

© Клименюк С.І., Красій Н.І., Покришко О.В., Творко М.С., 2016
 УДК 616-022.7:579.83-074:614.21(477.84)
 DOI 10.11603/1681-2727.2016.3.6894

С.І. Клименюк, Н.І. Красій, О.В. Покришко, М.С. Творко

СПЕКТР БАКТЕРІЙ, ВИДІЛЕНИХ ВІД ХВОРИХ ТЕРНОПІЛЬСЬКОЇ УНІВЕРСИТЕТСЬКОЇ ЛІКАРНІ, ТА ЇХ АДГЕЗИВНІ ВЛАСТИВОСТІ

Тернопільський державний медичний університет ім. І.Я. Горбачевського,
 КЗ ТОР «Тернопільська університетська лікарня»

Наведено результати вивчення спектру виділених із різного клінічного матеріалу мікроорганізмів, отриманих від хворих, які перебували на лікуванні у відділенні інтенсивної терапії Тернопільської університетської лікарні в 2015 р., та проведено порівняльний моніторинг з попередніми роками. Показано, що найчастіше від пацієнтів висівали представників родини Enterobacteriaceae – 56,4 %, неферментуючі грамнегативні бактерії – 27,3 %, стафілококи – 16,3 %. Відстежено, що така мікробіологічна картина прослідковується протягом останніх трьох років.

Враховуючи те, що адгезія є одним з чинників вірулентності бактерій, у роботі показано результати дослідження адгезивних властивостей вилучених клінічних штамів. Бактерії, як правило, мали достатньо високий рівень адгезивності. Найвищі показники адгезивної здатності були зафіксовані серед S. aureus – 4,9±2,2. Показано, що між адгезивною активністю бактерій та стійкістю їх до антибіотиків існує прямий кореляційний зв'язок.

Ключові слова: госпітальні інфекції, мікроорганізми, адгезивні властивості.

Інфекційно-запальні ускладнення залишаються однією з найважливіших проблем відділень анестезіології та інтенсивної терапії, обумовлюючи більшу частину несприятливих результатів лікування хворих з легеневою патологією [1, 2]. Вони спричинюються широким спектром грампозитивних і грамнегативних мікроорганізмів, включаючи можливе приєднання внутрішньолікарняної мікрофлори в умовах стаціонару, що суттєво обтяжує перебіг основного патологічного процесу. Ось чому таким важливим є постійний моніторинг видового складу мікрофлори хворих, які перебувають на стаціонарному лікуванні, та вивчення біологічних властивостей клінічних ізолятів, завдяки чому можливо визначити етіологічну роль того чи іншого патогену, щоб призначити раціональну відповідну антибіотикотерапію [3, 4].

Для проникнення крізь захисні бар'єри макроорганізму та подальшої персистенції в ньому бактерії повинні мати високу здатність колонізувати слизові оболонки біологічних ніш людини [5-8]. Адгезія мікроорганізмів є одним із факторів їх вірулентності, початковою ланкою патогенезу розвитку інфекційних захворювань і одним із механізмів захисної дії представників нормальної мікрофлори, яка забезпечує колонізаційну резистентність організму. Тому не спроможні до адгезії патогенні бактерії швидко елімінуються з організму людини механізмами природного захисту [9-13].

Матеріали і методи

Проведено мікробіологічний моніторинг 227 штамів бактерій, виділених із клінічного матеріалу (трахеобронхіальний аспірат, мазки з ротоглотки, виділення з ран тощо).

Дослідження біологічного матеріалу та інтерпретацію отриманих результатів проводили згідно зі загальновизначеними методичними рекомендаціями [14]. Ідентифікували виділені мікроорганізми загальноприйнятим бактеріологічним методом, згідно з класифікацією Бергі [15], використовуючи відповідні тест-системи та за допомогою автоматичного аналізатора Vitek-2 Compact. Проведено порівняльний мікробіологічний моніторинг ізолятів, виділених від хворих, які перебували у ВАІТ у 2013 та 2014 рр.

