

ВІННИЦЬКИЙ НАЦІОНАЛЬНИЙ МЕДИЧНИЙ УНІВЕРСИТЕТ  
ІМ. М.І. ПИРОГОВА  
МІНІСТЕРСТВО ОХОРОНИ ЗДОРОВ'Я УКРАЇНИ

Кваліфікаційна наукова праця  
на правах рукопису

**Дудар Аліна Олександрівна**

**УДК: 579.85:616-008.87:615.33-615.28**

**ДИСЕРТАЦІЯ**

**ОСОБЛИВОСТІ ФОРМУВАННЯ СТІЙКОСТІ ГРАМПОЗИТИВНОЇ  
КОКОВОЇ МІКРОФЛОРИ ДО АНТИБІОТИКІВ ТА АНТИСЕПТИКІВ**

222 – медицина

Подається на здобуття ступеня доктора філософії з галузі «Охорона  
здоров'я»

Дисертація містить результати власних досліджень. Використання ідей,  
результатів і текстів інших авторів мають посилання на відповідне джерело

  
\_\_\_\_\_ А.О.Дудар

Науковий керівник – **Назарчук Олександр Адамович**, доцент кафедри  
мікробіології Вінницького національного медичного університету  
ім. М.І. Пирогова, доктор медичних наук, доцент

Вінниця – 2021

## АНОТАЦІЯ

Дудар А.О. Особливості формування стійкості грампозитивної кокової мікрофлори до антибіотиків та антисептиків. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 22 “Охорона здоров’я” за спеціальністю 222 “Медицина”. – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2021.

Метою дисертаційного дослідження є підвищення ефективності профілактики та лікування госпітальних інфекцій шляхом локального моніторингу поширеності у лікувальних закладах грампозитивних коків, включених ВООЗ за ознаками антибіотикорезистентності у групу «пріоритетних патогенів», дослідження їх біологічних властивостей та закономірностей формування стійкості до протимікробних засобів.

В ході досліджень вивчено найпоширенішу групу мікроорганізмів грампозитивних коків, які, у більшості, належать до нормального мікробіому організму людини і, водночас, є найбільш частими етіологічними чинниками опортуністичних інфекцій. Одержано нові дані щодо біологічних властивостей умовно-патогенних мікроорганізмів, які колонізують поверхні предметів госпітального середовища та м’які тканини пацієнтів, що тривалий час знаходились на стаціонарному лікуванні у відділеннях хірургічного профілю. Вперше обґрунтовано перспективи застосування глікопептидного антибіотика ванкоміцину та синтетичного препарату нової хімічної групи оксазолідинонів – лінезоліду. Вперше досліджено швидкість формування стійкості до ванкоміцину і лінезоліду та інших протимікробних засобів у метицилінрезистентних *S. aureus*, у порівнянні з нерезистентними до метициліну варіантами в штучних умовах.

В результаті проведеного мікробіологічного дослідження в лікувальних установах Вінницької області було досліджено властивості 230 ізолятів *Staphylococcus spp.* та 87 клінічних штамів *Enterococcus spp.*, виділених від пацієнтів з гнійно-запальними ураженнями м'яких тканин та з поверхонь предметів госпітального середовища, що стало підставою для подальшого дослідження видового спектру і біологічних властивостей мікроорганізмів, які становили потенційну загрозу поширенню інфекційних ускладнень.

Встановлено морфологічні, культуральні та ферментативні ознаки у виділених клінічних штамів *Enterococcus spp.*, що дозволило провести видову ідентифікацію і визначити переважання штамів *E. faecalis*, та значно меншу кількість ізолятів біологічного виду *E. faecium*. Усі використані у дослідженні штами *E. faecium* були виділені із вмісту ран, а 44 із 72 штамів *E. faecalis* були рановими контамінантами або культурами, виділеними з поверхонь використаних сечових катетерів, решта штамів цього виду були виділені з поверхонь лікарняного середовища.

Досліджено чутливість до антибіотиків клінічних штамів *S. epidermidis*(72), *S. haemolyticus* (57), *S. aureus* (49), *S. capitis* (31), *E. faecalis* (72), *E. faecium* (15). Достовірно встановлено рівень чутливості, кількість помірно стійких та стійких ізолятів, що дозволило репрезентативно оцінити ефективність антибіотиків та антисептиків.

На основі результатів дослідження наведено узагальнену характеристику рівня стійкості виділених штамів *S. aureus* (макролідів – 95,9 %, ципрофлоксацину – 81,6 %, амікацину – 77,5 %, оксациліну – 44,9 % та ін.), і доведено наявність варіантів з розширеною резистентністю (XDR), які циркулювали у госпітальному середовищі. Молекулярно-генетичні дослідження дозволили встановити при повному секвенуванні геному у відібраних в результаті мікробіологічного дослідження штамів стафілококів наявність 11 генів стійкості до антибіотиків різної хімічної структури. За отриманими результатами визначено в усіх досліджених штамів наявність

водночас від 3 до 9 генів, які забезпечують стійкість до антибіотиків однієї або різних груп. Чим було підтверджено фенотипові прояви множинної антибіотикорезистентності більшості штамів.

Дослідження, на основі порівняльної оцінки дозволили встановити, що серед 100 % досліджених штамів виявились носійство гену *bla<sub>Z</sub>*, відповідального за синтез β-лактамаз, які руйнують пеніцилін. Понад 90 % штамів коагулазопозитивних і коагулазонегативних штамів стафілококів були визначені продуцентами аміноглікозид-аденілтрансфераз (*ant*), що інактивують стрептоміцин. Більше половини досліджених клінічних штамів виявились носіями генів, які обумовлюють синтез аміноглікозид-ацетилтрансфераз (*aac*), та аміноглікозид-фосфотрансфераз (*aph*), що руйнують інші антибіотики аміноглікозидного ряду. Доведено наявність у клінічних штамів різних генетичних детермінант стійкості до антибіотиків, зокрема до макролідів та тетрациклінів (60% – 92%). У досліджених клінічних штамів *S. aureus* (50 %) та коагулазонегативних стафілококів (60 %) встановлено генетично детерміновану стійкість до хіміотерапевтичних препаратів фторхінолонового ряду.

Серед досліджених стафілококів до пріоритетних за визначенням ВООЗ метицилінрезистентних *S. aureus* належало 30 % штамів цього виду бактерій.

Проведеними дослідженнями було показано множинну антибіотикорезистентність штамів *Enterococcus spp.*, а саме: до цефалоспоринів (до 90 %), триметоприму-сульфаметоксазолу (87,2 %), фторхінолонів (до 74,7 %), аміноглікозидів (63,2 %). У ентерококів підтверджено наявність високого рівня стійкості до цефалоспоринів за рахунок низької проникливості клітинних оболонок для препаратів цього ряду, зокрема понад 90 % досліджених штамів виявились стійкими до цефтріаксону. При цьому у більшій половині досліджених клінічних штамів *Enterococcus spp.* виявлено чутливість до антибіотика карбапенемового ряду

іміпенему. Ванкоміцинрезистентних варіантів серед виділених штамів ентерококів не виявлено.

Результатами досліджень швидкості формування стійкості до ванкоміцину і лінезоліду в штучних умовах доведено, що у клінічних штамів стафілококів, в т. ч. метицилінрезистентних, стійкість до цих препаратів формується повільно. Це дозволяє зробити сприятливий прогноз щодо строків збереження цими препаратами клінічної ефективності у найближчі роки. Подібного не можна сказати про препарати фторхінолонового ряду, до високих концентрацій яких штами MRSA адаптуються дуже швидко.

У випадках топічного лікування гнійно-запальних процесів, обумовлених *S.aureus* (mec A+), ефективними є поверхнево-активні антисептики декаметоксин і біглюконату хлоргексидин. Адже, концентрації їх робочих розчинів у багато разів вищі, ніж мінімальні бактерицидні концентрації для витривалих до антибіотиків штамів грампозитивних коків і, навіть, тих їх варіантів, які пройшли експериментальну процедуру штучного формування резистентності.

Експериментально доведено що, здатність до плівкоутворення і метицилінрезистентність у стафілококів не є взаємозв'язаними біологічними характеристиками. Ці властивості компенсують, а іноді доповнюють одна одну, забезпечуючи виживання бактерій в умовах несприятливих впливів. Між тим, метицилінрезистентні варіанти стафілококів у плівковій формі виявляють значно вищий рівень стійкості до меропенему, у порівнянні з метицилінчутливими варіантами.

**Ключові слова:** грампозитивні коки, антибіотикорезистентність, метицилінрезистентність, ванкоміцин, лінезолід, біоплівкоутворення.

## SUMMARY

*Dudar A. O.* Features of resistance formation of gram-positive cocci microflora to antibiotics and antiseptics. – Qualifying scientific work on the rights of the manuscript.

Dissertation for obtaining a degree of Doctor of Philosophy in the field of study 22 “Health Care”, in specialty 222 “Medicine”. – National Pirogov Memorial Medical University, Vinnytsya Ministry of Health of Ukraine, Vinnytsya, 2021.

The aim of the dissertation is to improve the effectiveness of prevention and treatment of nosocomial infections by local monitoring of the prevalence of gram-positive cocci included by the WHO on the grounds of antibiotic resistance in the group of “priority pathogens”, the research of their biological properties and patterns of forming of antimicrobial resistance.

