critically ill patients. *Annals of Intensive Care*, 1(1). <https://doi.org/10.1186/2110-5820-1-30>.
88. Michalopoulos, A. S., Karatza, D. C., & Gregorakos, L. (2010). Pharmacokinetic

evaluation of colistin sodium. *Expert Opinion on Drug Metabolism & Toxicology*, 7(2), 245–255. <https://doi.org/10.1517/17425255.2011.541439>.

89. Paul, M., Daikos, G. L., Durante-Mangoni, E., Yahav, D., Carmeli, Y., Benattar, Y. D., Skiada, A., Andini, R., Eliakim-Raz, N., Nutman, A., Zusman, O., Antoniadou, A., Pafundi, P. C., Adler, A., Dickstein, Y., Pavleas, I., Zampino, R., Daitch, V., Bitterman, R., . . . Leibovici, L. (2018). Colistin alone versus colistin plus meropenem for treatment of severe infections caused by carbapenem-resistant Gram-negative bacteria: an open-label, randomised controlled trial. *The Lancet Infectious Diseases*, 18(4), 391–400. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(18\)30099-9](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(18)30099-9)
90. Plachouras, D., Karvanen, M., Friberg, L. E., Papadomichelakis, E., Antoniadou, A., Tsangaris, I., Karaiskos, I., Poulakou, G., Kontopidou, F., Armaganidis, A., Cars, O., & Giamarellou, H. (2009). Population Pharmacokinetic Analysis of Colistin Methanesulfonate and Colistin after Intravenous Administration in Critically Ill Patients with Infections Caused by Gram-Negative Bacteria. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 53(8), 3430–3436. <https://doi.org/10.1128/aac.01361-08>.
91. Karvanen, M., Plachouras, D., Friberg, L. E., Paramythiotou, E., Papadomichelakis, E., Karaiskos, I., Tsangaris, I., Armaganidis, A., Cars, O., & Giamarellou, H. (2012). Colistin methanesulfonate and colistin pharmacokinetics in critically ill patients receiving continuous venovenous hemodiafiltration. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 57(1), 668–671. <https://doi.org/10.1128/aac.00985-12>
92. Oliva, A., Mascellino, M. T., Cipolla, A., D'Abramo, A., De Rosa, A., Savinelli, S., Ciardi, M. R., Mastroianni, C. M., & Vullo, V. (2015). Therapeutic strategy for pandrug-resistant *Klebsiella pneumoniae* severe infections: short-course treatment with colistin increases the in vivo and in vitro activity of double carbapenem regimen. *International Journal of Infectious Diseases*, 33, 132–134. <https://doi.org/10.1016/j.ijid.2015.01.011>.
93. Daikos, G. L., Tsaousi, S., Tzouvelekis, L. S., Anyfantis, I., Psychogiou, M.,

- Argyropoulou, A., Stefanou, I., Sypsa, V., Miriagou, V., Nepka, M., Georgiadou, S., Markogiannakis, A., Goukos, D., & Skoutelis, A. (2014). Carbapenemase-Producing *Klebsiella pneumoniae* Bloodstream Infections: Lowering Mortality by Antibiotic Combination Schemes and the Role of Carbapenems. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 58(4), 2322–2328. <https://doi.org/10.1128/aac.02166-13>
94. Bauer, A. W. (1996). Antibiotic susceptibility testing by a standardized single disc method. *Am. J. of Clin. Path.*, 45, 149-158.
95. Benkova, M., Soukup, O., & Marek, J. (2020). Antimicrobial susceptibility testing: currently used methods and devices and the near future in clinical practice. *Journal of Applied Microbiology*, 129(4), 806–822. <https://doi.org/10.1111/jam.14704>.
96. Galani, I., Orlandou, K., Moraitou, H., Petrikos, G., & Souli, M. (2014). Colistin/daptomycin: an unconventional antimicrobial combination synergistic in vitro against multidrug-resistant *Acinetobacter baumannii*. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 43(4), 370–374. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2013.12.010>
97. Tagliaferri, E., Tascini, C., Leonildi, A., Ciullo, I., Amadori, F., & Menichetti, F. (2014). Easy synergism for colistin-resistant KPC-producing *Klebsiella pneumoniae*: the E-test with supplemented agar. *Clinical Microbiology and Infection*, 21(2), e7–e8. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2014.08.016>.
98. Kali, A., Bhuvaneshwar, D., Charles, P. V., & Seetha, K. (2016). Antibacterial synergy of curcumin with antibiotics against biofilm producing clinical bacterial isolates. *Journal of Basic and Clinical Pharmacy*, 7(3), 93. <https://doi.org/10.4103/0976-0105.183265>
99. Mah, T. (2012). Biofilm-Specific Antibiotic resistance. *Future Microbiology*, 7(9), 1061–1072. <https://doi.org/10.2217/fmb.12.76>
100. Olsen, I. (2015b). Biofilm-specific antibiotic tolerance and resistance. *European Journal of Clinical Microbiology & Infectious Diseases*, 34(5), 877–886. <https://doi.org/10.1007/s10096-015-2323-z>.

