

УДК 616.94:617(471.34)

Ю. Ю. Нікуліна, К. В. Лаврентьєва, Н. В. Черевач, О. А. Сірокваша, А. І. Вінніков

*Дніпропетровський національний університет ім. Олесь Гончара
Дніпропетровська обласна клінічна лікарня ім. І. І. Мечникова*

БИОЛОГИЧНИ ВЛАСТИВОСТІ БАКТЕРІЙ РОДУ *STAPHYLOCOCCUS*, ВИДІЛЕНИХ ВІД ПАЦІЄНТІВ ДНІПРОПЕТРОВСЬКОЇ КЛІНІЧНОЇ ЛІКАРНІ ІМ. І. І. МЕЧНИКОВА

Досліджено біологічні властивості 494 штамів бактерій роду *Staphylococcus*, виділених із патологічного матеріалу пацієнтів 15 відділень Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова. Досліджена мікрофлора представлена чотирма видами бактерій: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* та *S. saprophyticus*. Найпоширеніший збудник стафілококових інфекцій – золотистий стафілокок. Найчутливішими виділені бактерії виявилися до лінезоліду, гентаміцину та меропенему.

Ю. Ю. Никулина, Е. В. Лаврентьева, Н. В. Черевач, Е. А. Сирокваша, А. И. Винников

*Днепрпетровский национальный университет им. Олесь Гончара
Днепрпетровская областная клиническая больница им. И. И. Мечникова*

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА БАКТЕРИЙ РОДА *STAPHYLOCOCCUS*, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ПАЦИЕНТОВ ДНЕПРОПЕТРОВСКОЙ ОБЛАСТНОЙ КЛИНИЧЕСКОЙ БОЛЬНИЦЫ ИМ. И. И. МЕЧНИКОВА

Исследованы биологические свойства 494 штаммов бактерий рода *Staphylococcus*, выделенных из патологического материала пациентов 15 отделений Днепропетровской областной клинической больницы им. И. И. Мечникова. Исследуемая микрофлора представлена четырьмя видами бактерий: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* и *S. saprophyticus*. Самый распространенный возбудитель стафилококковых инфекций – золотистый стафилококк. Наибольшую чувствительность выделенные бактерии проявили к линезолиду, гентамицину и меропенему.

Y. Y. Nikulina, K. V. Lavrentyeva, N. V. Cherevach, O. A. Sirokvascha, A. I. Vinnikov

*Oles Honchar Dnipropetrovsk National University
I. I. Mechnikov Dnipropetrovsk Region Clinical Hospital*

BIOLOGICAL PROPERTIES OF *STAPHYLOCOCCUS* GENUS STRAINS FROM PATIENTS OF MECHNIKOV DNIPROPETROVSK REGION CLINICAL HOSPITAL

It was investigated the biological properties of 494 strains of *Staphylococcus* genus isolated from pathological material of patients from 15 Departments of Mechnikov Dnipropetrovsk Region Clinical Hospital. All microflora was presented by four bacteria species: *Staphylococcus aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* and *S. saprophyticus*. *S. aureus* was the most extended agent of infections. All bacteria were the most sensitive to linezolid, gentamycin and meropenem.

Вступ

Стафілококова інфекція являє собою одну з найсерйозніших проблем охорони здоров'я, особливо протягом останнього десятиріччя, тому що інфекційні захворювання викликають вже і ті штами стафілококів, які раніше вважалися непатогенними, у першу чергу це стосується епідермального стафілокока [1; 4]. У наш час відомо понад 120 клінічних форм стафілококових інфекцій.

Актуальність проблеми стафілококових інфекцій визначається декількома аспектами. Стафілококи – представники нормальної мікрофлори людини, тому їх безпосереднє виявлення в організмі людини не є доказом того, що саме вони – збудники того чи іншого захворювання. Їх етіологічна роль у виникненні багатьох захворювань суперечлива та потребує додаткових досліджень і удосконалених методів діагностики [7; 10]. Самолікування хворих, недотримання режимів стерилізації та дезінфекції медичного інструментарію та обладнання працівниками лікувальних і діагностичних закладів, висока частота генетичних рекомбінацій у стафілококів викликають появу антибіотикополірезистентних штамів і, як наслідок, спалахів внутрішньолікарняних інфекцій [8; 9]. Останні важко піддаються лікуванню антибіотиками, які займають провідне місце серед засобів хімотерапії, що використовуються для боротьби зі стафілококовими інфекціями [11; 12].