The most common group of microorganisms of gram-positive cocci, which mostly belong to the normal microbiome of the human body and, at the same time, are the most common etiological factors of opportunistic infections, has been studied in the research. New data about the biological properties of opportunistic pathogens that colonize the surfaces of hospital objects and soft tissues of patients who have in patients who have been hospitalized for a long time in surgical departments. For the first time there have been substantiated the prospects of using the glycopeptide antibiotic vancomycin and a synthetic drug of a new chemical group of oxazolidinones – linezolid. The rate of formation of resistance under experimental conditions to vancomycin, linezolid and other antimicrobial agents in methicillin-resistant *S. aureus* in comparison with non-methicillin-resistant variants has been studied for the first time.

Because of a microbiological research in various hospitals of Vinnytsia region there were studied biological properties of 230 isolates of *Staphylococcus spp.* and 87 clinical strains of *Enterococcus spp.*, which had been isolated from patients with purulent-inflammatory injuries of soft tissues and from hospital surfaces. This has become the basis for further study of the species spectrum and biological properties of microorganisms that posed a potential threat to the spread of infectious complications.

The morphological, cultural and biochemical properties, species identification of isolated clinical strains of *Enterococcus spp.* was done. Due to species identification the prevalence of *E. faecalis* strains and a smaller number of

*E. faecium* isolates were determined. All studied in the research *E. faecium* strains were isolated from wounds, and 44 and from 72 stains of *E. faecalis* had been wound contaminants or cultures, isolated from urethral catheters, the rest of strains of were isolated from surfaces of hospital environment.

Susceptibility to antibiotics of clinical strains *S. epidermidis*(72), *S. haemoliticus* (57), *S. aureus* (49), *S. capitis* (31), *E. faecalis* (72), *E. faecium* (15) has been studied. There has been found the rate of sensitivity, the number of moderately stable and resistant isolates, which allowed a representative assessment of the effectiveness of antibiotics and antiseptics.

Based on the results, a generalized characteristic has been given of the level of resistance of the isolated strains of *S. aureus* (macrolides – 95.9%, ciprofloxacin – 81.6%, amikacin – 77.5%, oxacillin – 44.9%, etc.) and there has been proved the presence of strains with extended multiresistance (XDR), which circulated in hospital environment. Molecular genetic studies have established in full genome sequencing of isolated staphylococci strains carriage of 11 genes, determining resistance to antibiotics with different chemical structures. According to the results obtained, in all studied strains the presence of simultaneously 3-9 antibiotic-resistance genes for one or different antibiotics groups. That confirmed the phenotypic manifestations of multiple antibiotic resistance of most strains.

Studies, based on comparative evaluation, revealed that among 100% of the studied strains were carriers of the gene *blaZ*, encoding the production of beta-lactamases, which degrade penicillin. More than 90% of coagulase-positive and coagulase-negative staphylococcal strains were found as producers of aminoglycoside-adenyltransferases (*ant*), which inactivated streptomycin. More than half of clinical strains were carriers of genes, that cause the synthesis of aminoglycoside-acetyltransferases (*aas*) and aminoglycoside-phosphotransferases (*aph*), which destroy other aminoglycoside antibiotics. The presence of different genetic determinants of resistance to antibiotics – macrolides and tetracyclines (60 % - 92 %) in clinical strains of microorganisms has been proven. In the investigated clinical strains of *S. aureus* (50 %) and coagulase-negative

staphylococci (60 %), genetically determined resistance to chemotherapeutic drugs of the fluoroquinolone series was established.

Among the studied staphylococci, 30% of strains of this species of bacteria belonged to the priority ones according to WHO as methicillin-resistant *S. aureus*.

In a result of research multiple antibiotic resistance of *Enterococcus spp.* to cephalosporins (up to 90%), trimethoprim-sulfamethoxazole (87.2%), fluoroquinolones (up to 74.7%), aminoglycosides (63.2 %) has been presented. More than 90 % of the investigated strains of enterococci have been proved to be resistant to ceftriaxone due to the low permeability of cell envelopes for drugs of this group. In more than half of the studied clinical strains of *Enterococcus spp.* there has been detected the sensitivity to the antibiotic of carbapenem series – imipenem. Vancomycin-resistant variants were not detected among the selected enterococcal strains.

The results, received in the experimental research of the rate of formation of resistance to vancomycin and linezolid in clinical strains of staphylococci, including methicillin-resistant ones, has proved that resistance to these drugs is formed slowly. This allows us to predict the shelf life of clinical effectiveness of these drugs in the coming years. The same cannot be said about fluoroquinolone drugs, to which high concentrations of MRSA strains adapt very quickly.

In cases of topical treatment of purulent-inflammatory processes caused by *S. aureus* (*mec A* +), surfactant antiseptics as decamethoxine and chlorhexidine bigluconate are effective. After all, the concentrations of their working solutions are many times higher than minimum bactericidal concentrations for antibiotic-resistant strains of gram-positive cocci and even those of their variants that have passed the experimental procedure of artificial formation of resistance.

It has been experimentally proven that biofilm-forming ability and methicillin resistance in staphylococci are not interrelated biological characteristics. These properties compensate, and sometimes complement each other, ensuring the survival of bacteria in adverse conditions. However, methicillin-resistant variants of



staphylococci in film form show a significantly higher level of resistance to meropenem, compared with methicillin-sensitive variants.

**Key words:** gram-positive cocci, antibiotic resistance, methicillin-resistance, vancomycin, linezolid, biofilm-forming ability.

### Список публікацій здобувача за темою дисертації

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації

1. Вивчення дії антимікробних препаратів на адгезивні властивості бактерій / Д. В. Палій, О. В. Яцула, **А. О. Дудар**, І. В. Коваленко // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Вип. 2, Том. 3 (130). – С. 174-177. *(Авторка особисто дослідила вплив лікарських антимікробних препаратів на кокоподібні бактерії мікроорганізми).*

2. Обґрунтування ефективності комбінованого лікування бактеріальної виразки рогівки з використанням амніотичної оболонки / В. Г. Палій, С. В. Присяжна, О. Ю. Тарамбула, **А. О. Дудар** // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2016. – № 26. – С. 176-179. *(Авторка, провела ідентифікацію ряду бактерій, виділених з поверхні виразки рогівки, сформулювала висновки результатів мікробіологічного дослідження ефективності декаметоксину, підготувала матеріали до друку).*

3. Біологічна характеристика антимікробного засобу для ерадикації *Helicobacter pylori* / А. О. Новицький, В. В. Власенко, І. Г. Власенко, О. А. Назарчук, І. В. Коваленко, О. С. Барило, **А. О. Дудар** // Biomedical and biosocial anthropology. – 2016. – № 27. – С. 76-81. *(Авторкою досліджено антимікробні властивості антихелікобактерного засобу з вмістом антибіотика та антисептика).*

4. Антимікробні властивості антибіотиків, декаметоксину® та фторхінолонів / **А. О. Дудар**, Г. К. Палій, А. В. Кулик, С. В. Павлюк, Д. В. Палій // Biomedical and biosocial anthropology. – 2017. – № 29. – С. 58-62.

*(Авторка особисто провела пошук, аналіз літературних джерел, дослідила чутливість клінічних штамів бактерій до антибіотиків, антисептика декаметоксину).*

5. Протимікробні, фізико-хімічні властивості азотвмісних препаратів, похідних ментолу, хіноліну та фенолу / В. Г. Палій, І. Г. Палій, А. О. Дудар, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2018. – Т. 22, № 2. – С. 267-271. *(Авторкою проведено аналіз наукової літератури, прийнято участь у вивченні фізико-хімічних властивостей субстанції та розчинів декаметоксину).*

6. Характеристика резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів / Г. К. Палій, С. В. Павлюк, **А. О. Дудар**, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2018. – Т. 22, № 3. – С. 417-421. *(Особисто проведено літературний пошук поширення антибіотикорезистентності мікроорганізмів, досліджено чутливість до антисептика декаметоксину штамів стафілокока та кандид).*

7. The research of antibacterial properties of decamethoxin, decasan, horosten / H.K. Palii, **A.O. Dudar**, S.V. Pavliuk, O.A. Nazarchuk, D.V. Palii, A.V. Kulyk // Journal of Education, Health and Sport. – 2019. – Vol. 9, № 10. – P. 94-102. *(Здобувачка дослідила протимікробні властивості антисептиків на основі декаметоксину щодо бактерій).*

8. Дослідження впливу комбінованого застосування антисептика декаметоксину і фторхінолонів на клінічні штами *S.aureus* / О.А. Назарчук, С.В. Павлюк, Г.Г. Назарчук, В.М. Мруг, **А.О. Дудар**, Л.К. Сорокоумова // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2020. – Т. 24, №1. – С.80-83. *(Авторкою досліджено вплив антисептика декаметоксину та фторфінолонів на клінічні штами стафілококів).*

9. The prospects of finding new treatments for acne / A.V. Kryzhanovska, Y. Sidko., V.M. Shkarupa, **A. O. Dudar**, S.M. Gorbatyuk // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2020. – № 40. – С. 42-48. *(Авторкою досліджено*

*чутливість мікроорганізмів, які належать до кокових збудників гнійно-запальних уражень шкіри).*

