УДК [61+615.1] (06)
ББК 5+52.81
А 43
ISBN 978-985-21-1865-1

Н.С. Крым

АНАЛИЗ АНТИБИОТИКОРЕЗИСТЕНТНОСТИ ИЗОЛЯТОВ *LEGIONELLA PNEUMOPHILA*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ И ИЗ ОКРУЖАЮЩЕЙ СРЕДЫ

Научный руководитель: канд. мед. наук, доц. Т.Г. Адамович
Кафедра микробиологии, вирусологии, иммунологии
Белорусский государственный медицинский университет, г. Минск

N.S. Krym

ANALYSIS OF ANTIBIOTIC RESISTANCE OF *LEGIONELLA PNEUMOPHILA* ISOLATED FROM PATIENTS AND FROM THE ENVIRONMENT

Tutor: PhD, assistant T.G. Adamovich
Department of Microbiology, Virology, and Immunology
Belarusian State Medical University, Minsk

Резюме. Целью данного исследования являлся анализ антибиотикорезистентности изолятов *L. pneumophila*, выделенных от пациентов и из окружающей среды. В ходе исследования было выявлено что фторхинолоны и макролиды обладают высокой антимикробной активностью против *L. pneumophila*.

Ключевые слова: антибиотикорезистентность, *Legionella pneumophila*, изоляты, Легионеллёз.

Resume. The purpose of this study was to analyze the antibiotic resistance of *L. pneumophila* isolates isolated from patients and from the environment. The study revealed that fluoroquinolones and macrolides have high antimicrobial activity against *L. pneumophila.*

Keywords: antibiotic resistance, L. pneumophila, isolates, Legionellosis.

Актуальность. Формирование устойчивости к антибиотикам является глобальной угрозой, приводящей к снижению эффективности антибактериальной терапии и ежегодной гибели не менее 700 000 человек. Особую тревогу вызывает распространение устойчивости среди бактерий, населяющих водные системы и формирующих биопленки, которые способны значительно повышать резистентность бактерий к антибиотикам за счет ограничения проникновения препаратов, измененной микросреды и адаптивных реакций. Такие структуры активно формируются в системах распределения питьевой воды, создавая благоприятные условия для выживания и распространения патогенов, включая возбудителя внебольничной пневмонии – *L. pneumophila*.

L. pneumophila вызывает легионеллез – тяжелое инфекционное заболевание, протекающее в форме пневмонии или острого респираторного заболевания. Источником инфекции чаще всего становятся искусственные водные системы (кондиционеры, системы горячего и холодного водоснабжения), где бактерии размножаются в биопленках при оптимальных температурах (20–50°C) [3,4]. Вспышки легионеллеза, как в случае с эпидемией 1976 года в Филадельфии, демонстрируют опасность этих патогенов для общественного здоровья и подчеркивают необходимость контроля их распространения[2].

УДК [61+615.1] (06)
ББК 5+52.81
А 43
ISBN 978-985-21-1865-1

Таким образом, анализ влияния антибиотиков на микроорганизмы в водных системах и биопленках, а также изучение механизмов формирования резистентности у таких патогенов, как *L. pneumophila*, представляют собой актуальную и стратегически важную задачу для профилактики инфекционных заболеваний и обеспечения безопасности населения.

Цель: проанализировать данные мировой литературы о чувствительности к антибиотикам изолятов *L. pneumophila*, выделенных как от пациентов, так и из окружающей среды с целью выявления современных тенденций антибиотикорезистентности**.**

Задачи:

1. Сравнить уровни минимальной ингибирующей концентрации (МИК), полученные различными методами
2. Оценить динамику изменения МИК за период с 1995 по 2025 год.
3. Сравнить величину МИК в различных группах антибиотиков и изучить механизмы устойчивости к данным препаратам.

Материалы и методы. Были проанализированы тридцать две статьи на английском языке, соответствующих критериям включения, то есть «*L. pneumophila*» и «устойчивость к антибиотикам». Семь статей рассматривали клинические изоляты, а восемнадцать статей включали данные антибиотикорезистентности изолятов *L. pneumophila*, связанных с водой, в то время как семь статей содержали данные об обоих типах изолятов. Полученные из этих статей данные были сгруппированы и проведена статистическая обработка из с использованием программы Microsoft Excel.

