

© <sup>1</sup>Дрегваль О. А., <sup>1</sup>Мінайлова М. В., <sup>2</sup>Агієвець І. Б., <sup>1</sup>Черевач Н. В., <sup>1</sup>Воронкова О. С., <sup>1</sup>Вінніков А. І.

УДК 579.61:616-078

<sup>1</sup>Дрегваль О. А., <sup>1</sup>Мінайлова М. В., <sup>2</sup>Агієвець І. Б.,

<sup>1</sup>Черевач Н. В., <sup>1</sup>Воронкова О. С., <sup>1</sup>Вінніков А. І.

## РОЛЬ СТАФІЛОКОКІВ У ЕТІОЛОГІЇ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ХІРУРГІЧНИХ ХВОРИХ

<sup>1</sup>Дніпропетровський національний університет ім. Олеса Гончара (м. Дніпропетровськ)

<sup>2</sup>Дніпропетровська обласна клінічна лікарня ім. І. І. Мечникова (м. Дніпропетровськ)

odregval@mail.ru

Роботу було виконано у межах держбюджетної теми №1-294-15, що виконується на кафедрі мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпропетровського національного університету ім. Олеса Гончара, № державної реєстрації 0115U002385.

**Вступ.** Стафілококи – найбільш поширені збудники гнійно-запальних процесів у пацієнтів хірургічних стаціонарів. Вони можуть стати причиною виникнення як септичних станів, так і осередкових гнійних уражень внутрішніх органів, шкіри, підшкірної клітковини, тощо [4]. Стафілококи спричиняють спалахи внутрішньолікарняних інфекцій, саме вони викликають у лікарняних закладах до 50% випадків сепсису. В умовах стаціонару джерелом інфекції виступають як хворі, так і медичний персонал, який з часом стає носієм патогенної мікрофлори через безпосередній контакт з інфікованими хворими [3]. Стафілококи стійкі до дії факторів зовнішнього середовища і швидко набувають резистентності до антибактеріальних препаратів, що потребує постійного пошуку нових засобів лікування [6, 11]. Особливої уваги у цьому сенсі набувають ті штами, що здатні до утворення біоплівки, у складі якої мікроорганізми стають більш резистентними до умов довкілля. Тому проблема запобігання та боротьби зі стафілоковою інфекцією не тільки залишається актуальною, але й продовжує загострюватись у зв'язку з поширеною циркуляцією стафілококів у хірургічних відділеннях.

**Метою роботи** було вивчення поширення стафілокової інфекції при гнійно-запальних процесах у хірургічних хворих та здійснення порівняльного аналізу чутливості до антибіотиків виділених ізолятів стафілококів та колекційних штамів *S. epidermidis*.

Завданнями роботи було дослідити видовий спектр виділених мікроорганізмів та встановити чут-

ливість до антибіотиків штамів стафілококів, здатних та нездатних до утворення біоплівки.

**Об'єкт і методи дослідження.** Об'єктом дослідження була частота виявлення стафілококів у клінічному матеріалі, одержаному від пацієнтів хірургічного відділення Дніпропетровської обласної клінічної лікарні ім. І. І. Мечникова у лютому-квітні 2015 року. У ході виконання роботи було досліджено 392 зразки біологічного матеріалу. Найбільше зразків представлено виділеннями із ран (362). Аналізували також зразки гною (14), дренажів (11), пунктатів (5). Гній досліджували бактеріоскопічним і бактеріологічним методом, решту матеріалу – бактеріологічним. Виділення та ідентифікацію бактерій проводили відповідно до ознак та з використанням методик, наведених у визначнику Берджі [7]. Чутливість виділених ізолятів стафілококів до антибіотиків визначали диско-дифузійним методом згідно з наказом МОЗ України № 167 від 05.04.2007 Р. [5]. Для порівняння чутливості до антибіотиків плівкоутворюючих та не здатних до утворення біоплівки культур використовували 18 виділених зі шкіри штамів *S. epidermidis* із колекції мікроорганізмів кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпропетровського національного університету. Досліджували чутливість до ванкоміцину, доксицикліну, тетрацикліну, пеніциліну, лінкоміцину, кліндаміцину, левофлоксацину, ципрофлоксацину, норфлоксацину, гентаміцину, еритроміцину.