101. Saiman, L., Marshall, B. C., Mayer-Hamblett, N., Burns, J. L., Quittner, A. L., Cibene, D. A., Coquillette, S., Fieberg, A. Y., Accurso, F. J., Campbell, P. W., III, & Group, N. F. T. M. S. (2003). Azithromycin in Patients With Cystic Fibrosis Chronically Infected With *Pseudomonas aeruginosa*. *JAMA*, 290(13), 1749. <https://doi.org/10.1001/jama.290.13.1749>.
102. Gillis, R. J., & Iglewski, B. H. (2004). Azithromycin Retards *Pseudomonas aeruginosa* Biofilm Formation. *Journal of Clinical Microbiology*, 42(12), 5842–5845. <https://doi.org/10.1128/jcm.42.12.5842-5845.2004>
103. Swatton, J. E., Davenport, P. W., Maunders, E. A., Griffin, J. L., Lilley, K. S., & Welch, M. (2016). Impact of Azithromycin on the Quorum Sensing-Controlled Proteome of *Pseudomonas aeruginosa*. *PLoS ONE*, 11(1), e0147698. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0147698>
104. Karakonstantis, S. (2022). Re: ‘Macrolide therapy in *Pseudomonas aeruginosa* infections causes uL4 ribosomal protein mutations leading to high-level resistance’ by Goltermann et al. *Clinical Microbiology and Infection*, 28(12), 1665–1666. <https://doi.org/10.1016/j.cmi.2022.08.022>.
105. Stoodley, P., Jørgensen, F., Williams, P. and Lappin-Scott, H. M. (1999) The role of hydrodynamics and AHL signalling molecules as determinants of the structure of *pseudomonas aeruginosa* biofilms. In, Bayston, R., Brading, M., Gilbert, P., Walker, J. and Wimpenny, J.W.T. (eds.) *Biofilms: the Good, the Bad, and the Ugly*. 4th meeting of the Biofilm Club. Cardiff, GB. BioLine.
106. European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 14.0, 2024. Available from: <http://www.eucast.org>.
107. Yang, D., & Zhang, Z. (2008). Biofilm-forming *Klebsiella pneumoniae* strains have greater likelihood of producing extended-spectrum β -lactamases. *Journal of Hospital Infection*, 68(4), 369–371. <https://doi.org/10.1016/j.jhin.2008.02.001>
108. Seifi, K., Kazemian, H., Heidari, H., Rezagholizadeh, F., Saeed, Y., Shirvani, F., & Houri, H. (2016). Evaluation of Biofilm Formation Among *Klebsiella*

- pneumoniae Isolates and Molecular Characterization by ERIC-PCR. Jundishapur Journal of Microbiology, 9(1). <https://doi.org/10.5812/jjm.30682>.
109. Nirwati, H., Sinanjung, K., Fahrurissa, F., Wijaya, F., Napitupulu, S., Hati, V. P., Hakim, M. S., Meliala, A., Aman, A. T., & Nuryastuti, T. (2019). Biofilm formation and antibiotic resistance of *Klebsiella pneumoniae* isolated from clinical samples in a tertiary care hospital, Klaten, Indonesia. BMC Proceedings, 13(S11). <https://doi.org/10.1186/s12919-019-0176-7>
 110. Tapalskiy, D. V., Petrovskaya, T., Kozlova, A., & Edelstein, M. V. (2020). Potentiation of antimicrobial activity of colistin with antibiotics of different groups against multidrug- and extensively drug-resistant strains of *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii* and *Pseudomonas aeruginosa*. Clinical Microbiology and Antimicrobial Chemotherapy, 22(2), 128–136. <https://doi.org/10.36488/cmac.2020.2.128-136>.
 111. Dillon, N., Holland, M., Tsunemoto, H., Hancock, B., Cornax, I., Pogliano, J., Sakoulas, G., & Nizet, V. (2019). Surprising synergy of dual translation inhibition vs. *Acinetobacter baumannii* and other multidrug-resistant bacterial pathogens. EBioMedicine, 46, 193–201. <https://doi.org/10.1016/j.ebiom.2019.07.041>.
 112. Шелкова Н. Г., Прокопєць В. П. (2009). Метод кількісного дослідження вмісту бактерій у клінічних матеріалах, що відібрані за допомогою ватного тампону. Збірник наукових праць співробітників НМАПО вип.17, к.2, Київ-2009. -С.698-702 Кафедра мікробіології і епідеміології НМАПО імені П. Л. Шупика, DOI:10.13140/RG.2.1.3161.3049.
 113. Vandepitte J, (2003), Basic laboratory procedures in clinical bacteriology (2nd edition) J. Vandepitte. World Health Organization
 114. De Vos P.(2009) Bergey's Manual of systematic bacteriology. volume Three, the firmicutes. Dordrecht: Springer.
 115. Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT. Bergey's Manual of systematic bacteriology. vol. 2, the proteobacteria. part C, the alpha-, beta-, delta-, and Epsilonproteobacteria. New York: Springer; 2005. Brenner DJ, Krieg NR, Staley JT, Garrity GM, Boone DR, Vos P, et al. Bergey's Manual of systematic bacteriology: Volume Two

