

© Кучма І.Ю., 2012
УДК 618.15-002.3:616.992.282

І.Ю. Кучма

БІОЛОГІЧНА ХАРАКТЕРИСТИКА БАКТЕРІЙ РОДУ STAPHYLOCOCCUS, ВЕГЕТУЮЧИХ У БІОТОПІ ДИХАЛЬНИХ ШЛЯХІВ ДІТЕЙ, ХВОРИХ НА ПНЕВМОНІЮ

Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова НАМН України, м. Харків

Протягом 2010-2011 рр. обстежено 256 дітей з діагнозом гострої пневмонії. Вивчено біологічні властивості бактерій роду Staphylococcus, вегетуючих у біотопі дихальних шляхів хворих на пневмонію дітей – біохімічні характеристики, чутливість до антибактерійних засобів, лецитиназна, плазмокоагулазна, фібринолітична та ДНК-азна активність. Акцентовано увагу на необхідність клінічним бактеріологам проводити внутрішньородову диференціацію стафілококів, означати провідні патогени за критеріями потенційної патогенності та чутливості/стійкості до протимікробних засобів.

Ключові слова: стафілококи, біологічні властивості, патогенність, чутливість до протимікробних засобів.

Мікробіологічна діагностика пневмонії, особливо у дітей, пов'язана з достатньо вагомими труднощами – складність отримання у дітей біологічного матеріалу для дослідження, по можливості не контамінованого сторонньою мікрофлорою верхніх дихальних шляхів, ротової порожнини та носоглотки [1]. Лише вилучення чистої культури мікробів та надійна їх ідентифікація надає право клініцисту підтвердити або відкинути основний діагноз. У практичній клінічній бактеріології просто означення приналежності ізолятів до роду *Staphylococcus* явно недостатньо [2]. Навіть початкуючий бактеріолог з малим досвідом, але елементарними навичками роботи по трьом бактеріоскопічним ознакам (Гр+, сферична форма, розташування в препараті у вигляді грону винограду) з достатньо високою долею вірогідності (70-80 %) доведе, що має справу зі стафілококами. Більш того, висівом матеріалу на відповідне щільне живильне середовище означить масивність обсіменіння в КУО/мл та обмежено – чутливість до антибіотиків. На цьому в багатьох випадках так званий «аналіз» закінчується, формується його результат. Але для клініциста потрібна детальна

характеристика ізоляту – означення потенції патогенності, чутливості до протимікробних засобів, до специфічних фагів (при підозрі на нозокоміальну інфекцію) тощо [3].

Матеріали і методи

Протягом 2009-2011 рр. обстежено 256 дітей, які знаходились на лікуванні в дитячих пульмонологічних стаціонарах Харкова і Житомира з діагнозом гострої пневмонії. Первинне клініко-лабораторне обстеження проведено на базі цих лікувальних закладів; більш детальні мікробіологічні дослідження, визначення чутливості до протимікробних засобів, прояву патогенних властивостей стафілококів виконано в лабораторії протимікробних засобів ДУ «ІМІ ім. І.І. Мечникова НАМН України». Для посіву матеріалу та ідентифікації культур використовували методики, що викладені в наказі № 535 від 22.04.1985 р. «Об унификации микробиологических методов исследования, применяемых в клинико-диагностических лабораториях лечебно-профилактических учреждений» та Визначнику бактерій Берджі (2007). Чутливість до антибіотиків визначали відповідно з наказом МОЗ України № 167 від 05.04.2007 «Методичні вказівки по визначенню чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. МВ 9.9.5-143-2007». Фібринолітичну, ДНК-азну та плазмокоагулюючу активність вивчали за загальноприйнятими методами [4]. Приготування реактивів, поживних середовищ проводили згідно ГОСТ 10444.1-84 (СТ СЗВ 383-82) «Приготовление растворов, реактивов, красок, индикаторов и питательных сред, применяемых при микробиологическом анализе» та ГОСТ 4919.1-77 «Методические рекомендации по организации хранения, учета и применения химических реактивов в лабораториях санэпидстанций для внедрения в работу бактериологических лабораторий» (М., 1984).

