

<https://doi.org/10.32782/2786-9067-2023-25-19>

УДК 616.98:579.262:616-001:355.5

PSEUDOMONAS AERUGINOSA У ПАЦІЄНТІВ З МІННО-ВИБУХОВИМИ ТРАВМАМИ

¹Тимчук І.В., ¹Лаврик Г.С., ¹Руминська Т.М., ¹Павлій С.Й., ²Герич Г.І., ¹Корнійчук О.П.

¹Львівський національний медичний університет імені Данила Галицького, м. Львів, Україна

²КНП "Перше територіальне медичне об'єднання м. Львова" ВП "Лікарня Святого Пантелеймона", Україна

Анотація. Під час російської агресії, Україна стикається із багатьма проблемами у різних сферах життєдіяльності. Через великий потік пацієнтів є надзвичайно важко забезпечити якісний протиепідемічний режим у медичних закладах, що знаходяться близько до лінії фронту. Після надання першої медичної допомоги пацієнти потрапляють до лікарень на мирних територіях для продовження стаціонарного лікування та протезування.

Гнійно-септичні ускладнення вогнепальних поранень розвиваються у 50-75% випадків. Результати проведених мікробіологічних досліджень ран постраждалих внаслідок вибухових або мінно-вибухових поранень показали переважання грамнегативної мікрофлори. Стійкий до антибіотиків *P. aeruginosa*, що вражає рани, пов'язані з війною, є серйозною проблемою з регіональними та глобальними наслідками, яка потребує регулярного тестування на чутливість до антибіотиків. Метою дослідження було виділення псевдомонад, які ускладнюють перебіг загоєння ран, що відтермінує можливість протезування пацієнтів, визначення спектру чутливості виділених штамів до антибактеріальних препаратів.

Виділені псевдомонади були резистентні практично до усіх антибіотиків, що рекомендовані для тестування керівництвом EUCAST. Перспективними дослідженнями є пошук та тестування нових протимікробних засобів, що володіють високою активністю відносно резистентних ізолятів *P. aeruginosa*.

Ключові слова: *P. aeruginosa*, піоціанін, множинна резистентність, мінно вибухова травма

Вступ. Сьогодні, у розпал війни, Україна стикається із багатьма проблемами у різних сферах життєдіяльності. Забезпечення медичною допомогою поранених військовослужбовців та цивільних осіб є великим викликом для медичних закладів охорони здоров'я, які розташовані найближче до лінії фронту. Через великий потік пацієнтів є надзвичайно важко забезпечити якісний протиепідемічний режим у цих закладах. Після надання першої медичної допомоги пацієнти потрапляють до лікарень, які знаходяться у відносно мирній території нашої держави, зокрема міста Львова.

Гнійно-септичні ускладнення вогнепальних поранень розвиваються у 50-75% випадків. При інфікуванні вогнепальних ран м'яких тканин різної локалізації найчастішими збудниками виступають *Pseudomonas aeruginosa* (22,5%), *Proteus mirabilis* (21,3%), *Staphylococcus aureus* (23,8%), *Streptococcus pyogenes* (18,8%) та *Escherichia coli* (13,8%) [1]. Приєднання патогенної мікрофлори до ранового процесу підвищує летальність на 12%.

Стійкий до антибіотиків *P. aeruginosa*, що вражає рани, пов'язані з війною, є серйозною проблемою з регіональними та глобальними наслідками, яка потребує регулярного тестування на чутливість до антибіотиків. Із 99 ізолятів мазків 46 були *P. aeruginosa* (46,46%). Найвища захворюваність 63,1% виявлена у віковій групі 20–40 років. Ізоляти виявили стійкість до аміноглікозидів: гентаміцину (87%), тобраміцину (78,2%) і амікацину (82,6%). Цікаво, що 65,2% ізолятів *P. aeruginosa* мали множинну лікарську стійкість [2].