- the proteobacteria part B the gammaproteobacteria. Boston, MA: Springer-Verlag US; 2005.
116. Cornaglia G, Courcol R, Herrmann J-L. (2012). European Manual of Clinical Microbiology.
 117. Leber AL. (2016.) Clinical Microbiology Procedures Handbook, 3 volume set. ASM Press; Department of Laboratory Medicine, Nationwide Children's Hospital, Columbus, Ohio. Description: 4th edition. | Washington, DC : ASM Press.
 118. Sample Collection and Management Manual for the clinics and local laboratory procedures within the ECRAID-Base POS-cUTI (Perpetual Observational Study on complicated Urinary Tract Infections)
https://www.ecraid.eu/sites/default/files/2024-01/Laboratory%20Manual%20UTI_V3.0.pdf
 119. Biswas, I., & Rather, P. N. (2019). *Acinetobacter baumannii*. In Methods in molecular biology. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9118-1>
 120. Ji, Y. (2019). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) protocols. In Methods in molecular biology. <https://doi.org/10.1007/978-1-4939-9849-4>
 121. Наказ МОЗ України від 19.08.2021 № 1766 «Про затвердження Порядку здійснення дозорного епідеміологічного нагляду за протимікробною резистентністю».
 122. Методичні рекомендації «Вивчення специфічної активності антифунгальних лікарських засобів». Київ – 2016. Затвердженні на засіданні Науково-експертної ради ДП «Державний експертний центр МОЗ України», протокол № 7 від 28.07.2016 р.
 123. Magiorakos, A., Srinivasan, A., Carey, R., Carmeli, Y., Falagas, M., Giske, C., Harbarth, S., Hindler, J., Kahlmeter, G., Olsson-Liljequist, B., Paterson, D., Rice, L., Stelling, J., Struelens, M., Vatopoulos, A., Weber, J., & Monnet, D. (2011). Multidrug-resistant, extensively drug-resistant and pandrug-resistant bacteria: an international expert proposal for interim standard definitions for acquired resistance. *Clinical Microbiology and Infection*, 18(3), 268–281. <https://doi.org/10.1111/j.1469-0691.2011.03570.x>

124. Van Der Zwaluw, K., De Haan, A., Pluister, G. N., Bootsma, H. J., De Neeling, A. J., & Schouls, L. M. (2015). The Carbapenem Inactivation Method (CIM), a simple and Low-Cost alternative for the CARBA NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in Gram-Negative rods. *PLoS ONE*, 10(3), e0123690. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0123690>
125. EUCAST guideline for the detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance. Available online at: http://www.eucast.org/resistance_mechanisms. Accessed 28 May 2019.
126. European Centre for Disease Prevention and Control. Laboratory manual for carbapenem and colistin resistance detection and characterisation for the survey of carbapenem- and/or colistin-resistant Enterobacteriaceae – Version 2.0. Stockholm: ECDC; 2019.
127. Lee, K., Chong, Y., Shin, H., Kim, Y., Yong, D., & Yum, J. (2001). Modified Hodge and EDTA-disk synergy tests to screen metallo- β -lactamase-producing strains of *Pseudomonas* and *Acinetobacter* species. *Clinical Microbiology and Infection*, 7(2), 88–91. <https://doi.org/10.1046/j.1469-0691.2001.00204.x>
128. EUCAST guidelines for detection of resistance mechanisms and specific resistances of clinical and/or epidemiological importance Version 1.0 December 2013.
129. Boom, R., Sol, C. J., Salimans, M. M., Jansen, C. L., Dillen, P. M. W., & Van Der Noordaa, J. (1990). Rapid and simple method for purification of nucleic acids. *Journal of Clinical Microbiology*, 28(3), 495–503. <https://doi.org/10.1128/jcm.28.3.495-503.1990>
130. Zeugolis, D. I., Li, B., Lareu, R. R., Chan, C. K., & Raghunath, M. (2008). Collagen solubility testing, a quality assurance step for reproducible electro-spun nano-fibre fabrication. A technical note. *Journal of Biomaterials Science Polymer Edition*, 19(10), 1307–1317. <https://doi.org/10.1163/156856208786052344>
131. O'Toole, G. A. (2011). Microtiter dish biofilm formation assay. *Journal of Visualized Experiments*, 47. <https://doi.org/10.3791/2437>.
132. Bui, L. M., Turnidge, J. D., & Kidd, S. P. (2014). The induction of