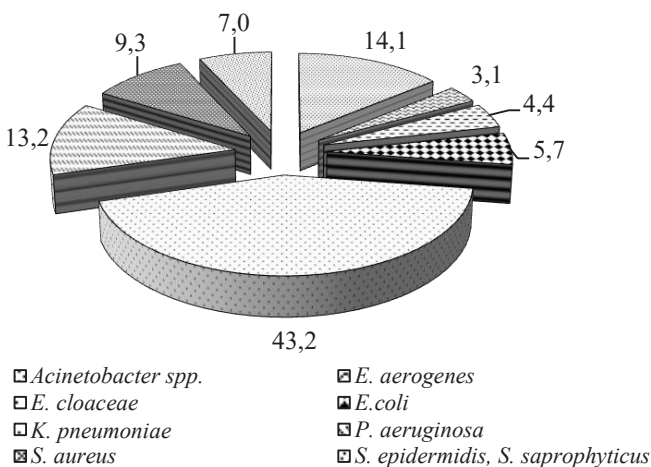
Дослідження адгезивних властивостей проводили на 123 ізолятах, виділених від хворих, які перебували на лікуванні у відділенні інтенсивної терапії та реанімації (ВАІТ) протягом 2014-2015 рр. Клінічні штами були виділені з ротоглотки (19), трахеального аспірату (90), з сечі (3), рани (11). Адгезивні властивості збудників вивчали на моделі клітин макроорганізму, використовуючи еритроцити людини O/Rh(+) групи крові експрес-методом за методикою В.І. Бріліса, 1986 [16]. Мікроорганізми попередньо вирощували на цукровому МПА протягом доби й готували бактерійну суспензію концентрацією 10^8 КУО/мл. Нативні еритроцити двічі відмивали в буферному розчині центрифугуванням при 300 об./хв протягом 10 хв і готували суспензію

10⁸ кл./мл. На предметне скло наносили по краплі суспензій бактерій та еритроцитів і змішували їх. Після 30 хв інкубації при температурі 37 °С у вологій камері препарат висушували, фіксували, фарбували метиленовою синькою й проводили мікроскопію. Для оцінки адгезивних властивостей мікроорганізмів застосовували середній показник адгезії (СПА), що становить середню кількість мікроорганізмів, які асоційовані з одним еритроцитом, при підрахунку не менше 25 еритроцитів. При значенні СПА від 0 до 1,0 бактерії вважали неадгезивними, від 1,01 до 2,0 – низькоадгезивними, від 2,01 до 4,0 – середньоадгезивними, більше 4,01 – високоадгезивними.

Отримані результати підлягали статистичній обробці з визначенням середніх арифметичних вибірок, середньоквадратичного відхилення, індексу кореляції з використанням програм Microsoft Office Excel 2003.

Результати досліджень та їх обговорення

Аналіз етіологічної структури збудників, виділених із різних джерел, показав, що у хворих, які знаходилися на лікуванні у ВАІТ в 2015 р., домінували представники родини *Enterobacteriaceae*, серед яких переважали *Klebsiella pneumoniae* – 43,2 % (98 штамів). *E. coli* спостерігалась в 5,7 % випадків (13 ізолятів), в основному виділялась із сечі (7 штамів), з крові висіяно 4 ізоляти. Рідше зустрічались *Enterobacter cloacae* – 4,4 % (10 штамів), *Enterobacter aerogenes* – 3,1 % (7 штамів) Друге місце за частотою посідали неферментуючі грамнегативні бактерії: *Acinetobacter spp.* – 14,1 % (32 штамми), *Pseudomonas aeruginosa* – 13,2 % (30 штамів). *Staphylococcus aureus* становили 9,3 % (21 штама), а коагулазонегативні *S. epidermidis* і *S. saprophyticus* – 7,0 % (мал. 1).



Мал. 1. Спектр мікроорганізмів, виділених з клінічного матеріалу хворих, які перебували у ВАІТ в 2015 р., %.