10. Обґрунтування застосування антисептичних препаратів в системі профілактичних і лікувальних заходів (огляд літератури) / Г. К. Палій, С. В. Павлюк, Д. В. Палій, О. А. Назарчук, К. В. Агафонов, **А. О. Дудар** // Буковинський медичний вісник. – 2018. – Т. 22, № 4. – С. 138-146. *(Дисертант провела огляд літератури щодо сучасних даних чутливості клінічних штамів бактерій до антибіотиків, поверхнево-активних антисептиків).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

11. The research of the influence of antiseptics on microorganisms / D. Paliy, N. Zaderey, I. Kovalenko, O. Yatsula, **A. Dudar** // International scientific conference «Molecular microbiology and biotechnology», June 21<sup>st</sup> - 23<sup>rd</sup>. – Odessa, Ukraine, 2016. *(Авторка дослідила чутливість кокоподібних бактерій до декаметоксину, сформулювала висновки, підготувала матеріали до друку).*

12. Новітні підходи до вивчення, використання антисептичних препаратів / В. Г. Палій, **А. О. Дудар**, Д. В. Палій, С. В. Павлюк, О. В. Яцула // Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека : наук.-практ. конф., присвячена щорічним «Читанням» пам'яті акад. Л. В. Громашевського та 120-річчю ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського Національної академії медичних наук України», 12-13 жовт. 2016 р. : матеріали конф. – Київ, 2016. – С. 89-90. *(Авторка вивчила активність антисептичних препаратів на умовно-патогенні бактерії).*

13. До оптимізації використання антисептиків, фторхінолонів для лікування та профілактики у пацієнтів з гнійно-запальними процесами / **А. О. Дудар**, Н. В. Задерей, О. В. Яцула, С. В. Павлюк // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : І Міжнар. наук.-практ. конф., 30-31 берез. 2017 р. : матеріали конф. – Харків : НФУ, 2017. – С. 106-107. *(Авторка дослідила чутливість грампозитивних бактерій до фторхінолонів, сформулювала висновки, підготувала матеріали до друку).*

14. Дослідження чутливості клінічних штамів *Helicobacter pylori* до антибактеріальних препаратів / Д. В. Котков, **А. О. Дудар** // Матеріали XIV Міжнародної наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2017» – Вінниця, 26-28 квітня, 2017. – С. 47. *(Авторка сформулювала висновки, підготувала матеріали до друку).*

15. Вивчення дії антимікробних препаратів на збудників гнійно-запальних процесів очей / Г. К. Палій, **А. О. Дудар**, Н. В. Задерей, О. В. Яцула, С. В. Павлюк // Довкілля і здоров'я : наук.-практ. конф., 25 берез. 2017 р. : матеріали конф. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2017. – С. 200-201. *(Авторка провела ідентифікацію кокоподібних бактерій, одержаних з поверхні кон'юнктиви сформулювала висновки, підготувала матеріали до друку).*

16. Комбінована антибактеріальна дія антисептиків, антибіотиків та її роль в етіотропному лікуванні пацієнтів / **А. О. Дудар**, Д. В. Палій, С. В. Павлюк, Н. В. Задерей, О. В. Яцула, А. В. Кулик // Перспективи розвитку медичної науки і освіти : Всеукр. наук.-метод. конф., що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського Державного Університету, 16-17 листоп. 2017р. : тези доп. – Суми : СДУ, 2017. – С. 14. *(Дисертантка дослідила чутливість клінічних штамів кокових бактерій до антибіотиків, антисептиків).*

17. Протимікробні, фізико-хімічні властивості та формування в мікроорганізмів резистентності до лікарських препаратів на основі чотирьохвалентного азоту / Г. К. Палій, О. А. Назарчук, Д. В. Палій, С. В. Павлюк, О. В. Яцула, Н. В. Задерей, **А. О. Дудар**, А. В. Кулик // Сучасні проблеми антибіотикотерапії та формування антибіотикорезистентності : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 29 січ. 2018 р. : матеріали конф. – Чернівці : БДМУ, 2018. – С. 130-132. *(Авторка виконала дослідження протимікробної активності поверхнево-активних антисептиків на основі чотирьохвалентного азоту).*

18. Дослідження резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів / Г. К. Палій, С. В. Павлюк, А. О. Дудар, Д. В. Палій, А. В. Кулик //

European Biomedical Young Scientist Conference NMAPE : наук.-практ. конф. з міжнар. участю (до 100-річчя заснування НМАПО ім. П. Л. Щупика МОЗ України), 19-21 квітня 2018 р. : матеріали конф. – Київ, 2018. – С. 86-88. *(Авторка виконала частину досліджень з визначення чутливості клінічних штамів мікроорганізмів до антимікробних засобів, подала тези до друку).*

19. Дослідження механізму дії протимікробних засобів на стафілококи / Г. К. Палій, **А. О. Дудар**, Д. В. Палій, С. В. Павлюк, А. В. Кулик // Довкілля і здоров'я: наук.-практ. конф., 27-28 квіт. 2018 р. – Тернопіль, 2018. – С. 130-131. *(Дисертантка особисто провела дослідження чутливості ізолятів стафілококів до декаметоксину).*

20. Антистафілококові властивості антисептичних лікарських засобів з декаметоксином® / Д. В. Палій, С. В. Павлюк, **А. О. Дудар**, А. В. Кулик // «Актуальні питання сучасної мікробіології та імунології» присвячена 90-річчю акад. А.Я. Циганенко. – м. Харків, 2019. – С. 77-79. *(Дисертантка провела частину досліджень чутливості золотистого стафілокока до антисептиків, що містять декаметоксин).*

21. Дослідження формування резистентності стафілококів до антисептичних лікарських засобів / Г. К. Палій, Д. В. Палій, **А. О. Дудар**, С. В. Павлюк, А. В. Кулик // «Перший національний форум імунологів, алергологів, мікробіологів, паразитологів». – Харків, 2019. – С. 87-88. *(Авторка вивчила чутливість штамів золотистого стафілокока з резистентними властивостями до поверхнево-активних антисептиків).*

22. Швидкість формування стійкості метицилінрезистентних стафілококів до інших протимікробних засобів / **А. О. Дудар**, І. Ю. Сідько // Науково-практична міжнародна дистанційна конференція «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині», 26 березня 2021 року, м.Харків. – С. 61. *(Авторка провела мікробіологічні дослідження швидкості формування резистентності, сформулювала висновки).*

23. Протимікробна активність антисептичних засобів щодо провідних збудників інфекційних ускладнень у післяопераційному періоді/

О.А. Назарчук, Н.А. Багнюк, Ю.М. Бабіна, **А.О. Дудар** // International scientific and practical conference medicine and health care in modern society: topical issues and current aspects, 26-27 February 2021, Lublin Republic of Poland. – P. 227-230.

*(Авторка виконала мікробіологічні дослідження клінічних штамів грампозитивних бактерій, провела аналіз результатів, подала до друку).*

## ЗМІСТ

АНОТАЦІЯ.....	2
ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ.....	17
ВСТУП.....	18
РОЗДІЛ 1. СТІЙКІСТЬ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ ГРАМПОЗИТИВНИХ КОКІВ ТА ПРОТИМІКРОБНИХ ЗАСОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ).....	25
1.1. Біологічні властивості грампозитивних коків, що мають найбільше медичне значення.....	25
1.2. Механізми формування стійкості стафілококів і ентерококів до антибіотиків та антисептиків.....	37
РОЗДІЛ 2. МАТЕРІАЛИ МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕНЬ.....	55
2.1. Характеристика джерел і методів виділення та ідентифікації штамів бактерій, використаних у дослідженні.....	55
2.2. Методи визначення чутливості виділених мікроорганізмів до протимікробних засобів.....	57
2.3. Методи дослідження швидкості формування резистентності стафілококів до протимікробних засобів в штучних умовах.....	59
2.4. Методи виявлення у грампозитивних коків генів резистентності до антибіотиків.....	61
2.5. Методи дослідження плівкоутворюючої активності стафілококів.....	62
2.6. Математико-статистичні методи дослідження.....	63
РОЗДІЛ 3. ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ДОСЛІДЖЕНИХ ШТАМІВ ГРАМПОЗИТИВНИХ КОКІВ.....	65
3.1. Видовий склад грампозитивної кокової мікрофлори, виділеної у госпітальному середовищі.....	65

3.2. Характеристика чутливості досліджених штамів грампозитивних коків до антибіотиків.....	69
РОЗДІЛ 4. ШВИДКІСТЬ ФОРМУВАННЯ СТІЙКОСТІ СТАФІЛОКОКІВ ДО ПРОТИМІКРОБНИХ ЗАСОБІВ В ШТУЧНИХ УМОВАХ.....	78
4.1. Формування стійкості стафілококів до протимікробних препаратів, що застосовуються системно.....	79
4.2. Формування стійкості у стафілококів до антисептиків.....	83
РОЗДІЛ 5. БІОПЛІВКОУТВОРЮЮЧА АКТИВНІСТЬ МЕТИЦИЛІНРЕЗИСТЕНТНИХ S. AURES.....	91
АНАЛІЗ ТА УЗАГАЛЬНЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ.....	98
ВИСНОВКИ.....	110
СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ.....	113
ДОДАТОК А.....	133
ДОДАТОК Б.....	137
ДОДАТОК В.....	139



## ПЕРЕЛІК УМОВНИХ ПОЗНАЧЕНЬ, СКОРОЧЕНЬ І ТЕРМІНІВ

БцПлК – бактерицидна для плівкових форм концентрація

ВООЗ – Всесвітня організація охорони здоров'я

ВНМУ – Вінницький національний медичний університет ім. М. І.