- Staphylococcus aureus* biofilm formation or Small Colony Variants is a strain-specific response to host-generated chemical stresses. *Microbes and Infection*, 17(1), 77–82. <https://doi.org/10.1016/j.micinf.2014.09.009>.
133. CLSI. (2022) Analysis and Presentation of Cumulative Antimicrobial Susceptibility Test Data. 5th ed. CLSI guideline M39. Clinical and Laboratory Standards Institute.
 134. Peretyatko, O., Yagniyuk, Y. ., Sklyar, N., Bolshakova, G., & Holodna, T. (2022). Beta-lactamases of enterobacteria: general characteristics, mechanisms and regional features of distribution. *Annals of Mechnikov's Institute*, (3), 7–12. <https://doi.org/10.5281/zenodo.7070850>.
 135. The European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing. Breakpoint tables for interpretation of MICs and zone diameters. Version 15.0, 2025. <https://www.eucast.org>.
 136. WHO bacterial priority pathogens list, 2024: Bacterial pathogens of public health importance to guide research, development and strategies to prevent and control antimicrobial resistance.
 137. Ambler, R. P. (1980). The structure of β -lactamases. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 289(1036), 321–331. <https://doi.org/10.1098/rstb.1980.0049>.
 138. Hammoudi Halat, D. and Ayoub Moubareck, C. (2020) ‘The current burden of carbapenemases: Review of significant properties and dissemination among gram-negative bacteria’, *Antibiotics*, 9(4), p. 186. doi:10.3390/antibiotics9040186.
 139. Boyd, S.E. et al. (2020) ‘Metallo- β -lactamases: Structure, function, epidemiology, treatment options, and the Development Pipeline’, *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*, 64(10). doi:10.1128/aac.00397-20.
 140. Вринчану, Н. О., Дудікова, Д., Гринчук, Н. І., & Недашківська, В. В. (2019). Біоплівки. Сучасний стан і перспективи антимікробної терапії. *Pharmacology and Drug Toxicology*, 13(5), 311–321. <https://doi.org/10.33250/vol13iss5pp311-321>
 141. Tateda K, Comte R, Pechere J-C, Köhler T, Yamaguchi K, Van Delden C. (2001)

- Azithromycin inhibits quorum sensing in *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrobial Agents and Chemotherapy*. 45(6):1930–3. doi:10.1128/aac.45.6.1930-1933.2001.
142. Grégoire, N., Aranzana-Climent, V., Magréault, S., Marchand, S., & Couet, W. (2017). Clinical Pharmacokinetics and Pharmacodynamics of Colistin. *Clinical Pharmacokinetics*, 56(12), 1441–1460. <https://doi.org/10.1007/s40262-017-0561-1>.
 143. Clinical and Laboratory Standards Institute (CLSI). Performance Standards for Antimicrobial Susceptibility Testing. 35th ed. CLSI supplement M100. Clinical and Laboratory Standards Institute, USA, 2025.
 144. World Health Organization. Antimicrobial resistance: global report on surveillance. https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/112642/9789241564748_eng.pdf?sequence=1. 2014. Accessed 04 November 2024.
 145. Pallett, S. J. C., Boyd, S. E., O'Shea, M. K., Martin, J., Jenkins, D. R., & Hutley, E. J. (2023). The contribution of human conflict to the development of antimicrobial resistance. *Communications Medicine*, 3(1). <https://doi.org/10.1038/s43856-023-00386-7>.
 146. United Nations. Political Declaration of the High-level Meeting on Antimicrobial Resistance. <https://www.un.org/pga/wp-content/uploads/sites/108/2024/09/FINAL-Text-AMR-to-PGA.pdf>. 2024. Accessed 04 November 2024.
 147. Zwittink, R. D., Wielders, C. C., Notermans, D. W., Verkaik, N. J., Schoffelen, A. F., Witteveen, S., Ganesh, V. A., De Haan, A., Bos, J., Bakker, J., Linden, C. S. D., Kuijper, E. J., De Greeff, S. C., & Hendrickx, A. P. (2022). Multidrug-resistant organisms in patients from Ukraine in the Netherlands, March to August 2022. *Eurosurveillance*, 27(50). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2022.27.50.2200896>
 148. Pallett, S. J. C., Trompeter, A., Basarab, M., Moore, L. S. P., & Boyd, S. E. (2023). Multidrug-resistant infections in war victims in Ukraine. *The Lancet Infectious Diseases*, 23(8), e270–e271. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(23\)00391-2](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(23)00391-2).

149. Zwittink, R. D., Wielders, C. C., Notermans, D. W., Verkaik, N. J., Schoffelen, A. F., Witteveen, S., Ganesh, V. A., De Haan, A., Bos, J., Bakker, J., Linden, C. S. D., Kuijper, E. J., De Greeff, S. C., & Hendrickx, A. P. (2022). Multidrug-resistant organisms in patients from Ukraine in the Netherlands, March to August 2022. *Eurosurveillance*, 27(50). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2022.27.50.2200896>
150. Schultze, T., Hogardt, M., Velázquez, E. S., Hack, D., Besier, S., Wichelhaus, T. A., Rochwalsky, U., Kempf, V. A., & Reinheimer, C. (2023). Molecular surveillance of multidrug-resistant Gram-negative bacteria in Ukrainian patients, Germany, March to June 2022. *Eurosurveillance*, 28(1). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2023.28.1.2200850>
151. Ljungquist, O., Nazarchuk, O., Kahlmeter, G., Andrews, V., Koithan, T., Wasserstrom, L., Dmytriiev, D., Fomina, N., Bebyk, V., Matuschek, E., & Riesbeck, K. (2023). Highly multidrug-resistant Gram-negative bacterial infections in war victims in Ukraine, 2022. *The Lancet Infectious Diseases*, 23(7), 784–786. [https://doi.org/10.1016/s1473-3099\(23\)00291-8](https://doi.org/10.1016/s1473-3099(23)00291-8)
152. Witteveen, S., Hans, J. B., Izdebski, R., Hasman, H., Samuelsen, Ø., Dortet, L., Pfeifer, Y., Delappe, N., Oteo-Iglesias, J., Żabicka, D., Cormican, M., Sandfort, M., Reichert, F., Pöntinen, A. K., Fischer, M. A., Verkaik, N., Pérez-Vazquez, M., Pfennigwerth, N., Hammerum, A. M., . . . Hendrickx, A. P. (2024). Dissemination of extensively drug-resistant NDM-producing *Providencia stuartii* in Europe linked to patients transferred from Ukraine, March 2022 to March 2023. *Eurosurveillance*, 29(23). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2024.29.23.2300616>.
153. World Health Organisation. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023-2021 data. <https://iris.who.int/bitstream/handle/10665/366822/9789289058537-eng.pdf?sequence=1>. 2023. Accessed 04 November 2024.
154. Sandfort, M., Hans, J. B., Fischer, M. A., Reichert, F., Cremanns, M., Einfeld, J., Pfeifer, Y., Heck, A., Eckmanns, T., Werner, G., Gattermann, S., Haller, S., & Pfennigwerth, N. (2022). Increase in NDM-1 and NDM-1/OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in Germany associated with the war in Ukraine, 2022. *Eurosurveillance*, 27(50). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2022.27.50.2200926>.