Результати досліджень та їх обговорення

З матеріалу дихальних шляхів (переважно мокротиння) хворих на пневмонію дітей вилучено

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

177 ізолятів стафілококів у кількості 10^5 КУО/мл та вище. Нами застосовано класичну методику ідентифікації та внутривидової диференціації стафілококів, вивчення їх біологічних властивостей, ознак патогенності і вірулентності, чутливості до антибактерійних засобів.

З більше як 50 властивостей стафілококів, рекомендованих Визначником бактерій Берджі (2007) для ідентифікації роду та внутривидової диференціації, більше третини фактично недоступні для вивчення в практичній лабораторії, та й нагальної необхідності в цьому немає, постільки багато ознак з позначкою “±” вносять

деякі сумніви щодо вірогідності результатів досліджень. Нами використано 26 ознак стафілококів для внутривидової ідентифікації. Після внутривидової ідентифікації до виду *S. aureus* віднесено 37 (24,00 %) культур, *S. epidermidis* – 19 (12,34 %), *S. hominis* – 17 (11,04 %), *S. capitis* – 26 (16,90 %), *S. chromogenes* – 16 (10,40 %), *S. gallinarum* – 8 (5,19 %), *S. cohnii* – 9 (5,84 %), *S. saprophyticus* – 22 (14,28 %), 23 ізоляти не вдалося диференціювати до виду за причини варіабельності та нестабільності біологічних та, перш за все, біохімічних ознак (табл. 1).

Таблиця 1

Культуральні та біохімічні властивості бактерій роду *Staphylococcus*, ізольованих від хворих на пневмонію дітей (154)

Ознаки	<i>S. aureus</i> , n=37	<i>S. epidermidis</i> , n=19	<i>S. capitis</i> (subsp. <i>ureolyticus</i>), n=26	<i>S. hominis</i> , n=17	<i>S. gallinarum</i> , n=8	<i>S. cohnii</i> (subsp. <i>urcalyticus</i>), n=9	<i>S. saprophyticus</i> , n=22	<i>S. chromogenes</i> , n=16
Ріст в анаеробних умовах	37	19	26	17	8	9	22	16
Ріст в аеробних умовах	21	14	25	15	2	8	14	9
Ріст на МПА +10 % NaCl	30	6	12	12	-	7	11	6
Ріст на МПА +15 % NaCl	24	6	15	5	-	9	8	8
Ріст при 15° С	7	4	-	-	5	7	6	12
Ріст при 45° С	15	4	6	-	5	6	6	14
Наявність пігменту	37	-	11	5	7	5	11	11
Тест на оксидазу (цитохром С)	4	3	-	2	-	3	-	-
Утворення молочної кислоти L(+)-ізомер	29	14	-	5	6	4	5	7
D(-)-ізомер	31	12	4	14	-	4	9	9
Утворення ацетоїну	32	17	11	3	2	3	13	5
Утворення кислоти з:								
D-ксилози	5	3	2	4	5	-	-	-
L-арабінози	7	2	2	3	7	-	3	-
D-фукози	4	4	-	2	4	2	5	-
Рафінози	8	3	3	3	5	-	5	-
Саліцина	6	1	4	-	-	2	-	3
Сахарози	33	15	7	5	2	3	4	5
Мальтози	30	13	11	4	6	1	7	7
D-манітолу	29	2	6	-	4	5	3	4
D-маннози	34	5	4	-	3	6	-	4
A-лактози	31	2	12	2	5	4	-	3
D-рибози	33	2	14	2	4	5	4	2
Ріст з використанням $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$	6	-	-	-	4	3	5	-
Редукція нітрату	30	14	13	5	8	4	4	-

Всі вилучені ізоляти стафілококів розщеплювали каталазу, володіли редукційними властивостями 42,3 % з них, гемолізували еритроцити 37,2 %, коагулювали плазму 36,5 %, продукували

лецитиназу 32,1 %, ДНК-азу – 38,0 %, проявляли фібринолітичну активність 34,0 %, манніт ферментували 22,3 % культур (табл. 2).