У цьому сенсі *P. aeruginosa* демонструє характерну низьку чутливість до деяких антибіотиків, які зараз використовуються в терапії. Це пов'язано зі зниженою проникністю його клітинних оболонок і наявністю в його геномі комплексу генів, що кодують насоси виведення кількох лікарських засобів і ферменти, що інактивують антибіотики, що сприяє його стійкості до антибіотиків. Окрім природної резистентності, *P. aeruginosa* здатна еволюціонувати до антибіотикорезистентності через мутації (особливо актуальні у випадку хронічних інфекцій) і шляхом придбання генів стійкості до антибіотиків. Варто зазначити, що набута резистентність — це не єдиний спосіб, за допомогою якого *P. aeruginosa* може уникнути дії антибіотиків. Перехідна стійкість також може надавати цей фенотип. Дійсно, індукція експресії генів внутрішньої резистентності умовами або сполуками, з якими може зіткнутися *P. aeruginosa* під час інфекції, може поставити під загрозу ефективність антибіотиків для лікування інфекцій. Крім того, у пацієнтів також виявляються толерантні клітини, здатні виживати під час дії бактерицидних антибіотиків без підвищення фенотипу стійкості до антибіотиків, і вони є прелюдією еволюції стійкості до антибіотиків [3, 4].

Метою дослідження було виділення псевдомонад, які ускладнюють перебіг загоєння ран, що відтермінує можливість протезування пацієнтів, визначення спектру чутливості виділених штамів до антибактеріальних препаратів.

Матеріали та методи досліджень. Матеріал для дослідження забирали у пацієнтів з мінно-вибуховими травмами, які прибули на стаціонарне лікування у хірургічне відділення №1 Лікарні Святого Пантелеймона Першого територіального медичного об'єднання міста Львова. Забір виконували стерильними тампонами із транспортним поживним середовищем. Матеріал засівали на CHROMID® *P. aeruginosa* Agar, МПА та інкубували при температурі 37°C упродовж 24 год. Біохімічну ідентифікацію проводили за допомогою тест-систем

«NEFERMtest» виробництва Lachema. Антибіотикочутливість визначали методом Кірбі-Бауера та визначенням МІК за допомогою мікророзведень у бульйоні згідно рекомендацій EUCAST 2023 [5].

Результати та їх обговорення. Із 9 пацієнтів з мінно-вибуховою травмою, які одночасно поступили в хірургічне відділення №1 у 4-ох було виділено збудника *Pseudomonas aeruginosa*, що становить 44,44%. Ці дані схожі із дослідженням мікрофлори військових ран у Ємені, де виділення *P. aeruginosa* становило 46,46% [2]. В одного пацієнта синьогнійна паличка виділилась у монокультури, а у 3-ох пацієнтів в асоціації з іншими ентеробактеріями. При визначенні чутливості виділених штамів до антибіотиків було виявлено чутливість до колістину та резистентність до більшості антибіотиків з очікуваною чутливістю до псевдомонад. Дані висвітлені у таблиці 2.

Неферментуючі грамнегативні бактерії, як правило, внутрішньо стійкі до бензилпеніциліну, цефалоспоринів першого та другого покоління, глікопептидів, ліпоглікопептидів, фузидієвої кислоти, макролідів, лінкозамідів, стрептограмінів, рифампіцину та оксазолідінонів [5, 6]. Гостро стоїть питання профілактики розвитку інфекцій пов'язаних з наданням медичної допомоги на догоспітальному та госпітальному періоді і у цьому випадку необхідно зважати на очікуваний фенотип резистентності в *P. aeruginosa*, уникати застосування зазначених антибіотиків для профілактики інфікування ран цим збудником. Антибіотики, до дії яких більше 90% ізолятів *P. aeruginosa*, незалежно від походження, демонструють характерний механізм стійкості, наведені у таблиці №1. Їх недоцільно використовувати для лікування ран інфікованих *P. aeruginosa*.

Таблиця 1

Очікуваний фенотип резистентності у *Pseudomonas aeruginosa*

Ампіцилін/ Амоксицилін	Амоксицилін- клавуланова кислота	Ампіцилін- сульбактам	Цефотаксим/ Цефтриаксон	Ертапенем	Хлорамфенікол	Аміноглікозид	Триметоприм	Тетрациклін	Тайгециклін
R	R	R	R	R	R	R*	R	R	R

R - резистентні,

R* - *P. aeruginosa* є стійкою до канаміцину та неоміцину через низьку активність APH (3')-Шб