155. Stein, C., Zechel, M., Spott, R., Pletz, M. W., & Kipp, F. (2023). Multidrug-resistant isolates from Ukrainian patients in a German health facility: a genomic surveillance study focusing on antimicrobial resistance and bacterial relatedness. *Infection*, 51(6), 1731–1738. <https://doi.org/10.1007/s15010-023-02061-4>.
156. Фомін О.О. та інш, (2024). Мікрофлора сучасної бойової рани та її чутливість до антибіотиків. Частина I. Український Медичний Часопис. <https://www.umj.com.ua/uk/publikatsia-244023-mikroflora-suchasnoyi-bojovoyi-rani-ta-yiyi-chutlivist-do-antibiotikiv-chastina-i>
157. Звіт за результатами дослідження: «Визначення одномоментної розповсюдженості інфекційних хвороб, пов'язаних з наданням медичної допомоги, та використання антимікробних препаратів в закладах охорони здоров'я, що надають цілодобову стаціонарну допомогу в Україні в 2021 році» <https://phc.org.ua/antibiotikorezistentnist/antimikrobna-rezistentnist-v-ukraini>.
158. Suetens, C., Latour, K., Kärki, T., Ricchizzi, E., Kinross, P., Moro, M. L., Jans, B., Hopkins, S., Hansen, S., Lyytikäinen, O., Reilly, J., Deptula, A., Zingg, W., Plachouras, D., & Monnet, D. L. (2018). Prevalence of healthcare-associated infections, estimated incidence and composite antimicrobial resistance index in acute care hospitals and long-term care facilities: results from two European point prevalence surveys, 2016 to 2017. *Eurosurveillance*, 23(46). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2018.23.46.1800516>
159. Поточилова В., Руднева К., Покас О., Вишнякова Г(2020). Чутливість до антибактеріальних препаратів та фенотипове визначення факторів резистентності у штамів неферментуючих грам-негативних бактерій – збудників ранових інфекцій, «Вісник проблем біології і медицини» Випуск 4 (158), 259-263 сторінки, DOI:[10.29254/2077-4214-2020-4-158-259-263](https://doi.org/10.29254/2077-4214-2020-4-158-259-263).
160. Споживання антибіотиків в Україні за класифікацією ВООЗ (2021) Аптека.UA, 46 (1317) <https://www.apteka.ua/article/618975>.
161. Santajit, S., & Indrawattana, N. (2016). Mechanisms of antimicrobial resistance in ESKAPE pathogens. *BioMed Research International*, 2016, 1–8. <https://doi.org/10.1155/2016/2475067>.

162. Vázquez-Ucha, J. C., Alonso-Garcia, I., Guijarro-Sánchez, P., Lasarte-Monterrubio, C., Álvarez-Fraga, L., Cendón-Esteve, A., Outeda, M., Maceiras, R., Peña-Escolano, A., Martínez-Gutián, M., Arca-Suárez, J., Bou, G., & Beceiro, A. (2023). Activity of aztreonam in combination with novel β -lactamase inhibitors against metallo- β -lactamase-producing Enterobacterales from Spain. *International Journal of Antimicrobial Agents*, 61(4), 106738. <https://doi.org/10.1016/j.ijantimicag.2023.106738>.
163. Surveillance report. Antimicrobial resistance in the EU/EEA (EARS-Net) Annual Epidemiological Report for 2022 <https://www.ecdc.europa.eu/sites/default/files/documents/AER-antimicrobial-resistance.pdf>
164. Мапа поширення антибіотикорезистентності One Health <https://resistancemap.onehealthtrust.org/AntibioticResistance.php>.
165. Antimicrobial resistance surveillance in Europe 2023–2021 data, 14 April 2023, <https://www.who.int/europe/publications/i/item/9789289058537>.
166. Ганюк, В.М. та інші. (2021) «Аналіз фенотипів та генетичних детермінант антибактеріальної резистентності *Klebsiella pneumoniae*, що спричиняють інфекційні ускладнення, пов'язані з наданням медичної допомоги у відділенні реанімації та інтенсивної терапії для хірургічних хворих.», *Сучасні аспекти військової медицини*, 28-1. doi: 10.32751/2310-4910-2021-28-1-13.
167. Tanriverdi Cayci, Y. et al. (2021) 'Investigation of NDM, vim, kpc and oxa-48 genes, blue-carba and cim in carbapenem resistant Enterobacterales isolates', *The Journal of Infection in Developing Countries*, 15(05), pp. 696–703. doi:10.3855/jidc.13345.
168. Lazar, D.S. et al. (2024) 'Carbapenem-resistant NDM and oxa-48-like producing *K. Pneumoniae*: From menacing superbug to a mundane bacteria; a retrospective study in a romanian tertiary hospital', *Antibiotics*, 13(5), p. 435. doi:10.3390/antibiotics13050435.
169. Hosseinzadeh, Z. et al. (2018) 'Emerge of bla ndm-1 and bla oxa-48-like harboring carbapenem-resistant *Klebsiella pneumoniae* isolates from hospitalized