Пирогова

ДДМ – диско-дифузійний метод

КУО – колонії утворюючі одиниці

МОЗ – Міністерство охорони здоров'я

МБсК (МФсК) – мінімальна бактериостатична (фунгістатична )

концентрація

МБцК (МФцК) – мінімальна бактерицидна (фунгіцидна)концентрація

МК – мінімальна інгібуюча концентрація

МПА – м'ясопептонний агар

МПБ – м'ясопептонний бульон

НДР - науково дослідна робота

НДДКР – науково-дослідні дослідно-конструкторські роботи

ПЗБ – пеніцилін зв'язуючий білок

ООН – Організація Об'єднаних Націй

ТСБ - триптон-соевий бульйон

MRSA – метицилінрезистентні стафілококи

MSSA – метицилінчутливі стафілококи

EUCAST – European Committee on Antimicrobial Susceptibility Testing /

Європейський комітет по визначенню чутливості мікроорганізмів

MDR - multidrug-resistant/ полірезистентні

XDR - extensively drug-resistant/ штами з розширеною резистентністю

«+» – наявність ознаки

«-» – відсутність ознаки

«+/-» – ознака варіабельна

## ВСТУП

**Актуальність теми.** Запальні ураження, обумовлені умовно-патогенними бактеріями, залишаються найпоширенішими захворюваннями людей, що несуть людству величезні соціально-економічні втрати. Значний відсоток подібних уражень, як це не парадоксально, пов'язаний і є наслідком надання медичної допомоги, адже, швидкий розвиток медицини, широке впровадження в медичну практику великої кількості інвазивних діагностичних і лікувальних методів, використання складної медичної апаратури призвели до появи нових резервуарів і шляхів передачі небезпечних госпітальних штамів мікроорганізмів. За оцінкою ВООЗ мікробні ускладнення реєструють у 7-15 % пацієнтів, госпіталізованих до лікувальних закладів [1-3].

Актуальність цієї проблеми у останні десятиріччя зросла до глобальних масштабів завдяки поширенню серед умовно-патогенних мікроорганізмів множинної антибіотикорезистентності. За думкою експертів ВООЗ, поширення антибіотикорезистентних варіантів бактерій у госпітальному середовищі має критичне значення і може перекреслити усі досягнення медицини останніх десятиріч. У підтвердження глобального значення цього явища говорить те, що питання координації заходів, націлених на боротьбу з ним, обговорювалось у вересні 2016 р. на сесії Генеральної Асамблеї ООН на рівні голів провідних держав світу [4].

У лютому 2017 р. ВООЗ опубліковано список стійких до дії антибіотиків «пріоритетних патогенів», що являють найбільшу загрозу для здоров'я людини. Список покликаний стати орієнтиром і стимулом для наукових досліджень і розробок способів подолання проблеми антибіотикорезистентності. До списку включено 12 видів бактерій, поділених на три рівні пріоритетності, у яких сформувалась стійкість до широкого ряду антибіотиків. Згідно цього списку до 2 категорії пріоритетності віднесені *S. aureus*, стійкі до метіциліну, та *E. faecium*, стійкі до ванкоміцину [5, 6].

В основі виникнення антибіотикорезистентності бактерій лежать загально біологічні механізми адаптації живих організмів до змін умов існування. Поява в популяції особин, здатних вижити в умовах несприятливого впливу, з наступною селекцією забезпечують еволюційний процес і збереження біологічного виду. Швидкість адаптивного процесу у різних видів коливається у широкому діапазоні. Стафілококи і ентерококи відомі високим адаптивним потенціалом, стійкістю до впливу несприятливих фізичних та хімічних чинників [7 - 10]. Однак потребує моніторингу поширення пріоритетних, згідно списку ВООЗ, варіантів грампозитивних коків в медичних закладах нашої країни та поглиблене вивчення закономірностей формування у них стійкості до протимікробних засобів.

**Зв'язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота виконана у відповідності з планами науково-дослідних робіт кафедри мікробіології, вірусології та імунології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова МОЗ України “Вивчення багатовекторності властивостей лікарського антимікробного препарату декаметоксину<sup>®</sup> та його лікарських форм” (№ державної реєстрації 0115U006000) та «Вивчення біологічних властивостей мікроорганізмів, віднесених Всесвітньою організацією охорони здоров'я до списку «провідних патогенів», що несуть загрозу здоров'ю людини та розробка засобів боротьби з ними» (№ держреєстрації 0117U006903). Автор є співвиконавцем фрагментів цих НДР, присвячених дослідженню біологічних властивостей мікроорганізмів, включених ВООЗ у групу «пріоритетних» та їх чутливості до антибіотиків та антисептиків.

**Мета наукового дослідження.** Підвищення ефективності профілактики та лікування госпітальних інфекцій шляхом локального моніторингу поширеності у лікувальних закладах грампозитивних коків, включених ВООЗ за ознаками антибіотикорезистентності у групу «пріоритетних патогенів», дослідження їх біологічних властивостей та закономірностей формування стійкості до протимікробних засобів.

**Завдання дослідження:**

1. Вивчити видовий спектр мікроорганізмів родів *Staphylococcus* та *Enterococcus*, що виділяються з поверхонь предметів лікарняного середовища та вмісту нагноєних ран лікувальних закладів м. Вінниці.

2. Шляхом визначення чутливості виділених лікарняних штамів до антибіотиків дослідити поширеність у лікарняних закладах грампозитивних коків, віднесених ВООЗ до «пріоритетних патогенів», що несуть найбільшу загрозу здоров'ю людей.

3. Дослідити спектр генетичних детермінант стійкості до антибіотиків, наявних у виділених лікарняних штамів грампозитивних коків, та питому вагу метицилінрезистентних штамів стафілококів і ванкоміцинрезистентних штамів ентерококів серед них.

4. Встановити можливі взаємозв'язки між плівкоутворюючою активністю та метицилінрезистентністю стафілококів, визначити рівень стійкості до  $\beta$ -лактамних антибіотиків плівкових форм мікроорганізмів цього виду.

5. Вивчити швидкість формування резистентності до препаратів фторхінолонового ряду, ванкоміцину та лінезоліду, декаметоксину, і біглюконату хлоргексидину у метицилінчутливих і метицилінрезистентних штамів стафілококів.

6. На підставі результатів проведених досліджень визначити можливості прогнозування клінічної ефективності препаратів, що використовуються для боротьби з грампозитивними коками, віднесеними ВООЗ до «пріоритетних патогенів», що несуть загрозу здоров'ю людей.

**Об'єкт досліджень** - стійкість мікроорганізмів родів *Staphylococcus* та *Enterococcus* до антибіотиків та антисептиків.

**Предмет досліджень** - біологічні властивості стафіло- і ентерококів, стійкість до антибіотиків та антисептиків, генетичні детермінанти антибіотикорезистентності, швидкість формування стійкості до антибіотиків і антисептиків, біоплівкоутворення грампозитивними коками.

**Методи досліджень:** мікробіологічні, фізичні (спектрофотометрія), молекулярно-генетичні, статистичні.

**Наукова новизна одержаних результатів.** В дисертаційній роботі викладені оригінальні дані результатів наукових досліджень антибіотикорезистентності грампозитивних коків родів *Staphylococcus* та *Enterococcus*, поширених у лікарняному середовищі м. Вінниці.

Дисертантом доповнені дані щодо видового спектру та поширеності стійких до часто вживаних в клінічній практиці антибіотиків, метициліну та ванкоміцину штамів стафілококів та ентерококів, визначено спектр генетичних детермінант резистентності, носіями яких вони є.

Вперше проведено порівняльне дослідження чутливості метицилінрезистентних та метицилінчутливих стафілококів до поверхнево-активних антисептиків.

Вперше проведені експериментальні порівняльні дослідження швидкості формування стійкості метицилінрезистентних та метицилінчутливих стафілококів до левофлоксацину, ванкоміцину, лінезоліду, декаметоксину, біглюконату хлоргексидину, доведено низьку адаптивну здатність метицилінрезистентних стафілококів до лінезоліду та поверхнево-активних антисептиків.

Вперше проведено порівняльне дослідження плівкоутворюючої активності метицилінрезистентних та метицилінчутливих стафілококів, зроблено спробу аналізу взаємозв'язків між метицилінрезистентністю та здатністю до біоплівкоутворення.

**Практичне значення дисертаційного дослідження.** Результати дисертаційного дослідження є внеском у об'єктивну оцінку епідеміологічної ситуації щодо поширення у лікарняному середовищі на нашій території бактерій, що включені у список ВООЗ «пріоритетних патогенів», які несуть найбільшу загрозу здоров'ю людей.

Результати моніторингу рівня антибіотикорезистентності, дослідження генетичних детермінант механізмів стійкості до антибіотиків та швидкості

формування стійкості до окремих протимікробних препаратів можуть бути основою для прогнозу збереження клінічної ефективності засобами, які на сьогодні вважаються препаратами резерву.

Одержані порівняльні дані щодо чутливості планктонних та плівкових форм метицилінрезистентних штамів стафілококів до дії декаметоксину і біглюконату хлоргекидину допоможуть оптимальному вибору практичними лікарями тактики топічного лікування інфекційних процесів стафілококової етіології.