Результаты и их обсуждение. В настоящее время не существует «золотого стандарта» для тестирования чувствительности легионелл к противомикробным препаратам. Различные методы, особенно если были использованы разные среды, дают неодинаковые МИК (таблица 1). Причем наиболее отличаются данные, полученные на средах с углем, которые рекомендуются для культивирования легионелл. Следует отметить, что на таких средах МИК выше для ципрофлоксацина (в 10 раз), эритромицина (в 2 раза), рифампицина (в 7,5 раз) по сравлению с методом микроразведения в бульоне.

Табл. 1. Величина МИК полученная при использовании различных методов

Антибиотик	BSYE агар	Микроразведение в бульоне
Azithromycin	0,83	0,66
Ciprofloxacin	0,69	0,06
Clarithromycin	0,13	0,11
Doxycycline	14	12,2
Erythromycin	1,26	0,63
Levofloxacin	0,07	0,06
Rifampicin	0,03	0,004

В «Guidance document on Antimicrobial Susceptibility Testing of *L. pneumophila*» рекомендовано использовать методы Е–тест на средах без угля и микроразведений в бульоне для тестирования чувствительности к противомикробным препаратам.

УДК [61+615.1] (06)
ББК 5+52.81
А 43
ISBN 978-985-21-1865-1

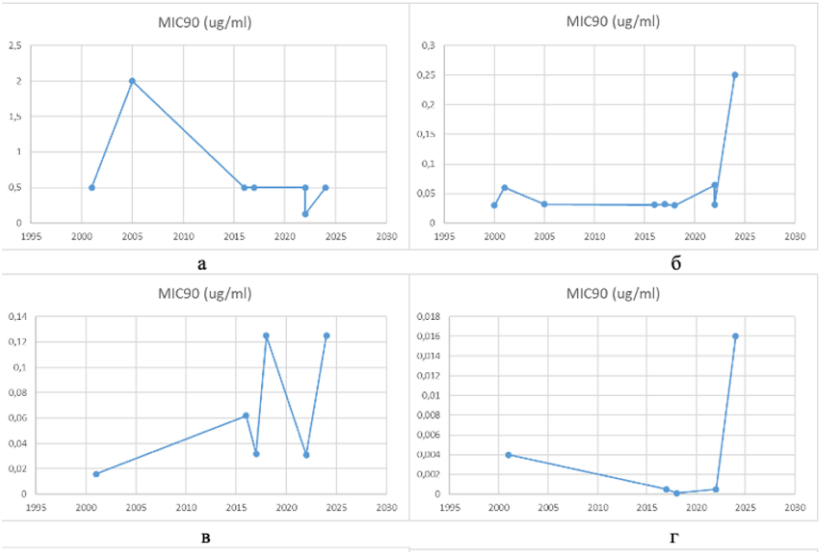
Дальнейший анализ данных проводился из статей, где были использованы эти два метода. На основании проведённого анализа распределения значений МИК различных антибактериальных препаратов в отношении штаммов *L. pneumophila* установлено, что диапазон МИК варьировал в значительных пределах – от 0,004 до 18 мкг/мл (таблица 2).

Табл. 2. Среднее значение минимальной ингибирующей концентрации

Антибиотик:	**Среднее значение МИК мкг\мл**
Рифампицин	0,004
Левофлоксацин	0,070
Ципрофлоксацин	0,066
Моксифлоксацин	0,081
Кларитромицин	0,120
Эритромицин	0,668
Азитромицин	0,714
Миноцтклин	2,25
Тетрациклин	3
Тигициклин	5,8
Пиперацилин	8
Доксициклин	18,000

Наиболее выраженная чувствительность штаммов *L. pneumophila* отмечалась к следующим антибиотикам: рифампицин, левофлоксацин, ципрофлоксацин, моксифлоксацин, кларитромицин, эритромицин и азитромицин. Данные значения МИК для указанных препаратов находились преимущественно в низком диапазоне, что подтверждает их высокую клиническую эффективность в отношении данного возбудителя (таблица 2). В свою очередь, для миноциклина, тетрациклина, тигециклина, пиперациллина и доксициклина значения МИК превышали 2,5 мкг/мл, что отражает их более низкую активность в отношении *L. pneumophila* (таблица 2).