patients in southwestern Iran', *Journal of the Chinese Medical Association*, 81(6), pp. 536–540. doi:10.1016/j.jcma.2017.08.015.

170. Sandfort, M., Hans, J. B., Fischer, M. A., Reichert, F., Cremanns, M., Einfeld, J., Pfeifer, Y., Heck, A., Eckmanns, T., Werner, G., Gattermann, S., Haller, S., & Pfennigwerth, N. (2022). Increase in NDM-1 and NDM-1/OXA-48-producing *Klebsiella pneumoniae* in Germany associated with the war in Ukraine, 2022. *Eurosurveillance*, 27(50). <https://doi.org/10.2807/1560-7917.es.2022.27.50.2200926>

171. Lai, C.-C. and Yu, W.-L. (2021) 'Klebsiella pneumoniae harboring Carbapenemase genes in Taiwan: Its evolution over 20 years, 1998–2019', *International Journal of Antimicrobial Agents*, 58(1), p. 106354. doi:10.1016/j.ijantimicag.2021.106354.

172. van der Zwaluw, K. et al. (2015) 'The carbapenem inactivation method (CIM), a simple and low-cost alternative for the Carba NP test to assess phenotypic carbapenemase activity in gram-negative rods', *PLOS ONE*, 10(3). doi:10.1371/journal.pone.0123690.

173. Yamada, K. et al. (2016) 'Comparison of the modified-hodge test, Carba NP test, and carbapenem inactivation method as screening methods for carbapenemase-producing enterobacteriaceae', *Journal of Microbiological Methods*, 128, pp. 48–51. doi:10.1016/j.mimet.2016.06.019.

174. Tijet, N., Patel, S.N. and Melano, R.G. (2015) 'Detection of carbapenemase activity in Enterobacteriaceae: Comparison of the carbapenem inactivation method versus the Carba NP test: Table 1.', *Journal of Antimicrobial Chemotherapy*, 71(1), pp. 274–276. doi:10.1093/jac/dkv283

175. Hernández-García, M., De Aledo, M. G., Ponce-Alonso, M., González-Blanco, B., Viedma, E., Villa, J., Tomás, M., Hendrickx, A. P., Ruiz-Garbajosa, P., & Cantón, R. (2024). Simultaneous clonal spread of NDM-1-producing *Pseudomonas aeruginosa* ST773 from Ukrainian patients in The Netherlands and Spain. *IJID Regions*, 12, 100415. <https://doi.org/10.1016/j.ijregi.2024.100415>.

176. Müsken, M., Klimmek, K., Sauer-Heilborn, A., Donnert, M., Sedlacek, L., Suerbaum, S., & Häussler, S. (2017). Towards individualized diagnostics of biofilm-

associated infections: a case study. *Npj Biofilms and Microbiomes*, 3(1).
<https://doi.org/10.1038/s41522-017-0030-5>

177. Thöming, J. G., & Häussler, S. (2022). *Pseudomonas aeruginosa* Is More Tolerant Under Biofilm Than Under Planktonic Growth Conditions: A Multi-Isolate Survey. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*, 12.
<https://doi.org/10.3389/fcimb.2022.851784>

178. Moshynets, O. V., & Spiers, A. J. (2016). Viewing Biofilms within the Larger Context of Bacterial Aggregations. *InTech*. doi: 10.5772/62912.

179. Cornforth, D. M., Dees, J. L., Ibberson, C. B., Huse, H. K., Mathiesen, I. H., Kirketerp-Møller, K., Wolcott, R. D., Rumbaugh, K. P., Bjarnsholt, T., & Whiteley, M. (2018). *Pseudomonas aeruginosa* transcriptome during human infection. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 115(22).
<https://doi.org/10.1073/pnas.1717525115>

180. Moshynets, O. V., Baranovskyi, T. P., Cameron, S., Iungin, O. S., Pokholenko, I., Jerdan, R., Kamyshnyi, A., Krikunov, A. A., Potochilova, V. V., Rudnieva, K. L., & Spiers, A. J. (2022). Azithromycin possesses biofilm–inhibitory activity and potentiates non-bactericidal Colistin Methanesulfonate (CMS) and polymyxin B against *Klebsiella pneumoniae*. *PLOS ONE*, 17(7).
<https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270983>.