Виявлення біоплівки здійснювали за методикою Крістенсена [8], для чого у кожному лунку стерильного 96-лункового плоскодонного планшета вносили 100 мкл м'ясо-пептонного бульйону та 50 мкл суспензії добової культури стафілококів, що містила  $1,5 \times 10^5$  колонієутворюючих одиниць / мл (КУО / мл), що при візуальному спостереженні відповідає стандарту мутності 0,5 за Мак-Фарландом. Плівкоутво-

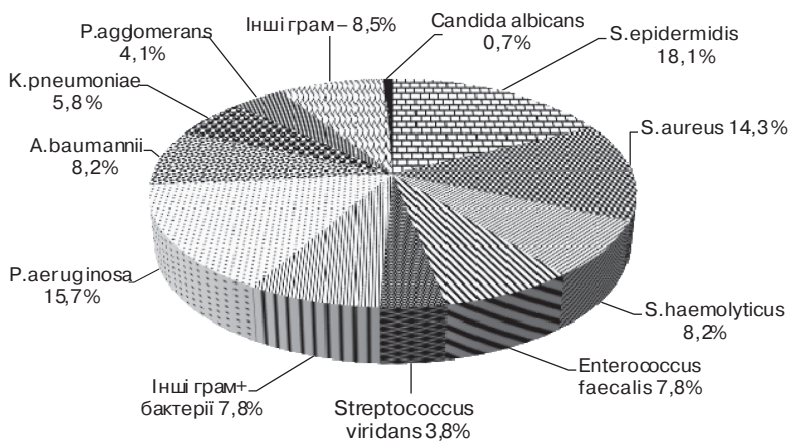


Рис. 1. Видовий спектр бактерій, виділених від пацієнтів хірургічного відділення (n=294)

рюючими вважали штами, при культивуванні яких через 48-72 год розвивалася біоплівка, яка зберігалася на стінках та дні лунок при видаленні поживного середовища.

**Результати досліджень та їх обговорення.** Із 392 зразків дослідженого клінічного матеріалу мікроорганізми було виявлено у 294 зразках (75%). Як видно з даних, представлених на рис. 1, грам-позитивні бактерії було виділено з 167 зразків (57%).

Переважали представники роду *Staphylococcus* – 121 зразок (41,3%), *Enterococcus faecalis* – 23 зразки (7,8%), *Streptococcus viridans* 11 – зразків (3,8%). Серед стафілококів найчастіше виділялись *Staphylococcus epidermidis* – 53 зразки, частка якого серед усіх виділених штамів становила 18,1%, *S. aureus* – 42 зразки (14,3%), *S. Haemolyticus* – 24 зразки (8,2%), *Staphylococcus spp.* – 2 (0,7%). Грамнегативні бактерії було виявлено у 124 зразках (42,1%). Найчастіше виділявся *Pseudomonas aeruginosa* – 46 зразків (15,7%), досить часто *Acinetobacter baumannii* – 24 зразки (8,2%), *Klebsiella pneumoniae* – 17 зразків (5,8%) та *Pantoea agglomerans* – 12 зразків (4,1%).

Таким чином, із досліджених ізолятів стафілококів 34,7% склали коагулазо-позитивні, проте більшість виділених штамів були представлені коагулазонегативними – 65,3%, найчастіше виділявся *S. epidermidis*.

Аналіз чутливості до антибіотиків виділених ізолятів стафілококів показав, що найефективнішими проти усіх видів досліджених штамів стафілококів був ванкоміцин і доксициклін (95-100% і 79-95% чутливих ізолятів). Штами *S. aureus* і *S. haemolyticus*

проявили високу чутливість до кліндаміцину та гентаміцину (80-100% і 70-90% чутливих ізолятів), *S. epidermidis* – до лінкоміцину (75% чутливих ізолятів). До пеніциліну і тетрацикліну ізоляти стафілококів були найменш чутливими (рис. 2). Неоднозначним було відношення досліджених культур до фторхінолонів: найбільш чутливим до левофлоксацину виявився *S. aureus* (88,1% чутливих ізолятів), коагулазонегативні стафілококи були менш чутливими (55,3-68,2%); *S. aureus* і *S. haemolyticus* були чутливими до цiproфлоксацину (80 і 75%, відповідно). Кількість чутливих ізолятів *S. epidermidis* була незначною (25%).