У зв'язку з цим мета роботи – оцінити біологічні властивості 494 штамів бактерій роду *Staphylococcus*, виділених із патологічного матеріалу від пацієнтів 15 відділень Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова, та визначити їх чутливість до антибіотиків різних фармакологічних груп.

Матеріал і методи досліджень

Для виділення та дослідження стафілококів у пацієнтів Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова здійснювали забір клінічного матеріалу з ліквору, сечі, мокротиння, поранень різного походження, носа, горла, очей, піхви з наступним висівом на кров'яний агар [1; 2] та елективні для стафілококів середовища: жовтково-сольовий (ЖСА) та молочно-жовтково-сольовий агар (МЖСА). Надалі, згідно із Наказом МОЗ № 535 від 22.04.1985 р. [5], проводили мікроскопію забарвлених за Грамом мазків із вирослих колоній. Якщо за даними мікроскопії в досліджуваному матеріалі бактерій виявлялося мало, здійснювали посів у збагачувальне тіогліколеве середовище, а звідти знову на елективні. Через добу описували характер росту та морфологію колоній, що виросли. З усіх типів колоній робили мазки, забарвлювали за Грамом і мікроскопіювали, виявляючи типові грамозитивні коки. Видову ідентифікацію штамів проводили за допомогою мінімального диференціального ряду тестів: утворення плазмокоагулази, гіалуронідази, лужної фосфатази, ДНК-ази, лецитинази, ліпази, уреаз, стійкості до новобіоцину та поліміксину В, ферментації вуглеводів в анаеробних умовах [3; 4].

Чутливість до антибіотиків виділених штамів бактерій визначали диско-дифузійним методом. Для дослідження антибіотикочутливості використано антибіотики різних фармакологічних груп: цефалоспорини – цефепім, цефуроксим аксетил, цефотаксим, цефтріаксон; аміноглікозиди – гентаміцин, амікацин, нетилміцин; β-лактами – ампіцилін, імipенем, меропенем, оксацилін; фторхінолони – гатифлоксацин, ципрофлоксацин, моксифлоксацин, левофлоксацин, норфлоксацин; тетрацикліни – доксициклін, тетрациклін; макроліди – еритроміцин; оксазолідинони – лінезолід. Результати обробляли статистично [6].

Результати та їх обговорення

Мікробіологічне дослідження матеріалу від пацієнтів при інфекційних захворюваннях різної етіології проведено на базі бактеріологічної лабораторії Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова. Від пацієнтів 15 відділень лікарні виділено 494 штами бактерій, які за комплексом культуральних та фізіолого-біохімічних ознак віднесено до роду *Staphylococcus*. Усі виділені культури на кров'яному агарі утворювали непрозорі, злегка опуклі колонії середніх розмірів із гладенькою, блискучою поверхнею, чітко окресленим краєм, маслянистої консистенції. Патогенні штами утворювали навколо колоній прозорі зони гемолізу. При мікроскопії мазків клітини мали вигляд коків, зібраних у вигляді виноградного грона, забарвлених за Грамом позитивно.

На ЖСА стафілококи утворювали колонії із зоною помутніння навколо них (лецитиназна активність) і характерним райдужним ореолом по периферії (ліпазна активність), а колонії штамів *S. aureus*, крім того, синтезували жовто-оранжевий пігмент. Видову ідентифікацію штамів проводили за допомогою додаткових біохімічних тестів (табл. 1).

Таблиця 1

Диференціальні ознаки стафілококів, виділених від пацієнтів
Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова

Ознака	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. saprophyticus</i>	<i>S. haemolyticus</i>
Каротиноїдний пігмент	+	–	–	V
Утворення плазмокоагулази	+	–	–	–
Гіалуронідаза	+	–	–	–
Термостабільна ДНК-аза	+	–	–	–
Лужна фосфатаза	+	+	–	–
Уреаза	V	+	+	–
Стійкість до новобіоцину	–	–	+	–
Стійкість до поліміксину В	+	+	–	–
Анаеробна ферментація вуглецьумісних сполук:				
- маніту	+	–	V	V
- трегалози	+	–	+	+
- манози	+	(+)	–	–
- мальтози	+	+	+	+
- сахарози	+	+	+	+
- фуранози	+	V	+	V

Примітки: «–» – негативна реакція, «+» – позитивна реакція, «(+)» – слабо позитивна реакція, «V» – варіабельна реакція.