Матеріали дисертаційних досліджень використовуються в лекційному курсі та при проведенні практичних занять на кафедрах мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова; мікробіології, вірусології, імунології та епідеміології Дніпровського державного медичного університету; мікробіології, вірусології та імунології імені професора Д. П. Гриньова Харківського національного медичного університету; мікробіології та вірусології Буковинського державного медичного університету, мікробіології, вірусології та імунології ДВНЗ “Тернопільський національний медичний університет імені І.Я. Горбачевського МОЗ України”.

**Особистий внесок здобувача.** Автор самостійно провів патентно-інформаційний пошук, проаналізував та узагальнив наявні дані наукової літератури за темою дисертації, за участю наукового керівника сформулював мету і завдання, визначив алгоритм виконання польових та експериментальних досліджень.

Особисто дисертантом проведено виділення та ідентифікацію чистих культур мікроорганізмів, визначення чутливості до антибіотиків та плівкоутворюючу активність досліджуваних штамів. Увесь комплекс досліджень по вивченню швидкості формування резистентності стафілококами до протимікробних препаратів дисертантом виконано власноруч.

Автором відібрано та підготовлено культури для відправки на молекулярно-генетичні дослідження. Молекулярно-генетичні дослідження виконані в Інституті досліджень центру Волтера Ріда (США) в рамках «Згоди на подальший розвиток співробітництва та передачу матеріалів під час спільного дослідження» № W81XWH-17-0315 між Вінницьким національним медичним університетом ім. М. І. Пирогова та Інститутом досліджень центру Волтера Ріда. Аналіз, одержаних результатів, молекулярно-генетичних досліджень автором проведено самостійно.

Дисертантом самостійно узагальнено результати експериментальних досліджень, сформульовано висновки, підготовлено матеріали для публікацій, власноруч написано усі розділи дисертаційної роботи.

**Апробація результатів дисертації.** Основні наукові положення дисертації було представлено, обговорено та позитивно оцінено на науково-практичній конференції з міжнародною участю «Інфекційні хвороби сучасності. Біологічна безпека та біозахист, присвяченої пам'яті академіка Л. В. Громашевського та 120-річчю ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського НАМН України (Київ, 2016); Всеукраїнських науково-практичних конференціях з міжнародною участю «Довкілля і здоров'я» (Тернопіль, ТДМУ, 2017; 2018; 2019); Першій міжнародній науково-практичній конференції «Ліки-людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів (Харків, 2017); XIV міжнародній конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2017» ВНМУ ім. М. І. Пирогова (Вінниця, 2017); Всеукраїнській науково-методичній конференції «Перспективи розвитку медичної науки і освіти» (Суми, 2017); науково-практичній конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми антибіотикотерапії та формування антибіотикорезистентності» (Чернівці, 2018); науково-практичних конференціях з міжнародною участю «European Biomedical Young Scientist Conference NMAPE» (Київ, 2018); «Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів» (Вінниця, 2016, 2018); Першому національному

форумі імунологів, мікробіологів, паразитологів (Харків, 2019); Всеукраїнській науково-практичній конференції з міжнародною участю «Актуальні питання сучасної мікробіології та імунології, присвяченої 90-річчю академіка А. Я. Циганенка (Харків, 2019).

**Публікації.** За темою дисертації опубліковано 23 наукових робіт. Серед них 10 статей опубліковані у наукових фахових виданнях України (в т.ч. 2 статті у наукових фахових журналах країни ЄС), 13 тез у матеріалах міжнародних та всеукраїнських науково-практичних конференцій.

**Обсяг та структура дисертації.** Робота викладена українською мовою на 143 сторінках комп'ютерного тексту, складається з анотації, вступу, огляду літератури, розділу матеріалів і методів досліджень, 3 розділів власних досліджень, аналізу та узагальнення результатів, висновків, списку використаної літератури, що включає 152 найменувань (59 джерел латиницею та 93 кирилицею), додатків. Робота ілюстрована 5 таблицями та 12 рисунками.



## РОЗДІЛ 1

### СТІЙКІСТЬ УМОВНО-ПАТОГЕННИХ ГРАМПОЗИТИВНИХ КОКІВ ТА ПРОТИМІКРОБНИХ ЗАСОБІВ (ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ)

Досягнення сучасної медицини у діагностиці та лікуванні захворювань зумовили істотне зростання кількості одужань пацієнтів із хворобами, які до недавнього часу вважались невиліковними. Однак, в царині захворювань мікробної етіології прогрес медицини вплинув не стільки на їх поширеність, скільки на перелік небезпечних для здоров'я людини збудників. На зміну збудникам особливо небезпечних інфекцій, що обумовлюють важкі хвороби з швидким охопленням великих людських мас, прийшли мікроби-опортуністи, які, на перший погляд, не несуть у собі великої небезпеки, однак, в сучасній реальності завдають людству значних щоденних втрат. Серед таких мікроорганізмів найпоширенішу групу складають грампозитивні коки, які, у більшості, належать до нормального мікробіому організму людини і, водночас, є найбільш частими етіологічними чинниками опортуністичних інфекцій [1-2].

1.1. Біологічні властивості грампозитивних коків, що мають найбільше медичне значення

Грампозитивні коки є різноманітною групою аеробних і факультативно-анаеробних бактерій, яких об'єднує декілька спільних біологічних характеристик, а саме: їх клітини мають сферичну форму, позитивно забарвлюються за методом Грама, не утворюють спор, не рухливі. Найбільше медичне значення мають представники двох родин: *Micrococcaceae* та *Streptococcaceae*. Основними ознаками для їх диференціації є наявність цитохромів та каталазна активність. Здатність обумовлювати розвиток запальних процесів у людей виявляють представники родів

*Staphylococcus*, *Micrococcus*, *Stomatococcus*, що належать до родини *Micrococcaceae*, та окремі представники родів *Streptococcus*, *Enterococcus*, *Aerococcus*, *Leuconostoc*, *Pediococcus*, *Lactococcus*, які включені у родину *Streptococcaceae*.

Рід *Staphylococcus* об'єднує понад 40 видів бактерій. Вони, як правило колонізують шкіру, слизові оболонки. Стафілококи стійкі до висушування, високих концентрацій хлориду натрію. Можуть тривалий час виживати на предметах оточуючого середовища, у воді, продуктах харчування [11,12]. У препаратах із чистих культур скупчуються у полі зору у вигляді грона винограду, а у мазках із патологічного матеріалу – невеликими скупченнями, поодинокі чи парами. Стафілококи невибагливі до умов культивування. На поверхні щільного поживного середовища мікроорганізми утворюють округлі колонії з гладенькою поверхнею, часто пігментовані. Стафілококи за здатністю продукувати позаклітинний фермент плазмокоагулазу поділяють на коагулазопозитивні та коагулазонегативні. До першої групи належать *S.aureus*, *S.intermedius*, *S.hyicus*. Коагулазонегативні стафілококи колонізують шкіру та слизові оболонки людини. Найчастіше до біотопів людини належать *S.epidermidis*, *S.capitis*, *S.cohni*, *S.haemolyticus*, *S.hominis*, *S.lentus*, *S.saprophyticus*, *S.scheiferei*, *S.simulans*, *S.warneri*, *S.xylosus* [13, 14].

Золотисті стафілококи виявляються на слизовій оболонці порожнини носа 30 % здорових людей і вважаються представниками нормальної мікробіоти цього та інших локусів організму. Однак, високий відсоток «здорового» носійства цього виду бактерій ніяк не свідчить про їх низький патогенний потенціал, а лише збільшує небезпеку зростання частоти стафілококових уражень. Адаже при виникненні пошкоджень шкіри, слизових оболонок, м'яких тканин (травми, ділянки хірургічного втручання) ці мікроорганізми одними з перших колонізують рановий локус. Стафілококи визначають як збудників запального процесу у 80-90 % випадків при гнійничкових інфекціях шкіри та м'яких тканин ( імпетіго, фурункули, флегмони). Часто стафілококи є причиною інфекцій кровотоку, сечовидільних

шляхів. Понад 90 % випадків гострого лактаційного маститу теж обумовлені стафілококами. Загалом стафілококи здатні вражати майже усі тканини людського організму, а кількість нозоологічних форм стафілококової етіології складає близько 120 [10]. Результати дослідження етіологічної структури збудників інфекцій в області хірургічних втручань показали, що 57,4 % штамів мікроорганізмів, ізольованих з виділень післяопераційних хірургічних ран, склали мікроорганізми, які належали до родин *Micrococcaceae* та *Streptococcaceae*. Бактерії роду *Micrococcus* були представлені родами *Staphylococcus* та *Micrococcus* (87,7 % від всіх грампозитивних мікроорганізмів). Переважну роль відігравали стафілококи, з яких 30 - 78 % ідентифіковано як *S. aureus*. На другому місці реєструють коагулазонегативні стафілококи, які представлені переважно видом *S. epidermidis* (11,7 %). Це підтверджує існуючу в останні роки небезпечну тенденцію щодо зростання ролі коагулазонегативних стафілококів у виникненні післяопераційних захворювань [15-17].