**ГРОМАДСЬКА ОРГАНІЗАЦІЯ
«ІНФЕКЦІЙНИЙ КОНТРОЛЬ
В УКРАЇНІ»**

ЄДРПОУ 39232143, Україна, 04119,
місто КИЇВ,
вулиця ДЕГТЯРІВСЬКА, будинок
25/1
тел. +380973893838
www.infection-control.in.ua
e-mail: info@infection-control.in.ua

Затверджую
Голова громадської організації
«Інфекційний контроль в
Україні», к.м.н., Александрін А.В.
«28» січня 2025 року

Акт впровадження

1. Назва пропозиції, що підлягає впровадженню: Використання даних ретроспективного аналізу поширеності збудників ранових інфекцій та їх антибіотикорезистентності у програму навчальних тренінгів з інфекційного контролю.

2. Ким та коли запропонований: Кафедра мікробіології та паразитології з основами імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, аспірант Руднева К.Л.

3. Джерело інформації: Поточилова В., Руднева К., Покас О., Вишнякова Г. (2020) Чутливість до антибактеріальних препаратів та фенотипове визначення факторів резистентності у мікроорганізмів родини *Enterobacteriaceae* – збудників ранових інфекцій. «Вісник проблем біології і медицини». Випуск 3 (157), с. 208-213. DOI: 10.29254/2077-4214-2020-3-157-208-213.

Вишнякова Г., Поточилова В., Руднева К., Покас О. (2020) Видовий склад збудників ранових інфекцій у пацієнтів з хірургічною патологією та чутливість до антибіотиків виявленої грампозитивної флори. «Вісник проблем біології і медицини». Вип. 2 (156). с. 244-248. DOI: 10.29254/2077-4214-2020-2-156-244-248.

Поточилова В., Руднева К., Покас О., Вишнякова Г. (2020) Чутливість до антибактеріальних препаратів та фенотипове визначення факторів резистентності у штамів неферментуючих грам-негативних бактерій – збудників ранових інфекцій. «Вісник проблем біології і медицини». Випуск 4 (158). с. 259-263. DOI: 10.29254/2077-4214-2020-4-158-259-263.

4. Установа, яка проводить впровадження: ГО «Інфекційний контроль в Україні».

5. Термін впровадження: вересень 2024-березень 2025.

6. Форма впровадження: Підвищення наглядності проблематики інфекцій області хірургічного втручання, демонстрація основних тенденцій поширення антибіотикорезистентності.

Дата: 28.01.2025

Відповідальний за впровадження



Александрін А.В.

**ТОВАРИСТВО З ОБМЕЖЕНОЮ ВІДПОВІДАЛЬНІСТЮ
ЦЕНТР МИСТЕЦТВА РЕАБІЛІТАЦІЇ «РЕАРТ»**

ТОВ «ЦМР «РЕАРТ» (ЄДРПОУ44404829)

Україна, 02130, місто Київ, пр-т. Воскресенський, будинок 4

Ліцензія на провадження господарської діяльності з медичної практики МОЗ України №2283/21М від 27.05.2021 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Директор

ТОВ «Центр мистецтва реабілітації «Реарт»

Олексій Михайлов

«28» січня 2025 р.

АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

- Назва пропозиції, що підлягає впровадженню:** Використання комбінованої антибіотикотерапії (меропенем та азитроміцин) для лікування інфекцій сечовивідних шляхів, спричинених мультирезистентними грамнегативними бактеріями.
- Ким та коли запропонований:** Кафедра мікробіології та паразитології з основами імунології Національного медичного університету імені О.О. Богомольця, аспірант Руднєва К.Л.
- Джерело інформації:** Kryzhevskiy, V., Strokous, V., Lifshyts, Y., Rybianets, Y., Oberniak, A., Krikunov, A., Iungin, O., Potochilova, V., Rudnieva, K., Petakh, P., Kamyshnyi, A., & Moshynets, O. (2023). Case report: Azithromycin-meropenem combination therapy as a low-cost approach to combat pdr gram-negative infections of war wounds in Ukraine. *Frontiers in Medicine*, 10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1264492>.
Moshynets, O. V., Baranovskyi, T. P., Cameron, S., Iungin, O. S., Pokholenko, I., Jerdan, R., Kamyshnyi, A., Krikunov, A. A., Potochilova, V. V., Rudnieva, K. L., & Spiers, A. J. (2022). Azithromycin possesses biofilm-inhibitory activity and potentiates non-bactericidal Colistin Methanesulfonate (CMS) and polymyxin B against *Klebsiella pneumoniae*. *PLOS ONE*, 17(7).
- Установа, яка проводить впровадження:** ТОВ «Центр мистецтва реабілітації «РЕАРТ».
- Термін впровадження:** вересень 2024р. - березень 2025р.
- Кількість спостережень:** 30.
- Форма впровадження:** Підвищення ефективності лікування хворих з катетерасоційованою інфекцією сечовивідних шляхів, що спричинені мультирезистентними грамнегативними мікроорганізмами, зниження частоти рецидивів.