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

Таблиця 2

Біологічні властивості штамів *Staphylococcus spp.*, вилучених з дихальних шляхів хворих на пневмонію дітей, %

Кількість штамів, од.	Гемоліз еритроцитів	Коагуляція плазми	Продуктування лецитинази	Розщеплення манніту	Фібринолітична активність	Продуктування ДНК-ази
154	37,2	36,5	32,1	22,3	34	38

Чутливість/стійкість до протимікробних засобів (антибіотики, антисептики, дезінфектанти, бактеріофаги) стафілококів, вилучених від хворих на пневмонію дітей, нами означено вибірково, з акцентом на ізоляти, що володіли патогенним потенціалом (гемолітичні, фібринолітичні та ін. властивості). Більшість з них належали до *S. aureus*

(32 штами). Дослідження проведено відповідно до рекомендацій Британського торакального товариства (BTS) по діагностиці та лікуванню пневмонії у дітей і дорослих (2009) [5]. Результати дослідження чутливості стафілококів до широко використовуваних у пульмонологічній практиці протимікробних засобів ілюстровано даними табл. 3.

Таблиця 3

Ступінь чутливості клінічних штамів стафілококів до антибіотиків і антисептичних препаратів

Протимікробний засіб	Кількість досліджених штамів	Ступінь чутливості					
		чутливі	%	малочутливі	%	стійкі	%
Антибіотики							
Ампіцилін	58	21	36,21	17	29,31	20	34,48
Абактал	58	34	58,62	18	31,03	6	10,35
Амоксиклав	52	32	61,54	12	23,08	8	15,38
Гентаміцин	58	29	50,00	11	18,96	18	31,04
Заноцин	58	34	58,62	16	27,59	8	13,79
Карбеніцилін	54	16	29,63	22	40,74	16	29,63
Кефзол	54	27	50,00	17	31,48	10	18,52
Кліндаміцин	50	35	70,00	12	24,00	3	6,00
Лінкоміцин	58	18	31,03	14	24,14	26	44,83
Метронідазол	58	22	37,93	16	27,59	20	34,48
Меропенем	58	29	50,00	11	18,96	18	31,04
Норфлоксацин	58	32	55,17	15	25,86	11	18,96
Оксацилін	58	17	29,31	12	20,69	29	50,00
Пеніцилін	58	12	20,69	13	22,41	33	56,90
Ріфампіцин	58	24	41,38	20	34,48	14	24,14
Рефлін	56	26	46,43	23	41,07	7	12,50
Тіенам	58	32	55,17	12	20,69	14	24,14
Тетрациклін	58	16	27,59	11	18,96	31	53,45
Цефтазидим	52	26	50,00	21	40,38	5	9,62
Цефазолін	52	24	46,15	18	34,62	10	19,23
Ципрофлоксацин	54	26	48,15	16	29,63	12	22,22
Антисептики							
Фурацилін	58	19	32,76	14	24,14	25	43,10
Новоіманін	52	22	42,31	11	21,15	19	36,54
Йодоформ	52	20	38,46	16	30,77	16	30,77
Етоній	58	27	46,55	22	37,93	9	15,52
Декаметоксин	58	34	58,62	18	31,03	6	10,35

Стойкими та малочутливими (більш як у 60 % випадків) клінічні штами стафілококів виявились до антибіотиків групи пеніциліну, лінкоміцину, метронідазолу, тетрацикліну, рифампіцину, достатньо

високий відсоток (більше 50) – до кефзолу, цефтазидиму, цефазоліну тощо. Слід узагальнити, що серед клінічних штамів стафілокока більше третини володіють вираженою стійкістю до антибіо-

ОРИГІНАЛЬНІ ДОСЛІДЖЕННЯ

тиків з самим різним механізмом дії на бактерійну клітину (β -лактами, глікопептиди, фосфопептиди, граміцидини, поліміксини, аміноглікозиди, тетрацикліни, макроліди, фторхінолони тощо).