На кожному етапі розвитку стафілококової інфекції реалізуються певні фактори вірулентності, які за функціональним принципом поділяють на декілька груп. Фактори адгезії детермінують процес прикріплення стафілококів до біологічних (клітини, тканини) та штучних поверхонь (ендотрахеальні трубки, катетери тощо). До них належать мікрокапсула, тейхоеві кислоти, пептидоглікан та білок А клітинної стінки. Останній здатний реагувати з IgG. Комплекс білок А+IgG інактивує комплемент, знижує фагоцитоз, викликає ушкодження тромбоцитів. Стафілококи мають специфічний  $Ca^{2+}$ , який відповідає за взаємодію з карбогідратним компонентом назального та бронхіального муцину верхніх дихальних шляхів. Клампінг-фактор *S. aureus* є рецептором для фібриногену, що забезпечує його адгезію до ендотеліальних клітин і, таким чином, бере участь в пошкодженні судин і патогенезі ендокардиту [18].

Фактори міжбактеріальної взаємодії (антагонізму) відповідальні за збереження бактерій на поверхні зовнішніх покривів, відкритих порожнин

організму при взаємодії з представниками нормальної мікрофлори. Їх поділяють на бактеріолізینی (лізостафін), бактеріоцини, феромони (регулюють щільність бактеріальної популяції). Фактори інвазії забезпечують стафілококам можливість проникнення у внутрішнє середовище організму. До них належать гіалуронідаза, нейрамідідаза, фібринолізин, лецитиназа. Фактори альтерації – гістопошкоджуючі субстанції, які спричиняють деградацію молекул і клітин макроорганізму. Вони представлені ферментами (протеази, ліпази, нуклеази), які руйнують біологічні макромолекули, та цитолізінами ( $\alpha$ -,  $\beta$ -,  $\gamma$ -,  $\delta$ -лізини) з мембранопошкоджуючими властивостями.  $\alpha$ -токсин має найбільше значення, його часто виявляють у клінічних штамах стафілококів. Він взаємодіє з клітинною мембраною та викликає руйнування ендотеліоцитів, поліморфноядерних лейкоцитів, фібробластів, гепатоцитів.  $\beta$ -Токсин (сфінгомеліназа) пригнічує хемотаксис поліморфноядерних лейкоцитів.  $\gamma$ -Токсин – двокомпонентний гемолізін із помірною активністю щодо еритроцитів людини.  $\delta$ -Токсин – комплекс низькомолекулярних сполук, які зумовлюють цитотоксичність широкого спектру. Екзотоксини стафілококів діють на метаболізм еукаріотичних клітин через специфічні рецептори. Ексфолатини А і В руйнують міжклітинні контакти в епідермісі, що призводить до відшарування поверхневих структур епідермісу (ексфоціації) і утворення пухирів та виразок з утворенням синдрому «обпеченої шкіри» найчастіше у новонароджених та дітей молодшого віку.

Токсин синдрому токсичного шоку (TSST-1) інгібує всмоктування води, активуючи синтез цАМФ, що призводить до розвитку діареї та токсичного шоку у дорослих. Лейкоцидин Пантона-Валентайна проявляє дермонекротичну дію та цитотоксичну дію щодо лейкоцитів. Епідеміологічні дані, отримані в різних країнах, пов'язують виникнення некротичної пневмонії, ускладнені інфекції шкіри та м'яких тканин з продукцією лейкоцидину метицилінрезистентними стафілококами.

Стафілококи можуть утворювати гістотоксини, до яких належать ентеротоксини, що спричиняють харчове отруєння. Ентеротоксини є

суперантигенами, які зумовлюють поліклональну стимуляцію Т-лімфоцитів із подальшою гіперсекрецією цитокінів та вторинною інтоксикацією. Ентеротоксини характеризуються високою термостабільністю (витримують кип'ятіння) і стійкістю до протеолітичних ферментів. Відомо 6 ентеротоксинів (А, В, С, D, Е, F), які розрізняють за антигенними властивостями. Фактори імунорезистентності забезпечують можливість виживання стафілококів при дії імунних факторів. Завдяки цим факторам стафілококи здатні тривалий час (персистувати) у клітинах і тканинах організму. Антилізоцимна активність (АЛІА) сприяє інактивації лізоциму клітин і тканин; антиінтерференова активність (АІА) пригнічує антибактеріальну дію інтерферону, антикомплемтарна активність (АКА) специфічно інактивує систему комплементу, антикарнозинова активність (АКрА) пригнічує дію карнозину - регулятора регенераційних та імунних реакцій, антилактоферінова активність (АЛфА) – інактивує лактоферон - регулятор метаболізму заліза в організмі; антигемоглобінова активність (АНбА) пригнічує основну функцію гемоглобіну - зв'язувати кисень [19-22].

Коагулазонегативні стафілококи тривалий час перебували поза увагою клініцистів та мікробіологів і не вважались збудниками захворювань. Але через низку факторів (зниження природного імунітету, погіршення екологічної ситуації в більшості країн), з'явилися повідомлення про випадки гнійно-септичних уражень тканин і органів, спричинених коагулазонегативними стафілококами. Понад 20 років тому у 16 країнах Європи і Канаді було проведене багатоцентрове дослідження збудників позалікарняних інфекцій сечовидільних шляхів, результати якого показали, що *S. saprophyticus* є третім за частотою виділення збудником захворювання і виділяється більш ніж у 3 % пацієнтів [ 23].

Особливе значення коагулазонегативні стафілококи мають у якості збудників внутрішньолікарняних інфекцій. Результатами чисельних багатоцентрових рандомізованих досліджень доведена перевага стафілококів в етіологічній структурі госпітальних інфекцій [24-27].

Джерелами інфекції у лікарняних установах є пацієнти та медичний персонал, які є носіями, хворими стертими або маніфестними формами патології [28]. За даними досліджень науковців Дніпровського національного університету встановлено, що 62 % обстежуваних були носіями стафілококів, серед яких 65 % становили штами *S. aureus*, 30 % - *S. epidermidis*, 5% - *S. saprophiticus*. Вивчення основних біологічних властивостей бактерій роду *Staphylococcus* показало, що для штамів *S. aureus* було характерне утворення лецитинази (46,9%), ліпази (69,2%), плазмокоагулази (100%) та гемолізинів (84,6%). У штамів *S. epidermidis*, *S. saprophiticus* виявлена здатні до утворення лецитинази, ліпази. Отримані результати вказують на те, що виділені при хронічному носійстві штами володіють більш вираженим проявом факторів вірулентності. Аналіз антибіотикограм чутливості виділених ізолятів показав, що найбільшою протистафілококову дію мають фторхінолони [9].

У структурі нозокоміальних інфекцій здебільшого виявляють *S. lentus* (22 %), *S. haemolyticus* (3,5 %), *S. simulans*, *S. lugdunensis*. *S. lentus* має меншу вірулентність порівняно із *S. aureus*, але проявляє вищу стійкість до антибіотиків. *S. lugdunensis* виявляється у частини людей (близько 10%) як сапрофіт, що колонізує слизову носа, але може спричинювати опортуністичні інфекції. *S. simulans* належить до нормальної мікрофлори шкіри. Означені представники роду *Staphylococcus* є небезпечними для осіб із зниженою резистентністю. (Видовий профіль мікробних чинників нозокоміальних інфекцій [29 - 30]. На швидкість розповсюдження госпітальних штамів впливає тривалість перебування пацієнтів у стаціонарах, особливо в палатах інтенсивної терапії. Тривала катетеризація сечового міхура, центральних вен, інкубація створюють вхідні ворота для мікроорганізмів. Національна система контролю нозокоміальних інфекцій опублікувала дані щодо госпітальних інфекцій, які найчастіше виявляють у багатопрофільних стаціонарах. Більшість випадків (40 %) складають інфекції, які виникають при використанні полімерних виробів медичного призначення для катетеризації сечового міхура. Друге місце (25 %) складають післяопераційні гнійно-

запальні ускладнення у ділянці операційної рани. Однакову кількість (по 10 %) складають вентилятор асоційовані інфекції і катетерасоційовані інфекції центральних вен. Етіологічним чинником ангиогенних інфекцій, ураження шкіри, м'яких тканин, сечової системи частіше стають грампозитивні бактерії. При судинних інфекціях лідирують коагулазонегативні стафілококи (31 %), інфекціях сечових шляхів – *Enterococcus spp.* (16 %), пневмоніях – *S. aureus* (19 %) [31-32]. Значення коагулазонегативних стафілококів як основних збудників інфекції зумовлено частим використанням імплантатів, внутрішньосудинних катетерів, канюль, серцевих клапанів, штучних суглобів, а також збільшенням кількості пацієнтів зі зниженим рівнем імунного захисту (недоношені новонароджені, онкохворі). Вони найчастіше спричиняють протезний клапанний ендокардит, менінгіт у нейрохірургічних пацієнтів при спинномозковій пункції, перитоніт при постійному амбулаторному перитонеальному діалізі, інфекції кровоносної системи у пацієнтів із імунодефіцитами. Коагулазонегативні стафілококи у відділеннях інтенсивної терапії при застосуванні медичних виробів можуть спричинити септичний шок. *S. epidermidis* зумовлює адгезію до імплантатів за допомогою міжклітинного екзополісахариду, що призводить до формування біоплівки. Біоплівка захищає мікроорганізм від дії імунних факторів, обмежує проникнення антибіотиків, що призводить до неефективного лікування ними. *S. saprophyticus* має унікальний білок адгезії до епітеліальних клітин уретри жінок репродуктивного віку. *S. lugdunensis* здатний продукувати термостабільну ДНКазу, ліпазу, гемолізину. Їх властивості є аналогічними властивостям подібних ферментів *S. aureus* [10]. Частка *Enterococcus spp.* серед збудників госпітальних інфекцій досягає 6 %. Вважають, що ентерококи є найбільш розповсюдженими бактеріями після стафілококів в структурі бактеріальних нозокоміальних інфекцій. Рід *Enterococcus* об'єднує 28 видів, з числа яких найбільше медичне значення мають *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium*, *E. dispar*. Ентерококи є грампозитивними неспороутворюючими безкапсульними овальними бактеріями, які на рідкому середовищі утворюють

пари, або короткі ланцюжки. До 1984 року вони належали до групи D стрептококів. Однак в сучасній номенклатурі їх віднесено до окремого роду *Enterococcus*, оскільки вони містять спільний груповий антиген гліцеринтейхоєву кислоту, яка складається із D-аланіна і глюкози. Вирощують ентерококи на кров'яному агарі, де вони спричиняють  $\alpha$ - або  $\beta$ -гемолізу, а також на середовищах із 6,5 % хлориду натрію.