Дата: 28.01.2025


Відповідальний за впровадження лікар
Олексій Михайлов

Список публікацій здобувача, опублікованих за темою дисертації

Scopus

1. Moshynets, O.V., Baranovskyi, T.P., Cameron, S., Iungin, O.S., Pokholenko, I., Jerdan, R., Kamyshnyi, A., Krikunov, A.A., Potochilova, V.V., Rudnieva, K.L., & Spiers, A.J. (2022). Azithromycin possesses biofilm–inhibitory activity and potentiates non-bactericidal Colistin Methanesulfonate (CMS) and polymyxin B against *Klebsiella pneumoniae*. PLOS ONE, 17(7). <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0270983>.
2. Moshynets, O.V., Baranovskyi, T.P., Iungin, O.S., Krikunov, A.A., Potochilova, V.V., Rudnieva, K.L., Potters, G., & Pokholenko, I. (2023). Therapeutic potential of an azithromycin-colistin combination against XDR *K. pneumoniae* in a 3D collagen-based in vitro wound model of a biofilm infection. Antibiotics, 12(2), 293. <https://doi.org/10.3390/antibiotics12020293>
3. Kryzhevskyi, V., Strokous, V., Lifshyts, Y., Rybianets, Y., Oberniak, A., Krikunov, A., Iungin, O., Potochilova, V., Rudnieva, K., Petakh, P., Kamyshnyi, A., & Moshynets, O. (2023). Case report: Azithromycin-meropenem combination therapy as a low-cost approach to combat PDR gram-negative infections of war wounds in Ukraine. Frontiers in Medicine, 10. <https://doi.org/10.3389/fmed.2023.1264492>

Фахові журнали (категорія Б)

1. Поточилова В., Руднєва К., Покас О., Вишнякова Г. (2020) Чутливість до антибактеріальних препаратів та фенотипове визначення факторів резистентності у мікроорганізмів родини Enterobacteriaceae – збудників ранових інфекцій. «Вісник проблем біології і медицини» Випуск 3 (157), DOI: 10.29254/2077-4214-2020-3-157-208-213
2. Вишнякова Г., Поточилова В., Руднєва К., Покас О. (2020) Видовий склад збудників ранових інфекцій у пацієнтів з хірургічною патологією та

чутливість до антибіотиків виявленої грампозитивної флори. «Вісник проблем біології і медицини» Вип. 2 (156), DOI: 10.29254/2077-4214-2020-2-156-244-248

3. Поточилова В., Руднєва К., Покас О., Вишнякова Г. (2020) Чутливість до антибактеріальних препаратів та фенотипове визначення факторів резистентності у штамів неферментуючих грам-негативних бактерій – збудників ранових інфекцій. «Вісник проблем біології і медицини» Випуск 4 (158), DOI: 10.29254/2077-4214-2020-4-158-259-263

Апробація результатів

1. Pokholenko I.O., Rudnieva K.L., Baranovskyi T.P., Potochilova V.V., Iungin O.S., Moshynets O.V. (2022) A biomimetic 3d model to reproduce wound-associated biofilm-related infectious process in vitro. All-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology: мат. Науково-практичної конференції з міжнародною участю. Київ, 15-17 червня 2022. С 53.

2. Moshynets O.V., Pokholenko I.O., Rudnieva K.L., Baranovskyi T.P., Potochilova V.V., Iungin O.S., Spiers A.J., Krikunov A.A. (2022) Azithromycin reveals biofilm-inhibitory activity and potentiates non-bactericidal colistin methanesulfonate against *Klebsiella pneumonia*. All-Ukrainian Conference on Molecular and Cell Biology: мат. Науково-практичної конференції з міжнародною участю. Київ, 15-17 червня 2022. С 61.

3. Руднєва К.Л., Понятовський В.А. (2022) Аналіз резистентності до антимікробних препаратів серед ESKAPE патогенів у Київському регіоні за 2017-2021 роки. Актуальні питання мікробіології у медичній освіті і науці, Харків, 22-23 вересня 2022 р, С 120-123

4. Руднєва К.Л., Бояновський С.О., Понятовський В.А. (2023) Вплив активних бойових дій на мікробіологічне різноманіття та антибіотикорезистентність збудників ранових інфекцій. III Науково-практична міжнародна дистанційна конференція «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині», Харків, 24 березня 2023 р

5. Rudnieva K.L., Baranovskyi T.P., Potochilova V.V., Iungin O.S., Pokhodenko I.O., Spiers A.J., Moshynets O.V. (2024) Molecular epidemiology of carbapenemase-producing hospital-acquired *Klebsiella pneumoniae* in Ukraine. 33th European Congress of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Копенгаген, 15-18 квітня 2023 р.
6. Rudnieva K.L., Poniatovskyi V.A., Boianovskyi S.O., Moshynets O.V. (2024). Russian-Ukraine war raised antibiotic resistance and Gram-negative infections of wounds in Ukraine. ESCMID Global: Congress of the European Society of Clinical Microbiology and Infectious Diseases, Барселона, 27-30 квітня 2024 р.