Висновки

1. Виявлено виражену гетерогенність бактерій роду *Staphylococcus*, що вегетують у дихальній системі хворих на пневмонію дітей, за критеріями біологічних властивостей та чутливості до протимікробних засобів. Звертає на себе увагу, що до *S. aureus* віднесено 37 культур, що складає лише 24,00 % у загальному масиві ізольованих стафілококів. Але ж клінічні мікробіологи при дослідженні патологічного матеріалу при гнійно-запальних процесах орієнтуються цілеспрямовано на золотаві стафілококи, при цьому фактично поза зоною їх уваги знаходяться стафілококи інших видів.

2. За відсотком достатньо значущими (майже зіставними за кількістю з *S. aureus*) є *S. capitis* (16,90 %), *S. saprophyticus* (14,28 %), *S. epidermidis* (12,34 %), *S. hominis* (11,04 %) та *S. chromogenes* (10,40 %). Тому практикуючим бактеріологам необхідно не лише вилучати стафілококи, а й обов'язково проводити їх внутрішньородову диференціацію. Слід також акцентувати на можливу суттєву роль як патогенів сапрофітичних, епідермальних та хромогенних стафілококів, особливо *S. capitis*. У літературі майже не відображено їх значення при пневмоніях в педіатричній практиці, а щодо *S. capitis*, то існує думка у фахівців з клінічної мікробіології, що він обумовлює специфічні ураження лише у тварин. Потрібні додаткові дослідження для більш чіткого означення ролі цього мікроба при гнійно-запальних захворюваннях.

3. Клінічним бактеріологам необхідно визначати патогенний потенціал стафілококів у поєднанні з їх чутливістю/стійкістю до протимікробних засобів. Вказане дозволить фахівцю провідним патогеном означити ізолят стафілокока, який володіє низкою патогенних властивостей і при цьому проявляє стійкість до повсюдно вико-

ристовуваних у лікарській практиці протимікробних препаратів.

Література

1. Мизерницький Ю.А. Детский научно-практический пульмонологический центр Министерства здравоохранения Российской Федерации: состояние и ближайшие перспективы / Ю.А. Мизерницький, С.Ю. Каганов // Росс. вестник перинатологии и педиатрии. – 2002. – № 5. – С. 59-62.
2. Bloomfield S.F. The viable but nonculturable phenomenon explained / S.F. Bloomfield // Microbiology. – 1998. – Vol. 144. – P. 1-3.
3. Chastre J. Diagnosis and treatment of nosocomial pneumonia in patients in intensive care units / J. Chastre // Clin. Infect. Dis. – 2005. – Vol. 21, Suppl. 3. – P. 226.
4. Базарнова М.А. Клінічна лабораторна діагностика / М.А. Базарнова. – Київ: Вища школа, 2001. – 255 с.
5. American Thoracic Society. Guidelines for the initial management of adults with community-acquired pneumonia: diagnosis, assessment of severity, and initial antimicrobial therapy // Am. Rev. Resp. Dis. – 2009. – N 148. – P. 1418.

BIOLOGICAL DESCRIPTION OF BACTERIA STAPHYLOCOCCUS, VEGETANS IN RESPIRATORY TRACTS BIOTOP OF CHILDREN WITH PNEUMONIA

I.Yu. Kuchma

SUMMARY. During 2010-2011 256 children are inspected with the diagnosis of pneumonia. Biological properties of Staphylococcus, vegetans in respiratory tracts of patients are studied – biochemical descriptions, sensitiveness to the anti-infectives, pathogenic property. Attention is accented on a necessity clinical bacteriologists to conduct differentiation of staphylococuss, mean leading pathogens after the criteria of potential pathogenicity and sensitiveness to antibacterial facilities/

Key words: *staphylococuss, biological properties, pathogenicity, sensitiveness, are to протимікробних facilities.*

Отримано 17.05.2012 р.