Таким чином, незважаючи на агресивність *S. aureus*, провідним збудником гнійно-запальних інфекцій у пацієнтів хірургічного стаціонару виявився коагулазонегативний *S. epidermidis*. Кількість чутливих штамів *S. epidermidis* була меншою, а стійких більшою, ніж серед штамів *S. aureus*. Навіть до ванкоміцину, що є препаратом резерву при лікуванні важких форм гнійно-запальних захворювань стафілококової етіології [1], ізоляти *S. epidermidis* показали високу, але не абсолютну чутливість (95%). Доксициклін і лінкоміцин пригнічували ріст значної кількості ізолятів (79,3% та 75%). Ці показники значно нижчі за отримані для *S. aureus* (95 та 80%, відповідно). Тільки 60% штамів *S. epidermidis* були чутливими до гентаміцину, тоді як серед *S. aureus* – 90,9%.

Порівнюючи отримані результати з даними літератури [2], можна стверджувати, що за остан-

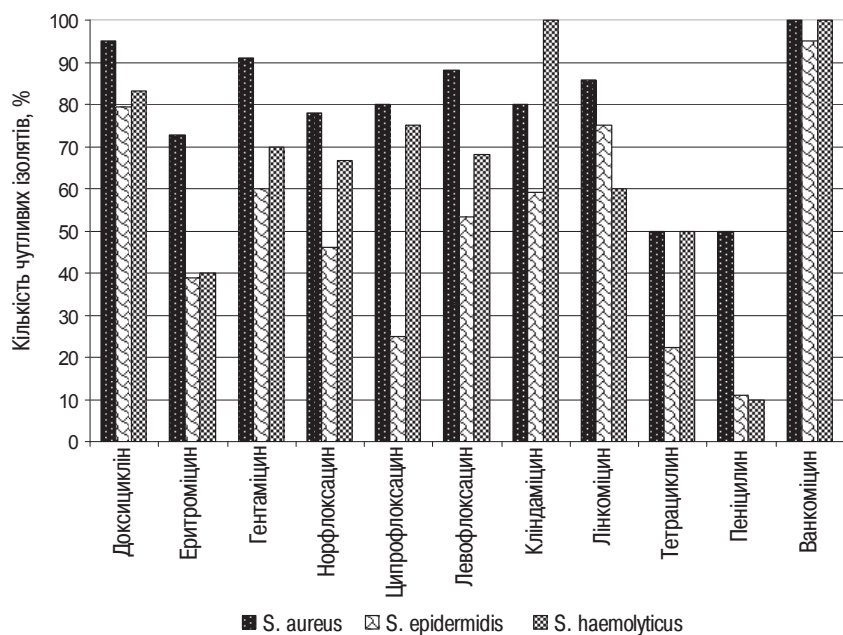


Рис. 2. Чутливість виділених штамів стафілококів до антибіотиків

ні 5 років кількість клінічних штамів *S. aureus* і *S. epidermidis*, стійких до тетрацикліну, норфлоксацину, левофлоксацину та гентаміцину збільшилась, особливо це стосується епідермального стафілокока.

Згідно з даними літератури, останнім часом відмічається зростання ролі коагулазонегативних стафілококів у інфекційній патології хірургічних хворих [10,13]. На користь цього свідчать результати проведеного нами моніторингу частоти виявлення збудників гнійно-запальних ускладнень, який показав, що на долю *S. epidermidis* припадає найбільша кількість виділених ізолятів (18,1%), серед яких виявлено значну частину штамів, резистентних практично до всіх перевірених антибіотиків, за виключенням ванкоміцину.