Таблиця 2

Профілі чутливості виділених штамів *P. aeruginosa*

№ Пацієнт	Антибіотики	Піперацилін	Піперацилін- тазобактам	Тікацилін-клавуланат	Цефепім	Цефдерокол	Цефтазидим	Цефтазидим- авібактам	Цефтолозан-тазобактам	Доріпенем	Імпіненем	Імпіненем-релебактам	Меропенем	Меропенем- ваборбактам	Азтреонам	Ципрофлоксацин	Левофлоксацин	Амікацин	Тобрамцін	Колістин*
Pa04	R	R	-	R	-	R	R	-	R	R	-	R	-	R	R	R	R	R	R	S
Pa05	R	S	-	R	-	S	R	-	R	S	-	R	-	R	R	R	R	R	R	S
Pa08	R	R	-	R	-	R	R	-	R	R	-	R	-	R	R	R	R	R	R	S
Pa09	R	S	I	R	-	R	R	-	R	R	-	R	-	R	R	R	R	R	R	S

R - резистентний, I - чутливий з підвищеною експозицією (концентрацією препарату), S – чутливий, «-» не досліджували, *визначення МІК,

P. aeruginosa здатна синтезувати різні пігменти: водорозчинний синій пігмент піоціанін і жовто - зелений пігмент флуоресцеїн, які сприяють фарбуванню матеріалу в зелений колір, піорубін в червоний колір, піомеланін – в чорно-коричневий колір, L-оксіфеназін в жовтий колір [7, 8, 9]. Виділені нами штами, в однакових умовах культивування, синтезували піоціаніни різних відтінків синьо-зеленого забарвлення, що підтверджує різне джерело походження штамів.

Наявність множинної резистентності може спонукати до думки, що контамінація пацієнтів відбулася на етапі первинної госпіталізації у прифронтових шпиталях. У лікарнях з великим потоком пацієнтів дуже складно уникати інфекцій, що пов'язані із наданням медичної допомоги.

Для профілактики інфікування ран підчас воєнних дій необхідно дотримуватись загальних принципів невідкладної військової хірургії [10]:

- лікування антибіотиками слід починати якомога раніше, в ідеалі протягом години після поранення, і повторювати з метою профілактики інфікування воєнної рани;

- в оптимальному варіанті хірургічна обробка рани повинна проводитись протягом 6 годин після травми;

- після первинного огляду та обробки рану слід достатньо промити, щоб переконатися, що всі мертві речовини, бактеріальне забруднення та сторонні матеріали були вимиті з рани;

- шкіру залишають відкритою, накладають злегка зволожену стерильну марлеву пов'язку;

- для більших ран може бути показано застосування пристрою для закриття ран за допомогою вакууму;

- антибіотикотерапію слід розпочинати якнайшвидше після поранення, потім продовжувати протягом 24 годин, залежно від розміру, ступеня руйнування та ступеня забруднення рани. Якщо час від поранення до початку застосування антибіотиків становить >6 годин або час від поранення до операції >12 годин, тоді необхідно розпочати курс лікування антибіотиками для уже встановленої інфекції.

У наших умовах нереально провести ідентифікацію збудника у перші дні надання медичної допомоги пораненим, тому, враховуючи високий рівень контамінації ран синьогнійною паличкою, необхідно розробити рекомендації для лікарів хірургів, щодо емпіричної антибіотикотерапії, яка буде базуватися на очікуваній чутливості цього збудника до певних антибіотиків.

Висновки та перспективи. Виділені псевдомонади були резистентні практично до усіх антибіотиків, що рекомендовані для тестування керівництвом EUCAST. Чутливим виявився препарат Колістин, до якого також розвивається резистентність.

Отже, для лікарів є непросто завдання з якісної хірургічної підготовки ран до протезування, з обов'язковою елімінацією *P. aeruginosa* із рани пацієнта, і вживання всіх необхідних шляхів захисту від поширення та циркуляції цих резистентних штамів у хірургічних відділення міста Львова.