В ходе проведённого исследования был осуществлён анализ динамики средних значений минимальной ингибирующей концентрации антибактериальных препаратов в отношении *L. pneumophila* за период с 1995 по 2024 год (диаграмма 1).



УДК [61+615.1] (06)
ББК 5+52.81
А 43
ISBN 978-985-21-1865-1

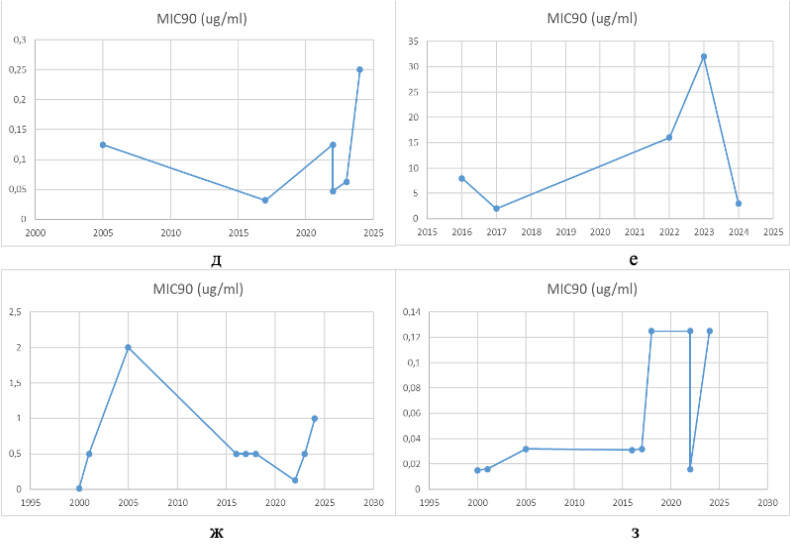


Рис. 1 – а – МИК для азитромицина, б – МИК для ципрофлоксацина, в – МИК для моксифлоксацина, г – МИК для рифампицина, д – МИК для кларитромицина, е – МИК для доксициклина, ж – МИК для эритромицина, з – МИК для левофлоксацина

Наблюдается устойчивая тенденция к увеличению средних значений минимальной ингибирующей концентрации антибиотиков в отношении штаммов *L. pneumophila* на протяжении последних лет, что свидетельствует о формировании и прогрессирующем нарастании антибиотикорезистентности данного возбудителя. Данная динамика подтверждает необходимость мониторинга чувствительности микроорганизмов и разработки новых стратегий борьбы с инфекциями, вызванными легионеллами. Оценивая антимикробную активность β–лактамных антибиотиков в отношении *L. pneumophila*, следует отметить, что средние значения МИК цефотаксима было 0,56 мкг/мл, МИК имипенема – 0,12 мкг/мл. Полученные данные свидетельствуют о более высокой чувствительности исследуемых штаммов к имипенему по сравнению с цефотаксимом. Стоит отметить, что еще в 1982 году у представителей легионелл были описаны различные β–лактамазы, причем их экспрессия является видоспецифичной. В настоящий момент основными механизмами устойчивости *L.pneumophila* к β–лактамным антибиотикам является: нарушение проникновения антибиотика в бактериальную клетку, активный эффлюкс, приводящий к снижению внутриклеточной концентрации препарата, ферментативная инактивация антибиотика, мутации мишеней [5, 2].

