

ВИВЧЕННЯ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ІЗОЛЯТІВ СТАФІЛОКОКІВ

В. В. Гаркава, ст. викладач*

Г. І. Гарагуля, к.вет.н., доцент**

М. А. Скабцов, студент 1 курсу магістратури**

*Сумський національний аграрний університет

**Харківська державна зооветеринарна академія

Staphylococcus aureus є збудником значної частини бактеріємій, пневмоній, інфекцій шкіри і м'яких тканин, кісток та суглобів. Цей мікроорганізм виділяється від хворих людей і тварин та може забруднювати повітря приміщень. Завданням дослідження було ізоляція *S. aureus* із повітря нежитлових приміщень і вивчення його антибіотикочутливості. Із досліджених проб повітря 45,8 % містили стафілококи різних видів. Шість ізолятів ідентифікували як *S. aureus*. Виявлено різний ступінь чутливості *S. aureus* до антибіотиків: два ізоляти чутливі до всіх антибіотиків, чотири - резистентні до частини препаратів.

Ключові слова: повітря приміщень, *S. aureus*, антибіотикочутливість.

Постановка проблеми у загальному вигляді.

Актуальність інфекцій, що викликають стафілококи, зростає у всьому світі. *Staphylococcus aureus* є збудником значної частини бактеріємій, пневмоній, інфекцій шкіри і м'яких тканин, кісток та суглобів [2, 4].

Золотистий стафілокок був першим мікроорганізмом, у якого більше 50 років тому була виявлена стійкість до метициліну (а також оксациліну), що відкрило нову сторінку у антибіотикотерапії – антибіотикорезистентність. Такі штами *Staphylococcus aureus* називають метицилінрезистентними (MRSA). В Європі за рік реєструють близько 170 тисяч випадків інфекцій, викликаних MRSA, з яких 5 тисяч закінчуються загибеллю пацієнта. Наразі основні проблемні мікроорганізми об'єднані в групу ESKAPE: *Enterococcus faecium*, *Staphylococcus aureus*, *Klebsiella pneumoniae*, *Acinetobacter baumannii*, *Pseudomonas aeruginosa*, та *Enterobacter* [7].

Найчастіше роботи присвячені вивченню стафілококів, ізольованих від хворих. Так, від дорослих пацієнтів хірургічного відділення було виділено 191 ізолят стафілококів, з яких 88 – ідентифіковано як *Staphylococcus aureus*, 33 % з них виявилися резистентними до пеніцилінів [1]. В дитячій лікарні від дітей до 28-добового віку виділено 271 ізолят стафілококів різних видів, резистентних до пеніцилінів, карбапенемів, цефалоспоринових та азитроміцину [3].

Значно менше робіт присвячено вивченню кількості та властивостей стафілококів, які знаходяться в повітрі приміщень. Дослідження 68 кімнат у Копенгагені довело, що *S. aureus* був присутній лише в двох приміщеннях [6]. За результатами іншого дослідження в повітрі приміщень *S. aureus* реєстрували значно частіше – в 49-61 % випадків, а кількість виділених ізолятів коливалась від 4 до 140, причому 66 % метицилінрезистентних, що пов'язують з можливими інфекціями людей, які мешкали або працювали в приміщеннях [5].

Завданням дослідження було вивчити бактеріальний склад повітря нежитлових приміщень з метою ізоляції *S. aureus* і встановлення його

антибіотикочутливості.

Матеріали і методи досліджень. Дослідження проведено у вересні-грудні 2017 року. Виділення стафілококів із повітря проводили седиментаційним методом. Бактеріологічними методами виділяли чисті культури стафілококів та вивчали їх культуральні властивості на м'ясопептонному бульйоні, м'ясопептонному агарі, сольовому агарі та жовтково-сольовому агарі. Морфологію виділених ізолятів вивчали мікроскопічним методом (світловий мікроскоп, фарбування простим методом та за Грамом). Фаготипування проводили за загальноприйнятим методом за допомогою бактеріофага стафілококового виробництва ФГУП «НПО «Микрочен» (Серія П331; Російська федерація). Чутливість до десяти антибіотиків визначали диско-дифузійним методом на агарі Мюллера-Хінтона загальноприйнятим методом.