Порівнюючи спектр мікроорганізмів, виділених у 2013-2015 рр., слід відмітити негативну тенденцію: домінуючі позиції займали ентеробактерії, зокрема клебсієли (табл. 1). Так, у 2013 р. їх висівали у 1/3 хворих (29,8 %), у 2014 р. – у 1/2 (53,2 %), а у 2015 р. частота їх дещо зменшилася – до 43,2 %. З високою частотою виділяли неферментуючі грамнегативні бактерії. Протягом досліджуваних років частота висівання *Acinetobacter spp.* становила 12,8-14,1 %, у *P. aeruginosa* вона знизилася з 24,2 % у 2013 р. до 13,2 % (2015 р.). Штами *E. aerogenes* і *E. cloacae* у 2015 р. стали виділяти рідше (7,5 %) порівняно з 2013 р. (16,2 % випадків). Частка *E. coli* в спектрі ізольованих бактерій, яка становила 6,2 % у 2013 р., зменшилася у 2,4 разу в 2014 р. (2,6 %) і знову зросла у 2015 р. (5,7 %). Протягом досліджуваного періоду збільшилася частота виділення стафілококів. Це стосувалося як коагулазопозитивного золотистого стафілококу, так і коагулазонегативних епідермального та сапрофітного стафілококів. Частота виявлення *S. aureus* зросла з 7,5 % (2013 р.) до 9,3 % (2015 р.). Частота висівання *S. epidermidis*, *S. saprophyticus* у 2013 р. була 2,4 %, у 2014 р. вона зросла в 2,4 разу (5,8 %), а до 2015 р. зросла майже утричі, досягнувши 7,0 % порівняно з 2013 р. (табл. 1).

Таблиця 1

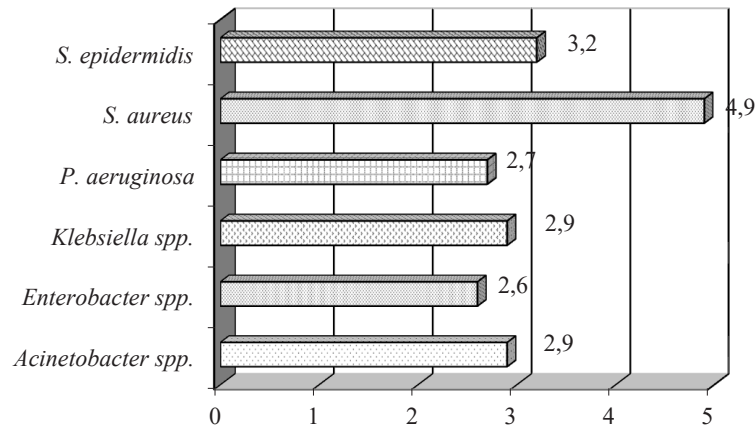
Порівняльний аналіз спектра мікроорганізмів, виділених у ВАІТ, %

Мікроорганізм	Рік дослідження		
	2013	2014	2015
<i>Acinetobacter spp.</i>	13,7	12,8	14,1
<i>E. aerogenes</i>	10,6	0,6	3,1
<i>E. cloacae</i>	5,6	3,2	4,4
<i>E. coli</i>	6,2	2,6	5,7
<i>K. pneumoniae</i>	29,8	53,2	43,2
<i>P. aeruginosa</i>	24,2	14,7	13,2
<i>S. aureus</i>	7,5	7,1	9,3
<i>S. epidermidis, S. saprophyticus</i>	2,4	5,8	7,0

Адгезивні властивості було вивчено в 21 штама *Acinetobacter*, 19 штамів *Enterobacter*, 22 ізолятів *Klebsiella*, 21 штама *Pseudomonas* і 40 штамів *Staphylococcus*.

Встановлено, що практично всі досліджувані штами мали адгезивні властивості, що свідчить про їх достатньо високу вірулентність.

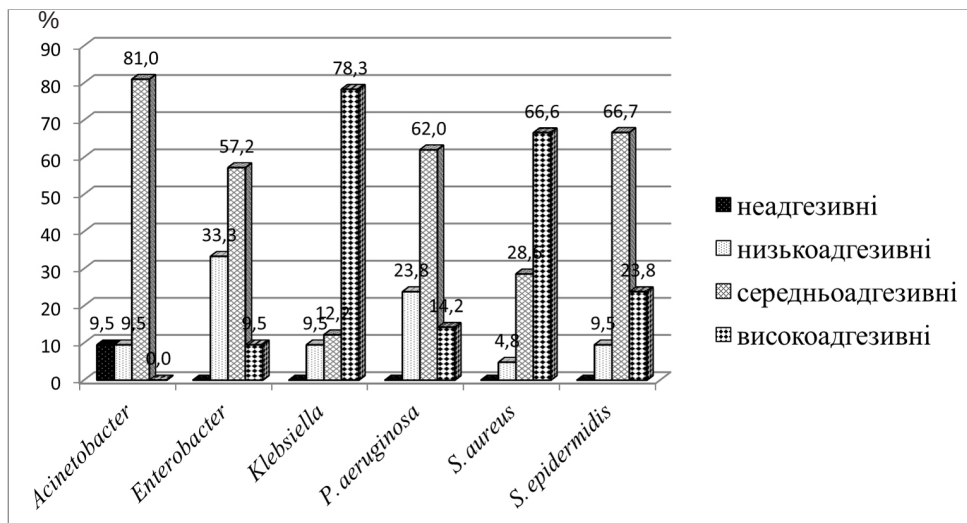
Найвищий показник адгезії бактерійних клітин до еритроцитів був характерним для грампозитивних коків, найменший – *Enterobacter spp.* (мал. 2).