Ентерококи широко розповсюджені в природі. Висока стійкість дозволяє їм заселяти ґрунт, воду, рослин, харчові продукти. Мікроорганізми належать до нормальної мікрофлори травного тракту людини і тварин. В процесі еволюції ентерококи розвивалися як високо адаптовані її члени і отримали низку переваг перед іншими бактеріями, завдяки розвитку складних метаболічних процесів. Ентерококи разом з іншими молочнокислими бактеріями колонізують шлунково-кишковий тракт і проявляють позитивний вплив на макроорганізм. Вони забезпечують колонізаційну резистентність слизових оболонок, беруть участь у в метаболічних процесах травлення, стимулюють роботу імунної системи. *E. faecalis* входить до складу нормальної мікрофлори кишківника 90 % дорослих, біля 50 % дітей першого року життя. Бактерії володіють природною резистентністю до впливу фізико-хімічних факторів, здатні сприймати, накопичувати позахромосомний генетичний матеріал, що кодує стійкість до антибіотиків. Вказані біологічні властивості забезпечують виживання ентерококів в стресових умовах навколишнього середовища і в біотопах організму людини. Кількість ентерококів у кишківнику людини в нормі складає  $10^6$ - $10^8$  бактерій в одному грамі фекалій. Але при перевищенні цієї кількості ентерококи здатні потрапляти в мезентеріальні лімфатичні вузли, а потім в кров. Це призводить до інфікування паренхіматозних органів з розвитком сепсису, перитоніту, пієлонефриту [33]. Бактерії роду *Enterococcus* синтезують низку факторів вірулентності, на підставі чого вони належать до умовно-патогенних мікроорганізмів. До факторів вірулентності належать адгезини, цитолітичний (зокрема гемолітичний) токсин білкової природи, що володіє також властивостями



бактеріоцину; протеаза, субстанція агрегації, протеолітичні ферменти (желатиназу, казеїназу, колагеназу, еластазу), які сприяють міжклітинному поширенню бактерій в організмі хазяїна. Протеаза ентерококів кодується *agr*-геном. Штами ентерококів, які несуть цей ген, мають високу вірулентність. Протеаза ентерококів частіше виявляється у штамів, ізолюваних із клінічного матеріалу, ніж від здорових осіб. Вважають, що деякі фактори вірулентності бактерій забезпечують їх існування у властивому їм біотопі, і не пов'язані безпосередньо з пошкодженням тканин хазяїна або пригніченням системи імунітету. Так, адгезини життєво необхідні для нормальної колонізації ентерококів у шлунково-кишковому тракті, а гідролаза жовчних кислот підвищує їх шанси вижити в дванадцятипалій кишці [34]. Зростання ролі видів *Enterococcus spp.* у виникненні гнійно-септичних процесів та нозокоміальних інфекцій залежить від декількох причин, основною з яких є некоректне застосування антибіотиків, які переважно діють на грамнегативні бактерії. Це сприяє вибіркового заселенню слизових оболонок штамми ентерококів з множинною резистентністю до антибіотиків. Особливо небезпечною є така ситуація у хворих із дефектами протиінфекційного захисту, захворюваннями сечовивідних шляхів, інтраабдомінальними, ангіогенними інфекціями. Є дані про виділення клінічних штамів від пацієнтів з пульмонологічними захворюваннями, інфекціями кісток, лор-органів, нервової системи. Описані випадки виникнення госпітального менінгіту ентерококової етіології після нейрохірургічного втручання при гострому порушенні мозкового кровообігу у 55 % пацієнтів, пухлин мозку (25 %), черепно-мозкових травм (15 %), гідроцефалії (5 %) [35].

До особливостей ентерококів – збудників госпітальних інфекцій відносять переважне ураження ними літніх пацієнтів. Цей факт пояснюють частотою катетеризації сечового міхура та оперативних втручань в області черевної порожнини. Порівняно з грамнегативними бактеріями ентерококи стійкіші у зовнішньому середовищі, особливо до висушування і високих температур. Так, у Німеччині для контролю ефективності дезінфекції,

обробки білизни тощо, як тест-мікроорганізм використовують *Enterococcus faecium* [36]. Катетер-асоційовані інфекції сечовивідних шляхів посідають друге місце у структурі внутрішньолікарняних інфекцій. В останні роки при подібних патологічних процесах збільшується частота виділення видів роду *Enterococcus*, серед яких найчастіше ідентифікують *E. faecalis*, *E. faecium*, *E. avium*. Переважна кількість штамів ентерококів виділяється у монокультурі. Мікроорганізми володіють полірезистентністю до антимікробних препаратів, високою адгезивністю, що дозволяє їм тривалий час циркулювати в стаціонарах, які важко піддаються лікуванню. Дослідження чутливості до антимікробних препаратів ізолятів ентерококів, показало, що за останні роки рівень їх резистентності до ампіциліну, левофлоксацину, ципрофлоксацину, нітрофурантоїну суттєво змінився в сторону збільшення стійкості. Найбільшу чутливість проявляють ентерококи до глікопептидів – ванкоміцину і тейкопланіну. Але виділення в 2009 році перших стійких до ванкоміцину штамів ентерококів з типом резистентності Van-A свідчить про негативні тенденції у розвитку стійкості цих мікроорганізмів. Адже глікопептидні антибіотики є препаратами резерву при лікуванні важких форм гнійно-запальних захворювань ентерококової і стафілококової етіології [37]. Аналіз етіологічного спектру збудників неускладненої інфекції сечової системи у жінок протягом десяти років продемонстрував суттєве збільшення грампозитивних мікроорганізмів, на долю яких припадає 40% випадків. Серед них у 21,6% пацієнток ідентифікували представники *Enterococcus spp.* Провідними видами були *E. faecalis* (80,5%) жінок, *E. faecium* (19,5%) хворих. Серед решти грампозитивної флори переважали стафілококи (12,4%), а саме, *S. epidermidis* (4,2%), *S. saprophyticus* (3,7%), *S. haemolyticus* (3,2%), та *S. aureus* (1,3%). *Streptococcus spp.* виділено у 3,7% хворих. Більшість мікроорганізмів було виділено у монокультурі (80%). За десять років відбулося достовірне зростання резистентності зазначених збудників до ко-тримоксазолу, хінолонів/фторхінолонів, цефалоспоринів III генерації, пеніцилінів та карбапенемів [38]. Вивчення значення представників роду *Enterococcus spp.* у

виникненні важкої інтраабдомінальної інфекції встановило їх широке розповсюдження серед пацієнтів – до 5 % усіх випадків. Цей факт має безпосередньо залежить від резистентності ентерококів до антимікробних препаратів, які найчастіше використовують для лікування хворих. Ентерококи володіють природною резистентністю до цефалоспоринів, здатні формувати стійкість практично до пеніциліні, аміноглікозидів і глікопептидів. Результати дослідження показали, що 37 % виділених штамів були стійкими до пеніциліну (ампіциліну), майже 58 % - до гентаміцину, біля 50 % - до стрептоміцину. До фторхінолонів (ципрофлоксацину) резистентними були 79 % виділених клінічних штамів. Стійкість до хлорамфеніколу становила 47 %. Позитивні результати були отримані щодо чутливості бактерій до оксазолідинонів. Сприйнятливими ентерококів до лінезоліду сягала 100 %. До глікопептидів (ванкоміцин) чутливими були 89,1 % ізолятів [39]. Однією з причин розвитку нозокоміальної інфекції у хворих ортопедичних і травматологічних стаціонарів є використання металевих пристроїв внутрішньої фіксації в разі проведення остеосинтезу. За даними літературних джерел, етіологічним фактором екзогенних остеомієлітів у 30–61 % випадків є коагулазопозитивні стафілококи, у 33 % — коагулазонегативні, у 19 % - представники роду *Enterococcus*. Було встановлено, що штами *Staphylococcus aureus*, які виділяють у хворих на остеомієліт, експресують різноманітні адгезини, що спричиняють розвиток інфекційного процесу. Білки-адгезини FnBPA та FnBPB забезпечують прилипання стафілококів до фібронектину кісткової матриці та поверхні імплантатів, вкритих плазматичними білками. Від 38 % до 58 % ізолятів *S. aureus*, пов'язаних із кістковою інфекцією, експресують колагензв'язувальний адгезин (Cna), який у сукупності з кістковим сіалопротейновим зв'язувальним білком (Bbp) взаємодіє з кістковим сіалопротейном (BSP), найважливішим компонентом кісткового позаклітинного матриксу. Утворення адгезинів стафілококами відповідає за утворення біоплівки, що знижує життєздатність остеобластів, репарацію кісткової тканини та спричинює розвиток запального процесу. Не менш

важливе значення відіграють стафілококи й ентерококи в розвитку стернальної інфекції в кардіохірургічній практиці. За даними літератури, від пацієнтів зі стернальною інфекцією в 43–64 % випадків виділяють коагулазонегативні види стафілококів, у 26 % — золотистий стафілокок [40].