Результати власних досліджень. Всього досліджено 24 проби повітря, із 11 проб (45,8 %) повітря приміщень виділили 27 ізолятів, які за морфологічними, тинкторіальними та культуральними властивостями були віднесені до стафілококів. При фаготипуванні шість ізолятів із п'яти проб (20,0 %) ідентифікували як *S. aureus*, що становить 22,2 % від усіх виявлених кокових форм бактерій.

Морфологічно усі грампозитивні коки, які мали ознаки росту на живильних середовищах, характерні для даного виду: колонії круглі опуклі непрозорі з блискучою поверхнею та рівним краєм. У п'яти ізолятів колонії мали білий колір, у одного ізолята – жовтопомаранчевий.

Для фаготипування 1 см³ добової бульйонної культури ізолята висівали на агар Мюллера-Хінтона, залишали на 1 годину в термостаті, після чого в кожен чашку Петрі наносили по 3 краплі бактеріофага, давали рідині стікати по поверхні засіяного середовища та далі інкубували при +37°C впродовж 24 годин. За позитивної реакції на поверхні агару формувалися три зони лізису культури, за негативної – на поверхні агару формувався рівномірний бактеріальний газон. Біологічні властивості ізолятів *Staphylococcus aureus* представлені в таблиці 1.

Таблиця 1

Біологічні властивості ізолятів *Staphylococcus aureus*, виділених із повітря нежитлових приміщень

Номер ізоляту	Форма клітин	Фарбування за Грамом	Культуральні властивості				
			Сольовий агар	Жовтково-сольовий агар	МПА	МПБ	Пігменто-утворення
1	куляста	Г+	+	+	+	+	-
2	куляста	Г+	+	+	+	+	-
3	куляста	Г+	+	+	+	+	жовтий
4	куляста	Г+	+	+	+	+	-

5	куляста	Г+	+	+	+	+	-
6	куляста	Г+	+	+	+	+	-

Для визначення антибіотикочутливості ми використали паперові диски з 10 видами антибактеріальних препаратів, які відносять до 7 груп (див. табл. 2).

Таблиця 2

Характеристика антибіотиків, які використали в дослідженнях

Група антибіотиків	Використані препарати	Найбільшчутливі групи бактерій
Напівсинтетичніпеніциліни	Ампіцилін	Грамположитивні і грамнегативні
Напівсинтетичні тетрацикліни	Доксициклін	
Аміноглікозиди	Гентаміцин	
Цефалоспорины	ЦефазолінЦефтриаксон	Грамположитивні (ефективніше) і грамнегативні (менш ефективно)
Фторхінолони	ОфлоксацинНорфлоксацинЦипрофлоксацин	
Лінкозаміди	Лінкоміцин	Грамположитивні анаероби
Макроліди	Еритроміцин	Грамположитивні

Як видно з таблиці 2, вісім препаратів із десяти мають широкий спектр дії, а два (лінкоміцин та еритроміцин) ефективні проти грамположитивних бактерій.

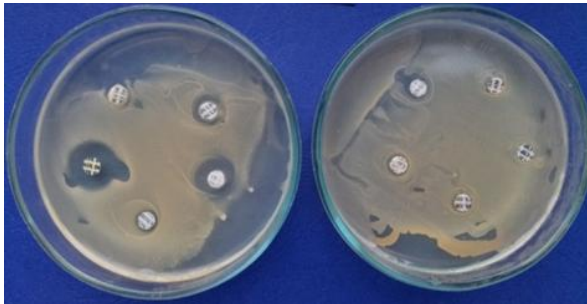


Рис. 1. чутливість до антибіотиків ізоляту № 3.

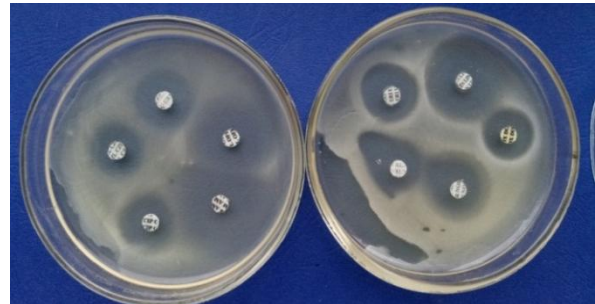


Рис. 2. чутливість до антибіотиків ізоляту № 4.

Чутливість до антибіотиків за використання диско-дифузійного методу визначають як середню, якщо діаметр зони лізису навколо диску 15 мм, відповідно високою вважають чутливість при більшій зоні лізису, а низькою –

при меншій ніж 15 мм, повна резистентність – це відсутність зони лізису навколо диску з антибіотиком (рис. 1-2).