Отримані нами результати про значно більш високий рівень стійкості до антибіотиків штамів *S. epidermidis* можуть бути обумовлені тим, що ці штами більш схильні до утворення біоплівки, ніж інші види стафілококів, як відомо з ряду наукових джерел [8,9]. Вказану закономірність було підтверджено у наших дослідках з колекційними штами *S. epidermidis* кафедри мікробіології, вірусології та біотехнології Дніпропетровського національного університету ім. Олеся Гончара. Серед виділених зі шкіри 18 штамів здатними до утворення біоплівки виявилися 11 (61,1%). З них до фторхінолонів проявляли стійкість 6 (54,5%), до доксицикліну – 8 (72,7%), гентаміцину – 7 (63,6%) та тетрацикліну – 10 (90,9%). Отже, для всіх плівкоутворюючих штамів показано, що частота виявлення стійких до антибіотиків перевищувала 50%, що свідчить на користь уявлення про пов'язаність стійкості до антибіотиків зі здатністю до утворення біоплівки [12].

### Висновки

1. Аналіз видового спектра збудників гнійно-запальних процесів у хірургічних хворих показав, що домінуюча роль належить стафілококам (41,3% випадків). Серед стафілококів переважали види *S. epidermidis* та *S. aureus* (18,1 і 14,3%, відповідно). Серед грамнегативних бактерій найчастіше виділялись *P. aeruginosa* – 15,7% і *Acinetobacter baumannii* – 8,2% ізолятів.

2. Встановлено, що найефективнішими проти усіх видів протестованих стафілококів є ванкоміцин (95-100% чутливих ізолятів) і доксициклін (79-95%). Штами *S. aureus* і *S. haemolyticus* проявили високу чутливість до кліндаміцину і гентаміцину (80-100% і 70-90% чутливих ізолятів, відповідно), *S. epidermidis* – до лінкоміцину (75% чутливих штамів).

3. Найбільше резистентних штамів (понад 50%) було виявлено серед представників виду *S. epidermidis*, порівняно зі *S. aureus* і *S. haemolyticus*.

4. Частота виявлення стійких до антибіотиків плівкоутворюючих колекційних штамів *S. epidermidis* перевищувала 50%, що свідчить про певний зв'язок між стійкістю до антибіотиків та здатністю до утворення біоплівки.

**Перспективи подальших досліджень.** Отримані результати свідчать про збільшення кількості стійких до ряду антибіотиків клінічних штамів *S. aureus* і *S. epidermidis*. Це вказує на необхідність проведення постійного моніторингу антибіотикорезистентності збудників гнійно-запальних процесів у хірургічних хворих для вибору оптимальних схем антибіотикотерапії з урахуванням біологічних властивостей окремих штамів-збудників інфекцій. Необхідно також з'ясувати наявність кореляції між здатністю до плівкоутворення та розвитком антибіотикорезистентності у клінічних ізолятів стафілококів.