В ходе исследования были оценены средние значения МИК для следующих препаратов из группы макролидов: кларитромицин (0,120 мкг/мл), азитромицин (0,668 мкг/мл), эритромицин (0,714 мкг/мл). Наиболее низкая МИК отмечена для кларитромицина, что может указывать на его более высокую эффективность в отношении исследуемых штаммов по сравнению с другими макролидами. Основной механизм устойчивости к макролидам у *L.pneumophila* связан с функционированием эффлюксных насосов, обеспечивающих активное выведение препарата из бактериальной клетки. У штаммов *L.pneumophila* наблюдается сверхэкспрессия генов, кодирующих данные насосы, причем степень экспрессии регулируется концентрацией макролидов. Также отмечена модификация рибосомальных

субъединиц, приводящая к снижению аффинности антимикробных препаратов к целевым участкам рибосом[1, 6, 7]. Нами были проанализированы средние значения МИК различных антибиотиков из группы фторхинолонов. Среднее значение МИК левофлоксацина составило 0,070 мкг/мл, моксифлоксацина – 0,081 мкг/мл. Наименьшее значение средней минимальной ингибирующей концентрации зафиксировано для ципрофлоксацина (0,066 мкг/мл), что свидетельствует о его выраженной антимикробной активности. Основным механизмом резистентности к фторхинолонам являются мутации в генах gyrA, parC и gyrB, кодирующих субъединицы топоизомеразы II. Наличие точечных мутаций в этих генах приводит к изменению структуры фермента и снижению сродства препарата к мишени. Устойчивость усиливается при наличии нескольких субпопуляций бактерий, несущих различные мутации. Согласно литературным данным, резистентность к фторхинолонам также может быть обусловлена хромосомными мутациями гена ДНК–гиразы, что приводит к снижению аффинности препарата к ферменту. Кроме того, возможны изменения в системе активного оттока препарата, что способствует уменьшению его внутриклеточной концентрации [1,5].

Выводы. Результаты оценки антибиотикорезистентности *L. pneumophila* могут существенно варьировать в зависимости от выбранной методики и состава питательной среды, что связано с уникальными биохимическими требованиями легионелл и возможным влиянием компонентов среды на активность антибактериальных препаратов.

Среди антибиотиков наиболее выраженной антимикробной активностью в отношении *L. pneumophila* обладают фторхинолоны и макролиды. Вместе с тем, в последние годы отмечается тенденция к увеличению устойчивости штаммов *L. pneumophila* к антибактериальным препаратам.

Литература

1. Baltch AL, Smith RP, Ritz W. Inhibitory and bactericidal activities of levofloxacin, ofloxacin, erythromycin, and rifampin used singly and in combination against *Legionella pneumophila*. Antimicrob Agents Chemother 1995; 39: 1661–6.

2. Bruin JP, Ijzerman EPF, den Boer JW, et al. Wild–type MIC distribution and epidemiological cut–off values in clinical Legionella pneumophila serogroup 1 isolates. Diagn Microbiol Infect Dis 2012; 72: 103–8.

3. De Giglio O, Napoli C, Lovero G, et al. Antibiotic susceptibility of Legionella pneumophila strains isolated from hospital water systems in Southern Italy. Environ Res 2015; 142: 586–90.

4. Evida Poopedi, Rian Pierneef , Tanusha Singh, Annancietar Gomba Antibiotic resistance profiles and mutations that might affect drug susceptibility in metagenome–assembled genomes of Legionella pneumophila and Aeromonas species from municipal wastewater BMC Microbiol. 2025 Apr 23;25(1):237

5. García MT, Pelaz C, Giménez MJ, et al. In vitro activities of gemifloxacin versus five quinolones and two macrolides against 271 Spanish isolates of Legionella pneumophila: Influence of charcoal on susceptibility test results. Antimicrob Agents Chemother 2000; 44: 2176–8.

6. Jia X, Ren H, Nie X, et al. Antibiotic Resistance and Azithromycin Resistance Mechanism of Legionella pneumophila Serogroup 1 in China. Antimicrob Agents Chemother 2019; 63.

7. Johnson DM, Erwin ME, Barrett MS, et al. Antimicrobial activity of ten macrolide, lincosamine and streptogramin drugs tested against Legionella species. Eur J Clin Microbiol Infect Dis 1992; 11: 751–5.