Мал. 2. СПА різних мікроорганізмів, виділених від хворих, які перебували на лікуванні у ВАІТ.

Серед усіх досліджуваних штамів золотистих стафілококів лише 1 штамп (4,8 %) був неадгезивний, 28,6 % – мали середньоадгезивні, а 2/3 культур (66,6 %) – високі адгезивні властивості (мал. 3). Більшість досліджу-

ваних штамів епідермальних стафілококів (66,7 %) виявилися середньоадгезивними. Високоадгезивними були лише 23,8 % культур *S. epidermidis*. Два штами (9,5 %) цих коків мали низьку адгезивну активність (мал. 3).



Мал. 3. Співвідношення рівнів адгезивності мікроорганізмів, виділених від хворих, які перебували на лікуванні у ВАІТ.

СПА грамнегативних паличок відповідав середньому рівню адгезивної активності (мал. 2). Штами *Acinetobacter baumannii* та *K. pneumoniae* були найбільш адгезивні (їх середній показник адгезії сягав $2,9 \pm 1,2$). Практично всі досліджувані культури ацінетобактерів (81,0 %) мали середньоадгезивні властивості (мал. 3). Лише по 2 культури (по 9,5 %) були неадгезивними та високоадгезивними.

Середню адгезивну активність мали 78,3 % досліджуваних культур *Klebsiella pneumoniae* (рис. 3). Неадгезивних штамів не виявлено. Лише 2 культури (9,5 %) були високоадгезивними, 3 (12,2 %) – низькоадгезивними. СПА становив $2,9 \pm 1,2$. Порівняно з клінічними шта-

мами мікроорганізмів інших родів, досліджуваним культурам *Enterobacter spp.* була притаманна нижча адгезивна активність (мал. 3). Половина з них (57,2 %) мала низький СПА. Середньоадгезивними виявилися 33,3 % виділених культур, високоадгезивними – лише 2 штами (9,5 %). В середньому СПА ентеробактерів дорівнював $2,6 \pm 0,9$. Більшість досліджуваних штамів (62,0 %) *Pseudomonas spp.* проявляли середню адгезивну активність (рис. 3). СПА склав $2,7 \pm 1,0$. Високоадгезивних культур було 14,2 %. Низька адгезивна активність була притаманна 23,8 % досліджуваних псевдомонад.

Перевірено зв'язок між адгезивними властивостями мікроорганізмів і чутливістю їх до антибіотиків, зістав-

ляючи 2 показники – середній показник адгезії та кількість антибіотиків, до яких певний клінічний штам був резистентним.

Відмічено, що досліджувані культури були резистентними в середньому до 7-10 антибіотиків. У той же час деякі дослідники відмічають тенденцію зростання адгезивності, зокрема *P. aeruginosa*, а також деяких представників родини *Enterobacteriaceae* при збільшен-

ні їх резистентності до антибіотиків [17, 18]. Штами, вилучені у ВАІТ, проявляли достатньо високу адгезивну здатність. Було виявлено прямий кореляційний зв'язок між СПА та резистентністю виділених клінічних штамів бактерій до антибіотиків, при цьому коефіцієнт кореляції коливався від +0,3 для *K. pneumoniae* до +0,8 для *S. aureus* (табл. 2).