Штами (243), які синтезували на ЖСА каротиноїдні пігменти, утворювали гіалуронідазу, ДНК-азу, фосфатазу, були стійкими до поліміксину В і нестійкими до новобіоцину, ферментували маніт, трегалозу, манозу, мальтозу, сахарозу та фуранозу в анаеробних умовах віднесено до *S. aureus*. Із них 156 штамів були коагулазопозитивними, а 87 – коагулазонегативними. 95 штамів, що не синтезували каротиноїдних пігментів, плазмокоагулази, гіалуронідази, ДНК-ази, а утворювали фосфатазу та здійснювали анаеробну ферментацію мальтози та сахарози, характеризувались стійкістю до поліміксину В і чутливістю до новобіоцину, віднесено до *S. epidermidis*. Для 85 штамів, які ідентифікували як *S. saprophyticus*, позитивними тестами виявилися синтез уреаз та стійкість до новобіоцину, інші тести були негативними. Крім того, виділені культури були здатні до ферментації трегалози, мальтози, сахарози та фуранози в анаеробних умовах. Для 71 штаму, віднесеного до *S. haemolyticus*, відмічали відсутність синтезу всіх перелічених ферментів. Бактерії цього виду характеризувались чутливістю до но-

вобіоцину та поліміксину В і в анаеробних умовах ферментували лише мальтозу, трегалозу та сахарозу.

Весь спектр збудників стафілококових інфекцій у пацієнтів 15 відділень Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова представлений чотирма видами бактерій: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* та *S. haemolyticus*. Причому найчастіше штами *S. aureus* (табл. 2) виявлялися при флегмонах і абсцесах – у 57,2 %, захворюваннях органів дихання – у 63,6 %, запаленні суглобів – у 72,7 % та кісткової тканини – у 82,6 % пацієнтів. *S. epidermidis* найчастіше виявлявся при захворюваннях сечовидільної системи (у 28,6 % випадків), а *S. haemolyticus* – при запаленні мозкових оболонок – у 43,8 % пацієнтів. Найбільший відсоток виявлення *S. saprophyticus* установлений при захворюваннях органів травлення (28,5 %) і захворюваннях сечовидільної системи (28,6 %).

Таблиця 2

Наявність у біоматеріалі (%) бактерій роду *Staphylococcus* при захворюваннях різних систем органів і тканин

Ураження систем органів і тканин	<i>S. aureus</i>	<i>S. epidermidis</i>	<i>S. haemolyticus</i>	<i>S. saprophyticus</i>
Органи травлення	42,9	14,3	14,3	28,5
Органи дихання	62,6	11,4	25,0	1,0
Сечовидільна система	14,2	28,6	28,6	28,6
Мозкові оболонки	25,0	18,7	43,8	12,5
Суглоби	72,8	15,2	6,0	6,0
Кісткова тканина	82,6	8,7	2,2	6,5
Флегмони та абсцеси	57,2	8,7	14,5	19,6

При дослідженні антибіотикочутливості виділених штамів бактерій встановлено, що 100,0 % штамів *S. aureus*, виділених із клінічного матеріалу, мали стійкість до амікацину та іміпенему (табл. 3, 4).

Таблиця 3

Визначення чутливості (%) до антибактеріальних препаратів штамів *Staphylococcus aureus* і *S. epidermidis*