### Література

1. Антибіотикостійкість та адгезивні властивості збудників катетер-асоційованих інфекцій сечовивідних шляхів / Е. О. Синетар, О. І. Брич, М. М. Лоскутова [та ін.] // Мікробіологічний журнал. – 2014. – Т. 76, № 3. – С. 36 – 41.
2. Біологічні властивості бактерій роду *Staphylococcus*, виділених від пацієнтів Дніпропетровської клінічної лікарні ім. І.І.Мечнікова / Ю. Ю. Нікуліна, К. В. Лаврентьева, Н. В. Черевач [и др.] // Вісник Дніпропетровського університету. Біологія. Медицина. – 2011. – Вип. 2, Т. 1. – С. 101 – 106.
3. Дикун В. К. Стафілококові інфекції: діагностика, профілактика і лікування / В. К. Дикун. – К.: Медицина, 2007. – 140 с.
4. Кулініч В. А. Клініка стафілококових інфекцій / В. А. Кулініч – К.: Здоров'я, 2008. – 247с.
5. Наказ МОЗ України № 167 від 05.04.2007 «Про затвердження методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів» – К.: МОЗ України, 2007. – 63 с.
6. Antibiotic treatment of purulent surgical diseases of the abdominal organs and soft tissues / V. P. Sazhin, N. G. Bodrov, D. E. Klimov [et al.] // Surgery. – 2008. – № 6. – P. 4 – 9.
7. Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, 9th Edition / [Ed. by J. G. Holt, N. R. Kreig, P. H. Sneath et al.] – Baltimore: Williams and Wilkins, 1994. – 787 p.
8. H. Ibya N. Antibiotic resistance of bacterial biofilms / N. H. Ibya // Int. J. of Antimicrob. Agents. – 2010. – №35. – P. 322-332.
9. Methods for studying biofilms produced by *Staphylococcus epidermidis* / M. A. Deighton, J. Capstick, E. Domalewski [et. al.] // Methods Enzymol. – 2001. – Vol. 336. – P. 177-195.
10. Pathogenic factors and antimicrobial resistance of *Staphylococcus epidermidis* associated with nosocomial infections occurring in intensive care units / L. Michelim, M. Lahude, P. R. Araujo [et al.] // Braz. J. Microbiol. – 2005. – Vol. 36, №1. – P. 23 – 29.
11. Rozh M. S. Local multilevel monitoring of resistance of causative agents of surgical infection / M. S. Rozh // Messenger of surgery-2006.-№ 3.- P. 89-93.
12. Soto S. M. Role of efflux pumps in the antibiotic resistance of bacteria embedded in a biofilm / S. M. Soto // Virulence-2013. – Vol. 4, № 3.-P. 223-229.
13. Species distribution of coagulase negative staphylococci isolated from different clinical specimens / A. Rahman, M. A. Hosaain, C. Mahmud [et al.] // Mymensingh Med. J. – 2012. – Vol. 21, №2. – P. 195 – 199.

УДК 579.61:616-078

**РОЛЬ СТАФІЛОКОКІВ У ЕТІОЛОГІЇ ГНІЙНО-ЗАПАЛЬНИХ ПРОЦЕСІВ У ХІРУРГІЧНИХ ХВОРИХ**

**Дрегваль О. А., Мінайлова М. В., Агієвець І. Б., Черевач Н. В., Воронкова О. С., Вінніков А. І.**

**Резюме.** Показано домінуючу роль стафілококів (41,3%) в етіології гнійно-запальних процесів у хірургічних хворих. Переважали *S. epidermidis* (18,1%) і *S. aureus* (14,3%). Усі стафілококи були високочутливими до ванкомицину і доксицикліну, *S. aureus* і *S. haemolyticus* – до кліндаміцину і гентаміцину, *S. epidermidis* – до лінкومیцину. Серед плівкоутворюючих штамів *S. epidermidis* переважали стійкі до антибіотиків.

**Ключові слова:** збудники гнійно-запальних інфекцій, стафілококи, чутливість до антибіотиків, біоплівка.

УДК 579.61:616-078

**РОЛЬ СТАФИЛОКОККОВ В ЭТИОЛОГИИ ГНОЙНО-ВОСПАЛИТЕЛЬНЫХ ПРОЦЕССОВ У ХИРУРГИЧЕСКИХ БОЛЬНЫХ**

**Дрегваль О. А., Минайлова М. В., Агиевец И. Б., Черевач Н. В., Воронкова О. С., Винников А. И.**

**Резюме.** Показана доминирующая роль стафилококков (41,3%) в этиологии гнойно-воспалительных процессов у хирургических больных. Преобладали *S. epidermidis* (18,1%) и *S. aureus* (14,3%). Все стафилококки были высокочувствительны к ванкомицину и доксициклину, *S. aureus* и *S. haemolyticus* – к клиндамицину, *S. epidermidis* – к линкомицину. Среди пленкообразующих штаммов *S. epidermidis* преобладали устойчивые к антибиотикам.

**Ключевые слова:** возбудители гнойно-воспалительных инфекций, стафилококки, чувствительность к антибиотикам, биопленка.