Таблиця 2

Порівняльна характеристика адгезивних властивостей мікроорганізмів, виділених від хворих у ВАІТ, та їх резистентності до антибіотиків

Мікроорганізм	Середній показник адгезії	Кількість антибіотиків	Коефіцієнт кореляції
<i>Acinetobacter spp.</i>	2,9±1,2	9,5	+0,5
<i>Enterobacter spp.</i>	2,6±0,9	8,8	+0,7
<i>K. pneumoniae</i>	2,9±1,2	8,6	+0,3
<i>P. aeruginosa</i>	2,7±1,0	8,4	+0,6
<i>S. aureus</i>	4,9±2,2	7,6	+0,8
<i>S. epidermidis</i>	3,3±1,5	7,6	+0,7

Висновки

1. В етіологічній структурі збудників, виділених з клінічного матеріалу хворих, які перебували на лікуванні у ВАІТ у 2015 р., переважали грамнегативні мікроорганізми, з яких 43,2 % становила *K. pneumoniae*. Друге місце за частотою виявлення посідали неферментуючі грамнегативні бактерії – *Acinetobacter spp.* та *P. aeruginosa* – 27,3 %. Стафілококи зустрічались у 16,3 % випадків.

2. Домінуючий рівень ентеробактерій зберігається протягом останніх років, коливаючись у межах – 52,2 % у 2013 р. та 59,6 % у 2014 р. Спостерігається зростаюче переважання в клінічному матеріалі штамів *K. pneumoniae* з 29,8 % у 2013 р. до 43,2 % у 2015 р.

3. Паралельно зі зростанням частки представників родини *Enterobacteriaceae* та рівня стафілококів знижується рівень неферментуючих грамнегативних бактерій: з 37,9 % у 2013 р. до 27,3 % – у 2015.

4. Серед мікроорганізмів, виділених у ВАІТ, найвищий показник адгезії спостерігався у стафілококів, при цьому СПА *S. aureus* був вищим (4,9±2,2), порівняно із СПА *S. epidermidis* (3,2±1,5) ($p < 0,05$), адгезивні властивості грамнегативних мікроорганізмів були менш вираженими.

5. Виявлено прямий кореляційний зв'язок між СПА та резистентністю виділених клінічних штамів бактерій до антибіотиків. Коефіцієнт кореляції коливався в межах від +0,3 для *K. pneumoniae* до +0,8 для *S. aureus*.

Література

1. Белобородов. В.Б. Антибактериальная терапия пневмонии, связанной с искусственной вентиляцией легких: путь

от национальных рекомендаций до применения в отделении / В.Б. Белобородов // Инфекции в хирургии. – 2011. – № 2. – С. 66-72.

2. Яковлев С.В. Клиническое значение резистентности микроорганизмов для выбора режима антибактериальной терапии в хирургии / С.В. Яковлев // Московская медицинская академия им. И.М. Сеченова. Consilium Medicum. – 2001. – Том 3, № 2. – С. 11-14.

3. Копча В.С. Сучасні антибіотики та принципи раціональної антибіотикотерапії (частина II) / В.С. Копча, М.А. Андрейчин, Ж.О. Ребенко [та ін.] // Інфекційні хвороби. – 2012. – №1(67). – С. 64-75.

4. Brusselsaers N. The rising problem of antimicrobial resistance in the intensive care unit / N. Brusselsaers, D. Vogelaers, S. Blot // Ann. Intensive Care. – 2011. – N 23. – P. 1-47.

5. Hall-Stoodley L. Evolving concepts in biofilm infections / L. Hall-Stoodley, P. Stoodley // Cell Microbiol. – 2009. – Vol. 11, N 7. – P. 1034-1043.

6. Семанюк Н.В. Адгезивні властивості домінуючих мікроорганізмів зубних бляшок у собак за хронічного катарального гінгівіту / Н.В. Семанюк, Н.М. Хомин // Біологія тварин. – 2014. – Том 16, № 3. – С. 130-135.

7. Андрейчин Ю.М. Мікрофлора верхньощелепних пазух і її адгезивна активність при гострому гнійному синуситі / Ю.М. Андрейчин, С.І. Климишук, О.В. Покришко // Інфекційні хвороби. – 2013. – № 3 (73). – С. 69-73.

8. Сінетар Е.О. Вплив препарату Афлазин® на адгезивні властивості мікроорганізмів – збудників катетер-асоційованих інфекцій / Е.О. Сінетар, М.М. Лоскутова // Здоров'я жінки. – 2013. – № 3. – С. 148-151.