За результатами наших досліджень різних ізолятів чутливість до антибіотиків мала значні коливання (див. табл. 3).

Таблиця 3

Антибіотикочутливість ізолятів *Staphylococcus aureus*, виділених із повітря нежитлових приміщень (мм)

Вид антибіотика	Номер ізоляту, рівень чутливості до антибіотика						M±m
	1	2	3	4	5	6	
Ампіцилін	12	14	7	25	12	30	16,67±4,05
Гентаміцин	20	26	10	20	14	25	20,17±3,08
Доксициклін	22	20	15	18	10	22	17,83±1,99
Еритроміцин	25	20	7	20	14	30	19,33±3,30
Лінкоміцин	10	25	6	28	25	30	20,67±4,73
Норфлоксацин	20	25	6	22	25	27	20,83±2,93
Офлоксацин	25	25	0	28	30	26	22,33±2,09
Цефазолін	10	27	0	18	7	30	12,00±3,36
Цефтриаксон	22	20	10	20	20	30	20,33±2,12
Ципрофлоксацин	20	25	0	20	28	30	20,50±2,10
M±m	18,60±1,99	20,70±1,88	6,10±0,78	21,90±1,29	18,50±2,97	28,00±1,00	

Аналіз результатів даних таблиці 3 показує, що з 6 ізолятів лише два (33,3 %) чутливі до всіх антибіотиків, а 4 – можна віднести до групи MRSA (66,7 %) через нечутливість до ампіциліну. Ізолят № 2 має низьку чутливість лише до ампіциліну, № 1 – до 3 препаратів (ампіциліну, лінкоміцину та цефазоліну), ізолят № 5 – до половини антибіотиків. Мультирезистентним виявився ізолят № 3, здатний синтезувати жовтий пігмент: він виявив повну резистентність до 3 антибіотиків, низьку чутливість до 6 препаратів і середній рівень чутливості лише до одного – доксицикліну. Показники середньої чутливості варіювали від 6,1 до 28,0 мм; причому вони високі у п'яти ізолятів і дуже низький у ізоляту № 3.

Найбільш ефективними препаратами по відношенню до всіх ізолятів, крім третього, виявився офлоксацин (22,33 мм), показники більші за 20 мм затримки росту мали також норфлоксацин (20,83 мм), лінкоміцин (20,67 мм), ципрофлоксацин (20,5 мм), цефтриаксон (20,33 мм) та гентаміцин (20,17 мм), а найменш ефективними – ампіцилін (16,67мм) та цефазолін (12,00 мм).

Висновки і перспективи подальших досліджень.

1. Із досліджених проб повітря 45,8 % містили стафілококи різних видів, з них ідентифікували як *S. aureus* 22,2 % (шість ізолятів).

2. Культуральні та біохімічні властивості усіх виділених ізолятів *S. aureus* були характерними для цього

виду, один із шести ізолятів мав здатність до синтезу жовтого пігменту.

3. Виявлено різний ступінь чутливості *S. aureus* до антибіотиків: 33,3 % ізолятів чутливі до всіх антибіотиків, 66,7 % - резистентні до частини препаратів.

4. Серед мікроорганізмів, які є в повітрі приміщень, можуть циркулювати полірезистентні штами стафілококів. Необхідно проводити моніторинг мікробної забрудненості повітря приміщень та контролювати кількість санітарно-показових мікроорганізмів у повітрі, в тому числі стафілококів.

Список використаної літератури:

1. Богданов М. Б., Черненко Т. В. Влияние «антибактериального анамнеза» на устойчивость возбудителей. *Клиническая фармакология и терапия*. 2000. № 9 (2). С. 43-47.
2. Карпов И. А., Качанко Е. Ф. Стафилококковая инфекция: клинические аспекты и перспективы терапии. *Медицинские новости*. 2005. № 9. С. 53-56.
3. Кряжев Д. В., Беляева Е. В., Борискина Е. В., Ермолина А. В. Чувствительность к антибиотикам, дезинфектантам и бактериофагам экзотаров коагулазонегативных стафилококков, выделенных в детском стационаре. *Медицинский альманах*. 2017. № 4. С. 66-69.
4. Музыка В. П., Стецко Т. И., Пашковская М. В., Падовский В. Н. Мониторинг чувствительности стафилококков к антимикробным веществам. *Ученые записки Витебской акад. вет. медицины*. 2012. Т. 48; № 2-2. С. 119-121.
5. Chang C.-W., Wang L.-J. Methods for quantifying *Staphylococcus aureus* in indoor air. *International Journal of Indoor Environment and Health*. 2015. Vol. 25. Is.1. Feb. P. 59-67.
6. Madsen A. M., Moslehi-Jenabian S., Islam M. Z., Frankel M. Concentration of Staphylococcus species in indoor air as associated with other bacteria, season, relative humidity, air change rate, and *S. aureus* – positive occupants. *Environ. Res.* 2018. Jan. Vol. 160. P. 282-291.
7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4871955/>