Фармакологічна група антибіотиків		<i>S. aureus</i>			<i>S. epidermidis</i>		
		стійкі	помірно чутливі	чутливі	стійкі	помірно чутливі	чутливі
Цефалоспорины	цефепім	33,3	0,0	66,7	100,0	0,0	0,0
	цефуроксим	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0	0,0
	аксетил						
	цефотаксим	50,0	0,0	50,0	0,0	100,0	0,0
цефтріаксон	50,0	0,0	50,0	0,0	100,0	0,0	
Аміноглікозиди	гентаміцин	3,2	2,5	94,3	6,3	12,5	81,2
	амікацин	100,0	0,0	0,0	0,0	0,0	100,0
	нетілміцин	0,0	0,0	100,0	33,3	0,0	66,7
β-лактами	ампіцилін	73,4	0,0	26,6	100,0	0,0	0,0
	іміпенем	100,0	0,0	0,0	17,0	0,0	83,0
	меропенем	50,0	0,0	50,0	0,0	0,0	100,0
	оксацилін	18,6	0,7	80,7	73,5	4,0	22,5
Фторхінолони	гатифлоксацин	7,2	23,1	69,7	14,0	16,0	70,0
	ципрофлоксацин	4,0	3,3	92,7	27,8	11,0	61,2
	моксифлоксацин	2,9	21,3	75,8	1,8	47,9	50,3
	левофлоксацин	0,5	0,5	99,0	9,0	12,6	78,4
	норфлоксацин	0,0	0,0	100,0	25,0	0,0	75,0
Тетрацикліни	доксидиклін	2,7	26,3	71,0	6,1	14,1	79,8
	тетрациклін	33,5	7,5	59,0	57,6	14,8	27,6
Макроліди	еритроміцин	27,5	23,5	49,0	45,4	24,6	30,0
Оксазолідинони	лінезолід	7,3	0,2	92,5	3,0	0,0	97,0

Найактивнішими антибіотичними препаратами відносно *S. aureus* виявилися аміноглікозиди – гентаміцин (94,3 % штамів), нетилміцин (100,0 %), антибактеріальні препарати фторхінолонової групи – ципрофлоксацин (92,7 %), левофлоксацин (99,0 %), норфлоксацин (100,0 %) та лінезолід (92,5 %).

Що стосується *S. epidermidis*, то 100,0 % штамів цього виду виявилися стійкими до цефепіму та ампіциліну. Проте 100,0 % штамів *S. epidermidis* проявили чутливість до амікацину та меропенему. Також високочутливими *S. epidermidis* були до гентаміцину (81,2 % штамів), іміпенему (83,0 %) та лінезоліду (97,0 %).

Штами *S. haemolyticus* проявили стійкість до еритроміцину, ципрофлоксацину та ампіциліну (див. табл. 4). Резистентними до цих препаратів були 63,3, 69,1 і 73,1 % штамів відповідно. Поряд із цим 100,0 % штамів чутливі до цефотаксиму, цефтріаксону, нетилміцину та меропенему. Відносно високу чутливість *S. haemolyticus* проявили до лінезоліду (95,2 %), іміпенему (90,0 %), гентаміцину (88,1 %) та оксациліну (80,7 %).

Що стосується *S. saprophyticus*, то 100,0 % штамів проявили стійкість до цефалоспоринів (цефепіму, цефуроскиму аксетилу, цефотаксиму, цефтріаксону), аміноглікозидів (амікацину, нетилміцину, ампіциліну) та фторхінолонів (моксифлоксацину та норфлоксацину). Проте 100,0 % штамів *S. saprophyticus* чутливі до гентаміцину та меропенему.

Таблиця 4

Визначення чутливості (%) до антибактеріальних препаратів штамів *Staphylococcus haemolyticus* та *S. saprophyticus*

Фармакологічна група антибіотиків		<i>S. haemolyticus</i>			<i>S. saprophyticus</i>		
		стійкі	помірно чутливі	чутливі	стійкі	помірно чутливі	чутливі
Цефалоспорини	цефепім	33,4	33,3	33,3	100,0	0,0	0,0
	цефуроским	50,0	50,0	0,0	100,0	0,0	0,0
	аксетил	50,0	50,0	0,0	100,0	100,0	100,0
	цефотаксим	0,0	0,0	100,0	100,0	0,0	0,0
	цефтріаксон	0,0	0,0	100,0	100,0	0,0	0,0
Аміноглікозиди	гентаміцин	11,9	0,0	88,1	0,0	0,0	100,0
	амікацин	33,3	0,0	66,7	100,0	0,0	0,0
	нетилміцин	0,0	0,0	100,0	100,0	0,0	0,0
β-лактами	ампіцилін	73,1	0,0	26,9	100,0	0,0	0,0
	іміпенем	10,0	0,0	90,0	50,0	50,0	0,0
	меропенем	0,0	0,0	100,0	0,0	0,0	100,0
	оксацилін	18,6	0,7	80,7	90,0	10,0	0,0
Фторхінолони	гатіфлоксацин	1,9	26,0	72,1	0,0	0,0	100,0
	ципрофлоксацин	69,1	4,8	26,1	50,0	0,0	50,0
	моксифлоксацин	16,1	7,8	76,1	100,0	0,0	0,0
	левофлоксацин	9,0	26,4	64,6	0,0	16,7	83,3
	норфлоксацин	55,6	0,0	44,4	100,0	0,0	0,0
Тетрацикліни	доксциклін	14,4	17,4	68,2	25,0	0,0	75,0
	тетрациклін	29,0	40,0	31,0	25,0	0,0	75,0
Макроліди	еритроміцин	63,3	20,0	16,7	25,0	50,0	25,0
Оксазолідинони	лінезолід	3,8	1,0	95,2	83,4	0,0	16,6