Перспективними дослідженнями є пошук та тестування нових протимікробних засобів, що володіють високою активністю відносно резистентних ізолятів *P. aeruginosa*.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Хоменко І. П. Динаміка мікробної контамінації вогнепальної рани під час комплексного хірургічного лікування / І. П. Хоменко, Є. В. Цема, В. Ю. Шаповалов, С. В. Тertiшний, П. О. Шкляревич // Хірургія України. - 2018. - № 1. - С. 7-13. http://nbuv.gov.ua/UJRN/KhU_2018_1_3
2. Prevalence of MDR *Pseudomonas aeruginosa* of war-related wound and burn ward infections from some conflict areas of Western Yemen Mahfouz Nasser, Mahmoud Ogali, Arun S. Kharat Wound Medicine, 2018;20:58-61 <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2018.02.001>

3. Laborda P, Hernando-Amado S, Martínez JL, Sanz-García F. Antibiotic Resistance in *Pseudomonas*. *Adv Exp Med Biol*. 2022;1386:117-143. doi: 10.1007/978-3-031-08491-1_5. PMID: 36258071
4. Laborda P, Martínez JL, Hernando-Amado S. Evolution of Habitat-Dependent Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Spectr*. 2022 Aug 31;10(4):e0024722. doi: 10.1128/spectrum.00247-22. Epub 2022 Jun 29. PMID: 35766499; PMCID: PMC9431229.
5. Документи Європейського комітету з визначення чутливості до антимікробних препаратів (European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing — EUCAST) <https://www.phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/antimikrobna-rezistentnist/normativna-dokumentaciya>
6. Scudeller L, Righi E, Chiamenti M, Bragantini D, Menchinelli G, Cattaneo P, Giske CG, Lodise T, Sanguinetti M, Piddock LJV, Franceschi F, Ellis S, Carrara E, Savoldi A, Tacconelli E. Systematic review and meta-analysis of in vitro efficacy of antibiotic combination therapy against carbapenem-resistant Gram-negative bacilli. *Int J Antimicrob Agents*. 2021 May;57(5):106344. doi: 10.1016/j.ijantimicag.2021.106344. Epub 2021 Apr 20. PMID: 33857539.
7. Menon ND, Penziner S, Montaña ET, Zurich R, Pride DT, Nair BG, Kumar GB, Nizet V. Increased Innate Immune Susceptibility in Hyperpigmented Bacteriophage-Resistant Mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2022 Aug 16;66(8):e0023922. doi: 10.1128/aac.00239-22. Epub 2022 Jul 6. PMID: 35862755; PMCID: PMC9380547.
8. Кожухар Р. С. Біосинтез феназинових пігментів *Pseudomonas aeruginosa* за різних умов культивування. Biosynthesis of phenazine pigments by *Pseudomonas aeruginosa* under different culture conditions : дипломна робота магістра / Р. С. Кожухар. – Одеса, 2019. – 54 с. <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/30905>
9. Kothari A, Kumar SK, Singh V, Kumar P, Kaushal K, Pandey A, Jain N, Omar BJ. Association of multidrug resistance behavior of clinical *Pseudomonas aeruginosa* to pigment coloration. *Eur J Med Res*. 2022 Jul 16;27(1):120. doi: 10.1186/s40001-022-00752-6. PMID: 35842687; PMCID: PMC9288039.
10. Emergency war surgery 5th Edition / senior editor, Miguel A. Cubano ; co-editors, Frank Butler [and 13 others]; contributors, Hernan O. Altamar [and 58 others]. 2018. 553p. <https://medcoe.army.mil/borden-tb-ews>

REFERENCES

1. Khomenko, I.P. Dynamics of microbial contamination of a gunshot wound during complex surgical treatment / I.P. Khomenko, E.V. Tsema, V.Yu. Shapovalov, S.V. Tertyshny, P.O. Shklyarevich // *Chirurgia Ukrainy*. - 2018. - No. 1. - P. 7-13.