UDC 616.94:617(471.34)

**THE ROLE OF STAPHYLOCOCCUS IN THE ETIOLOGY OF PURULENT-INFLAMMATORY PROCESSES IN SURGICAL PATIENTS**

**Drehval O. A., Minailova M. V., Ahievets I. B., Cherevach N. V., Voronkova O. S., Vinnikov A. I.**

**Abstract.** Staphylococci are the most common pathogens of purulent-inflammatory processes in patients of surgical hospitals. They can cause as septic conditions and focal festering lesions of internal organs, skin, subcutaneous tissue, and the like. Staphylococci resistant to environmental factors and rapidly acquire resistance to antibiotics, which requires a constant search for new therapies. Therefore, the problem of treatment of staphylococcal infections not only remain relevant, but has been exacerbated with the widespread circulation of *S. aureus* in surgical wards. The aim of research was to monitor the spread of staphylococcus infection with purulent-inflammatory processes in surgical patients and analysis of sensitivity to antibiotics of isolates. Results. Species composition of agents of purulent-inflammatory infections, specimens isolated from clinical material of patients of the surgical Department of the Dnipropetrovsk regional hospital I. I. Mechnikov. Out of the 392 samples investigated clinical material 98 not given growth. Gram-positive bacteria were detected in 167 samples (57%), predominantly staphylococci – 121 sample (41.3%), *Enterococcus faecalis* – 23 samples (7.8%), *Streptococcus viridans* 11 samples (3.8%). Among staphylococci, the most frequently *S. epidermidis* was allocated to 53 samples (18.1%), *S. aureus* – samples of 42 (14.3%), *S. haemolyticus* – 24 samples (8.2%). Gram-negative bacteria were found in 124 samples (42.1%). Most often *Pseudomonas aeruginosa* were allocated to 46 samples (15.7%), *Acinetobacter baumannii* often enough – 24 samples (8.2%), *Klebsiella pneumonia* – 17 samples (5.8%) and *Pantoea agglomerans*- 12 samples (4.1%). From the investigated isolates of staphylococci to 34.7% were coagulase-positive staphylococci, however, the majority of the isolated strains were coagulase-negative presented was 65.3%, most *S. epidermidis* stood out. Analysis of sensitivity to antibiotics of isolates of staphylococci has shown that the most effective against all species of staphylococci are tested vancomycin and doxycycline (95-100% and 79-95% sensitive isolates, respectively). Strains of *S. haemolyticus* and *S. aureus* showed high sensitivity to clindamycin and gentamicin (80-100% 70-90% sensitive isolates), *S. epidermidis* – to lincomycin (75% sensitive strains). To penicillin and tetracycline staphylococcus isolates were the least sensitive. Ambiguous was the attitude of the cultures studied to fluoroquinolones: most sensitive to levofloxacin were *S. aureus* (88.1% sensitive isolates), coagulase-negative staphylococci were less sensitive (55.3-68.2% sensitive isolates); *S. aureus* and *S. haemolyticus* were susceptible to ciprofloxacin (80% and 75%, respectively), whereas the proportion of sensitive isolates of *S. epidermidis* was low (25%). To determine the sensitivity of isolates of *Staphylococcus epidermidis* to antibiotics showed that the number of sensitive strains was smaller and more resistant than *S. aureus*, and even vancomycin, the strains showed a high, but not absolute sensitivity (95%). Doxycycline and lincomycin inhibited the growth of a significant number of isolates (79.3% and 75% sensitive isolates, respectively). These figures are much lower than those obtained for *S. aureus* (95 and 80%, respectively). Only 60% of strains of *S. epidermidis* were sensitive to gentamycin, whereas for *S. aureus* – 90.9% of the strains. Among filmforming strains of *S. epidermidis* there were more than 50% of antibiotic-resistant forms, that suggest the role of being in biofilm in increasing of survival in environment.

**Keywords:** causative agents of purulent-inflammatory infections, staphylococci, antibiotic sensitivity, biofilm.

*Рецензент – проф. Лихолат Ю. В.*

*Стаття надійшла 07.10.2015 р.*