Універсальними препаратами для лікування стафілококових інфекцій виявилися аміноглікозид гентаміцин, β-лактам меропенем і оксазолідинон лінезолід.

Висновки

Виділено 494 штами бактерій роду *Staphylococcus* від пацієнтів 15 відділень Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова. Досліджена мікрофлора представлена чотирма видами стафілококів: *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* та *S. saprophyticus*. Найпоширенішим збудником стафілококових інфекцій, а са-

ме абсцесів, флегмон, захворювань органів дихання, запалення суглобів і кісткової тканини виявився *S. aureus*. *S. haemolyticus* найчастіше виділявся при запаленнях мозкових оболонок. Інші види стафілококів практично з однаковою частотою виявлялися при захворюваннях сечовидільної системи. Серед протестованих антибактеріальних препаратів найефективнішими відносно всіх видів стафілококів були аміноглікозид гентаміцин, β-лактам меропенем і оксазолідинон лінезолід.

Бібліографічні посилання

1. **Воробьев А. А.** Медицинская и санитарная микробиология. – М. : Академия, 2003. – 464 с.
2. **Практична мікробіологія** / С. Є. Климнюк, І. О. Ситник, М. С. Творко та ін. – Т. : Укрмедкнига, 2002. – 352 с.
3. **Поздеев О. К.** Медицинская микробиология / О. К. Поздеев, В. И. Покровский. – М. : Геотар-мед, 2001. – 656 с.
4. **Покровский В. И.** Стафилококки. – М. : Медицина, 2005. – 340 с.
5. **Приказ Минздрава СССР** от 22.04.1985 г. № 535 об унификации микробиологических (бактериологических) методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений. – 12 с.
6. **Решедько Г. К.** Особенности определения чувствительности микроорганизмов диско-диффузионным методом // Клиническая микробиология и антимикробная химиотерапия. – 2001. – Т. 3, № 4. – С. 28–32.
7. **Bengualid V.** Not all coagulase negative *Staphylococcus* are created equal / V. Bengualid, J. Krishnaprakash, R. Tan // New York Medical Journal. – 2009. – Vol. 4, N 2. – P. 17–21.
8. **Bonten M.** Microcin for preventing *Staphylococcus aureus* infections / M. Bonten, R. Wenzel, J. Kluymons // Journal of Perioperative Practice. – 2009. – Vol. 102, N 11. – P. 120–124.
9. **Combes A.** Impact of methicillin resistance on outcome of *Staphylococcus aureus* ventilator-associated pneumonia / A. Combes, C. Luyt, M. Wolf // Respiratory and Critical Care Medicine. – 2004. – Vol. 170, N 10. – P. 786–792.
10. **Derycke L.** *Staphylococcus aureus* and chronic airway disease / L. Derycke, N. Pere // World Allergy Organization Journal. – 2010. – Vol. 3, N 8. – P. 223–228.
11. **Guzman-Blanco M.** Epidemiology of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA) in Latin America / M. Guzman-Blanco, C. Mejia, R. Isturiz // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2009. – Vol. 5, N 6. – P. 304–308.
12. **Zimmerman U. P.** Occurrence and significance of *S. aureus* resistant to gentamicin // Antinfection. Drugs and Chemoter. – 2008. – Vol. 16, N 2. – P. 147–149.

Надійшла до редколегії 12.04.2011