2. Prevalence of MDR *Pseudomonas aeruginosa* of war-related wound and burn ward infections from some conflict areas of Western Yemen Mahfouz Nasser, Mahmoud Ogali, Arun S. Kharat *Wound Medicine*, 2018;20:58-61 <https://doi.org/10.1016/j.wndm.2018.02.001>
3. Laborda P, Hernando-Amado S, Martínez JL, Sanz-García F. Antibiotic Resistance in *Pseudomonas*. *Adv Exp Med Biol*. 2022;1386:117-143. doi: 10.1007/978-3-031-08491-1_5. PMID: 36258071
4. Laborda P, Martínez JL, Hernando-Amado S. Evolution of Habitat-Dependent Antibiotic Resistance in *Pseudomonas aeruginosa*. *Microbiol Spectr*. 2022 Aug 31;10(4):e0024722. doi: 10.1128/spectrum.00247-22. Epub 2022 Jun 29. PMID: 35766499; PMCID: PMC9431229.
5. Documents of the European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing (EUCAST) <https://www.phc.org.ua/kontrol-zakhvoryuvan/antimikrobna-rezistentnist/normativna-dokumentaciya>
6. Scudeller L, Righi E, Chiamenti M, Bragantini D, Menchinelli G, Cattaneo P, Giske CG, Lodise T, Sanguinetti M, Piddock LJV, Franceschi F, Ellis S, Carrara E, Savoldi A, Tacconelli E. Systematic review and meta-analysis of in vitro efficacy of antibiotic combination therapy against carbapenem-resistant Gram-negative bacilli. *Int J Antimicrob Agents*. 2021 May;57(5):106344.
7. Menon ND, Penziner S, Montañó ET, Zurich R, Pride DT, Nair BG, Kumar GB, Nizet V. Increased Innate Immune Susceptibility in Hyperpigmented Bacteriophage-Resistant Mutants of *Pseudomonas aeruginosa*. *Antimicrob Agents Chemother*. 2022 Aug 16;66(8):e0023922. doi: 10.1128/aac.00239-22. Epub 2022 Jul 6. PMID: 35862755; PMCID: PMC9380547.
8. Kozhuhar R. S. Biosynthesis of phenazine pigments of *Pseudomonas aeruginosa* under different cultivation conditions. Biosynthesis of phenazine pigments by *Pseudomonas aeruginosa* under different culture conditions: master's thesis / R. S. Kozhuhar. - Odesa, 2019. - 54 p. <http://dspace.onu.edu.ua:8080/handle/123456789/30905>
9. Kothari A, Kumar SK, Singh V, Kumar P, Kaushal K, Pandey A, Jain N, Omar BJ. Association of multidrug resistance behavior of clinical *Pseudomonas aeruginosa* to pigment coloration. *Eur J Med Res*. 2022 Jul 16;27(1):120.
10. Emergency war surgery 5th Edition / senior editor, Miguel A. Cubano ; co-editors, Frank Butler [and 13 others]; contributors, Hernan O. Altamar [and 58 others]. 2018. 553p. <https://medcoe.army.mil/borden-tb-ews>.

***PSEUDOMONAS AERUGINOSA* IN PATIENTS WITH MINE BLAST INJURIES**

Tymchuk I.V., Lavryk G.S., Rumynska T.M., Pavliy S.Y., Herych H.I., Korniychuk O.P.

Abstract. During the Russian aggression, Ukraine faces many problems in various spheres of life. Due to the large flow of patients, it is extremely difficult to ensure a high-quality anti-epidemic

regime in medical institutions located close to the front line. After receiving first aid, patients are transferred to hospitals in civilian areas for further inpatient treatment and prosthetics.

Purulent and septic complications of gunshot wounds develop in 50-75% of cases. The results of microbiological studies of the wounds of victims of explosive or mine-blast wounds showed the prevalence of gram-negative microflora. Antibiotic-resistant *P. aeruginosa* infecting war-related wounds is a serious problem with regional and global implications that requires regular antibiotic susceptibility testing. The study aimed to isolate pseudomonads that complicate the course of wound healing, which delays the possibility of prosthetics for patients, and to determine the spectrum of sensitivity of the isolated strains to antibacterial drugs.

The isolated pseudomonads were resistant to almost all antibiotics recommended for testing by the EUCAST guidelines. Promising studies include the search and testing of new antimicrobial agents with high activity against resistant *P. aeruginosa* isolates

Funding: This work was supported by the Ministry of Health of Ukraine [grant number: 0123U100153].

Key words: *P. aeruginosa*, pyocyanin, multidrug resistance, mine blast injuries.

Фінансування: Дане дослідження було профінансоване Міністерством Охорони Здоров'я України [грант номер: 0123U100153]

Тимчук Ірина Василівна <https://orcid.org/0000-0002-9290-2954>, +38 0671910117, ira.tymch@gmail.com

Лаврик ГС. <https://orcid.org/0000-0002-6470-1653>

Руминська Т.М. <https://orcid.org/0000-0002-0669-5865>

Павлій С.Й. <https://orcid.org/0000-0002-2425-9426>

Герич Г.І. <https://orcid.org/0000-0002-9907-1874>

Корнійчук О.П. <https://orcid.org/0000-0003-4885-0525>

Надійшла до редакції / Received: 27.11.2022