

Гетерорезистентность *P. aeruginosa* к дорипенему и левофлоксацину

Hetero-resistance of *P. aeruginosa* to doripenem and levofloxacin

Филимонова А.В., Ямалиева Д.И., Голикова М.В./Filimonova A.V., Yamalieva D.I., Golikova M.V.
ФГБНУ НИИ по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, Москва, Россия/
Gause Institute of New Antibiotics, Moscow, Russia

Введение

Гетерорезистентность бактерий к антибиотикам является одним из факторов, которые могут осложнять процесс антимикробной терапии. Для изучения и оценки гетерорезистентности бактерий к антибиотикам применяется метод - Population analysis profile (PAP) [1, 2]. Согласно протоколу PAP-метода для выявления гетерорезистентных субпопуляций используется высев образцов с бактериями на агаризованную среду, содержащую антибиотик в разных концентрациях. В качестве альтернативы PAP-методу представляется интересным подход, в соответствии с которым изучение гетерорезистентности бактерий проводится в условиях, когда клетки патогена и антибиотик взаимодействуют в условиях жидкой, а не твердой питательной среды. В жидкой среде создаются условия физиологически более близкие к тем, в которых находятся патогенные клетки в живом организме.

Цель

Изучение влияния условий эксперимента на результаты оценки гетерорезистентности бактерий на примере *P. aeruginosa* и антибиотиков разных групп - левофлоксацина (фторхинолон) и дорипенема (карбапенем).

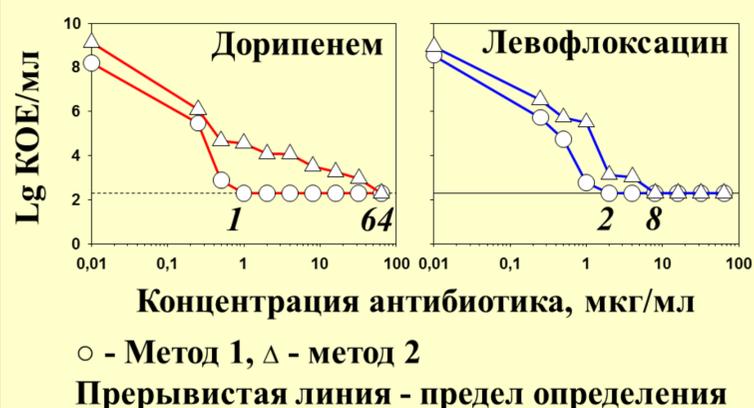
Материалы и методы

- В работе использовали коллекционный штамм *P. aeruginosa* ATCC 27853, не продуцирующий карбапенемазы. Значения МПК левофлоксацина и дорипенема составляли 0,25 и 0,5 мкг/мл, соответственно.
- Метод 1: бактериальную суспензию ($1-5 \times 10^8$ КОЕ/мл) рассеивали на чашки с агаром Мюллера-Хинтон (МХА) с антибиотиком в концентрации от 0,25 до 64 мкг/мл; через 24-48 часов инкубирования при 37°C подсчитывали колониеобразующие единицы (КОЕ) [1, 2].
- Метод 2: бактериальную суспензию ($1-5 \times 10^8$ КОЕ/мл) сутки культивировали при 37°C в пробирках с МХБ и антибиотиком, концентрацию которого варьировали в том же диапазоне, что и при использовании метода 1; после инкубирования из пробирок производили высев проб на чашки с МХА, выдерживали сутки при 37°C и подсчитывали количество КОЕ.
- По результатам популяционного анализа оценивали значения минимальной концентрации антибиотика, предотвращающей рост резистентных клеток – МПКр.

Результаты

- Данные популяционного анализа, полученные при использовании двух методов, показаны на рисунке. Как видно на рисунке, численность и состав гетерорезистентных субпопуляций *P. aeruginosa*, определенные разными методами, различались.
- При использовании метода 2 жизнеспособные клетки псевдомонад обнаруживались при более высоких концентрациях дорипенема (32 мкг/мл), чем при использовании метода 1 (0,5 мкг/мл). Значения МПКр дорипенема составляли 64 и 1 мкг/мл, соответственно (см. рисунок).
- Аналогичные, но менее выраженные различия в выявляемой гетерорезистентности *P. aeruginosa* методами 1 и 2 наблюдались и в случае с левофлоксацином: МПКр = 2 и 8 мкг/мл, соответственно (см. рисунок).

Численность жизнеспособных клеток *P. aeruginosa* в опытах по оценке гетерорезистентности



Выводы

- Результаты исследования гетерорезистентности *P. aeruginosa* к антибиотикам различались в зависимости от условий эксперимента.
- При использовании жидкой питательной среды для культивирования клеток бактерии с антибиотиком титры гетерорезистентных клеток псевдомонад были выше, чем при использовании плотной питательной среды.

Библиография

1. Band VI, Weiss DS. Heteroresistance to beta-lactam antibiotics may often be a stage in the progression to antibiotic resistance. *PLoS Biol.* 2021;20:19:e3001346.
2. Pournaras S et al. Characteristics of meropenem heteroresistance in *Klebsiella pneumoniae* carbapenemase (KPC)-producing clinical isolates of *K. pneumoniae*. *J Clin Microbiol.* 2010;48:2601-4.



Всероссийский конгресс по медицинской микробиологии,
клинической микологии и иммунологии (XXV Кашкинские чтения)
8-10 июня 2022 г., Санкт-Петербург, Россия