References:

1. Bogdanov M. B. and Chernen'kaya T. V. (2000), "The influence of "antibacterial history" on the stability of pathogens" [Vliyanie "antibakterialnogo anamneza" na ustoychivost vzbuditeley], *Clinical pharmacology and therapy*, №9 (2), pp. 43-47. (inUkraine)
2. Karpov I. A. and Kachanko E. F. (2005), "Staphylococcal infection: clinical aspects and treatment prospects" [Staphylokokovaya infektsiya: klinicheskie aspekti i perspektivi terapii], *Medical News.*, №9, pp. 53-56. (inRussian)
3. Kryazhev D. V., Belyaeva E. V., Boriskina E. V. and Ermolina A. B. (2017), "Sensitivity to antibiotics, disinfectants and bacteriophages of ecowars of coagulase-negative staphylococci isolated in a pediatric hospital" [Chuvstvitel'nost k antibiotikam, desinfektantami bakteriofagam ekovarov koagulasonegativnih stafiliokokov, videlenih v detskom stasionare], *Medical Almanac.*, №4, pp. 66-69. (inRussian)
4. Muzika V. P., Stetsko T. I., Pashkovskaya M. V. and Padovskiy V. N. (2012), "Monitoring the sensitivity of staphylococci to antimicrobial agents" [Monitiring chuvstvitel'nosti stafilokokov k antimikrobnim veschestvam], *Scientific notes of the Vitebsk Academy of Veterinary Medicine.*, V.48, №2-2, pp. 119-121. (in Russian)
5. Chang C.-W., Wang L.-J. (2015), "Methods for quantifying *Staphylococcus aureus* in indoor air", *International Journal of Indoor Environment and Health*, Vol. 25, Is.1. Feb, pp. 59-67.
6. Madsen A. M., Moslehi-Jenabian S., Islam M. Z. and Frankel M. (2018), "Concentration of Staphylococcus species in indoor air as associated with other bacteria, season, relative humidity, air change rate, and *S. aureus*-positive occupants", *Environ. Res.*, Jan. Vol. 160, pp. 282-291.
7. <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4871955/>

Гаркавая В. В., Гарагуля Г. И., Скабцов М. А. Изучение биологических свойств изолятов стафилококков.

Staphylococcus aureus является возбудителем значительной части бактериемий, пневмоний, инфекций кожи и мягких тканей, костей и суставов. Этот микроорганизм выделяется от больных людей и животных и может загрязнять воздух помещений. Целью исследования была изоляция *S. aureus* из воздуха нежилых помещений и изучение его чувствительности к антибиотикам. Из исследованных проб воздуха 45,8 % содержали стафилококки разных видов. Шесть изолятов идентифицировали как *S. aureus*. обнаружен различный уровень чувствительности *S. aureus* к антибиотикам: 2 изолята чувствительны ко всем 10 использованным антибиотикам, 4 – резистентны к части препаратов.

Ключевые слова: воздух помещений, *S. aureus*, чувствительность к антибиотикам.

Garkava V. V., Garagulya G. I., Skabtsov M. A. Study of the biological properties of staphylococcus isolates.

Staphylococcus aureus is the causative agent of a significant proportion of bacteremia, pneumonia, infections of the skin and soft tissues, bones and joints. This microorganism stands out from sick people and animals and can contaminate indoor air. The aim of the study was to isolate *S. aureus* from the air of non-residential premises and to study its sensitivity to antibiotics. Of the air samples studied, 45.8 % contained staphylococci of different species. Six isolates were identified as *S. aureus*. A different level of sensitivity of *S. aureus* to antibiotics was found: 2 isolates are sensitive to all 10 antibiotics used, and 4 are resistant to some drugs.

Keywords: air of premises, *S. aureus*, sensitivity to antibiotics.