9. Жорняк О.І. Вплив антисептичних препаратів на адгезивні властивості мікроорганізмів / О.І. Жорняк, О.К. Стукан // Буковинський медичний вісник. – 2010. – Том 14, № 4 (56). – С. 122-124.

10. Бойко В.М. Чутливість госпітальних штамів мікроорганізмів до протимікробних засобів та їх вплив на патогенні механізми / В.М. Бойко, І.М. Коваленко, Ю.В. Кордон // Матеріали XII з'їзду товариства мікробіологів України ім. С.М. Вернадського (25-30 травня 2009 р.). – Ужгород, 2009. – С. 150.

11. Адгезивні властивості асоціації *Candida albicans* і *Staphylococcus aureus* / В.В. Мінухін, О.В. Кочнева, С.М. Граматюк

[та ін.] // Вісник проблем біології і медицини. – 2013. – Вип. 2(100). – С. 89-91.

12. Адгезивні властивості та антилізоцимна активність свіжовилучених від хворих дітей шигел і сальмонел / І.А. Воронкіна, С.А. Деркач, А.І. Носатенко [та ін.] // Вісн. СумДУ. Серія «Медицина». – 2007. – № 2. – С. 38-43.

13. Бирюкова С.В. Адгезивний потенціал *S. aureus* и *S. albicans*, выделенных из экссудата воспаленных слюнных желез под влиянием озонирования / С.В. Бирюкова, Г.М. Большакова // Анналы Мечниковского института. – 2006. – № 2. – С. 17-21.

14. Методики клинических лабораторных исследований: Справочное пособие. – Том 3. Клиническая микробиология. Бактериологические исследования. Микологические исследования. Паразитологические исследования. Инфекционная иммунодиагностика. Молекулярные исследования в диагностике инфекционных заболеваний / Под ред. В.В. Меньшикова. – М.: Лабора, 2009. – 880 с.

15. Определитель бактерий Берджи. В 2-х т. / Под ред. Дж. Хоулта, Н. Крига, П. Снита, Дж. Стейнли, С. Уилльямса [пер. с англ. под ред. акад. РАН Г.А. Заварзина]. – М.: Мир, 1997. – 800 с.

16. Брилис В.И. Методика изучения адгезивного процесса микроорганизмов / В.И. Брилис, Т.А. Брилене, А.А. Ленцнер // Лаб. дело. – 1986. – № 4. – С. 210-212.

17. Порт Е.В. Изучение адгезивных свойств штаммов синегнойной палочки / Е.В. Порт // Вестник Харьковского национального университета. – 2004. – № 239. – С. 11-15.

18. Livrelli V. Adhesive properties and antibiotic resistance of *Klebsiella*, *Enterobacter*, and *Serratia* clinical isolates involved in nosocomial infections / V. Livrelli, C. De Champs, P. Di Martino A. // J. Clin. Microbiol. – 1996. – Vol. 34, N 8. – P. 1963-1969.

SPECTRUM OF BACTERIA, DISTINGUISHED FROM PATIENTS OF TERNOPII UNIVERSITY HOSPITAL, AND THEM ADHESIVE PROPERTIES

S.I. Klymnyuk, N.I. Krasiy, O.V. Pokryshko, M.S. Tvoriko

SUMMARY. This article has demonstrated results of microbiological investigations of various clinical specimens from patients treated in the intensive care unit of Ternopil University Hospital in 2015 in comparison to controls from previous years. It has been shown that most common isolated microorganisms were *Enterobacteriaceae* – 56,4 %, nonfermentative gram-negative bacteria – 27,3 %, gram-positive cocci – 16,3 %. Similar results were seen over the last three years.

Taking into account that bacterial adhesion ability remains one of the main factors microorganisms virulence, investigation has been shown the adhesive properties of bacterial clinical isolates. Bacterial strains demonstrated high level of adhesive activity. *S. aureus* had the highest degree of adhesiveness – $4,9 \pm 2,2$. The correlation of the isolated microorganisms' adhesive ability and level of their antibiotic-susceptibility has been presented.

Key words: hospital infections, microorganisms, adhesive properties.

Отримано 20.09.2016 р.