Аналіз результатів вивчення видового спектру ентерококів у пацієнтів з нейрохірургічною патологією (діти і дорослі з гідроцефалією, пухлинами мозку, гострим порушенням мозкового кровообігу) показав, що у 48 % випадків домінуючим видом є *E. faecium*. Нозокоміальні штами *E. faecalis* виділяли із організму 15 % пацієнтів. Значно рідше (1%) виявляли види *E. raffinosus*, *E. durans*, *E. cecorum*. Від хворих з неускладненими запальними процесами в ранній (до 5 діб) післяопераційний чи посттравматичний період виділяли біля 92 % ізолятів *E. faecalis*, серед яких 8 % належали до ампіцилінорезистентних штамів. Від пацієнтів з ускладненими запальними процесами ентерокової етіології у пізній післяопераційний період ізолювали понад 81 % штамів *E. faecium*, серед яких 90 % були стійкі до ампіциліну. Це обумовлено наявністю у *E. faecium* пеніцилінзв'язуючого білка-5 (ПЗБ-5) із зниженою афінністю до  $\beta$ -лактамів. У випадку інгібування інших пеніцилінзв'язуючих цей білок не втрачає своєї функції і продовжує здійснювати синтез пептидоглікану. Наявністю цього білка пояснює стійкість ентерококів до цефалоспоринів і незначну чутливість до карбопенемів [41].

Штами *E. faecalis* синтезують ПЗБ-5 в значно меншій кількості, що забезпечує їх вищу чутливість до ампіциліну. Автори відзначають різну чутливість клінічних ізолятів різних видів ентерококу до стрептоміцину. Кількість штамів з високим рівнем резистентності до стрептоміцину серед *E. faecium* була меншою (25 %) порівняно із кількістю стійких ізолятів серед *E. faecalis* (50 %). Аналогічні результати були отримані стосовно чутливості до доксацикліну. Автори підкреслюють високу активність антибіотику відносно *E. faecium*. Кількість резистентних штамів до нього становила 10 %. Кількість резистентних штамів *E. faecalis* складала 50 %. Результати досліджень встановили, що всі виділені штами *E. faecalis*, *E. raffinosus*, *E. durans*, *E.*

*secorum* були чутливими до лінезоліду, глікопептидних антибіотиків (ванкоміцину, тейкопланіну) [42]. Проведені епідеміологічні дослідження госпітальних інфекцій встановили можливість циркуляції ентерококів між пацієнтами і медичним персоналом. Так, результати моніторингу за мікрофлорою об'єктів середовища гнійно-септичного відділення встановили наявність у мікробному пейзажі до 4 % ентерококів, а мікрофлора слизової носу, шкіри рук працівників стаціонару в середині робочого дня на 14 % була представлена видами *E.faecalis*, *E.faecium* [43].

## 1.2. Механізми формування стійкості стафілококів і ентерококів до антибіотиків та антисептиків

Лікарняні установи є своєрідними екосистемами, сформованими людиною. В них існують і, на жаль, продовжують створюватись умови для проникнення опортуністичних, патогенних мікроорганізмів в організм людини. Використання протимікробних засобів для лікування, профілактики ускладнень, вторинних інфекцій є основним фактором відбору та мінливості стафілококів, ентерококів, в результаті чого сформувалось поняття «госпітальні штами» з множинною стійкістю не тільки до антибіотиків, але й до антисептиків та дезінфектантів. Науковці прогнозують зростання антибіотикорезистентності бактерій через пандемію коронавірусної інфекції, оскільки різко збільшується кількість госпіталізованих хворих, і часто необгрунтованим призначенням емпіричної антибіотикотерапії [44]. Понад 70% штамів бактерій, виділених у хірургічних хворих, резистентні принаймні до одного антибіотика, а третина – стійкі до всіх чи майже всіх препаратів. Високий рівень мультирезистентності демонструють *S. aureus* (31,4%), *E. faecalis* (37,5%). До лінкозамідів нечутливі 41% штамів збудників післяопераційних інфекцій, до тетрациклінів – 40,4%, макролідів – 39,4%, хлорамфеніколу – 35,4%, бета-лактамів – 34,5%, рифампіцину – 32,8%, аміноглікозидів – 31,5%, фторхінолонів – 24,2%, глікопептидів – 21,2%,

лінезоліду – 11,3%. Тому вибір антибіотика для лікування післяопераційних інфекцій є доволі складним завданням [26]. Вивчення резистентності *S.aureus* до цефалоспоринів (цефтріаксон, цефотоксим, цефуроксим) встановило розвиток множинної стійкості у 35-42 % клінічних штамів, виділених із хірургічного стаціонару [18]. Широка розповсюдженість госпітальних інфекцій, спричинених *S.aureus*, обумовлена безпосередньо стійкістю до антибіотиків. Результати досліджень властивостей метицилінрезистентних стафілококів, ізольованих із організму хворих на інтраабдомінальні інфекції, показали стійкість клінічних штамів до всіх  $\beta$ -лактамів. У клінічних ізолятів була практично відсутня чутливість до аміноглікозидів, лінкозамідів, макролідів, тетрациклінів, фторхінолонів. Резистентність до рифампіцину встановлена у 20 % штамів, а серед метицилінрезистентних стафілококів досягала 33 %, хоча у 2012-2013 роках 96 % нозокоміальних штамів були чутливими до цього антибіотика. Досліджувані госпітальні штами золотистого стафілококу, зокрема метицилінрезистентні, зберігали 100 % чутливість (100 %) до лінезоліду (оксазолідинон), ванкоміцину (глікопептид), мупіроцину. До фузидину та ко-тримоксазолу (сульфаніламід) сприйнятливість клінічних ізолятів *S.aureus* сягала 99,6 та 97 % відповідно [39, 45]. Вивчення значення представників роду *Enterococcus spp.* у виникненні важкої інтраабдомінальної інфекції встановило їх широке розповсюдження серед пацієнтів – до 5 % усіх випадків. Цей факт має безпосередньо залежить від резистентності ентерококів до антимікробних препаратів, які найчастіше використовують для лікування хворих. Ентерококи володіють природною резистентністю до цефалоспоринів, здатні формувати стійкість практично до пеніциліні, аміноглікозидів і глікопептидів. Результати дослідження показали, що 37% виділених штамів були стійкими до пеніциліну (ампіциліну), майже 58% - до гентаміцину, біля 50% - до стрептоміцину. До фторхінолонів (ципрофлоксацину) резистентними були 79% виділених клінічних штамів. Стійкість до хлорамфеніколу становила 47%. Позитивні результати були отримані щодо чутливості бактерій до оксазолідинонів. Сприйнятливими

ентерококів до лінезоліду сягала 100%. До глікопептидів (ванкомицин) чутливими були 89,1% ізолятів [39]. Розрізняють декілька механізмів формування стійкості госпітальних штамів до певного антибіотику, які можуть поєднуватися між собою. Найчастіше у госпітальних штамів стафілококів та ентерококів формується набута резистентність, яка є досить серйозною проблемою і прогнозувати її досить важко. Основною особливістю набутої резистентності є її мінливість. Формується набута стійкість шляхом мутацій у власних генах мікроорганізмів та отриманні генетичного матеріалу від інших резистентних бактерій [46].

На сьогодні відомі наступні механізми формування набутої резистентності госпітальних штамів бактерій: модифікація мішені дії антибіотика; інактивація препарату ферментами бактерій; ефлюкс, тобто виведення антибіотика з клітини; порушення проникності клітинної стінки мікробної клітини; формування метаболічного шунта. Вивчення механізмів резистентності у клінічних штамів мікроорганізмів є досить важливим завданням, так як вони визначають тактику лікування, і, також, здатність бактерій до виживання і розповсюдження в умовах лікувальних закладів. Мікроорганізм може втратити чутливість до антибіотика протягом курсу лікування. Іноді втрата чутливості буває незначною, але часто бактерії набувають стійкості до клінічно значущих концентрацій хіміотерапевтичного препарату. Після формування стійкості тривале використання препарату спричиняє селективний тиск на користь резистентних штамів. Частота виникнення стійкості виникає в результаті трьох основних чинників: кількості антибіотика, який використовують; частота, з якою бактерії можуть зазнавати спонтанних мутацій, які призводять до резистентності; поширеність R-плазмід, здатних переносити гени стійкості від однієї бактерії до іншої.

Розрізняють первинну і вторинну набуту резистентність. Первинна стійкість виникає в окремих клітинах популяції через її гетерогенність до початку лікування антибіотиками. Вторинна стійкість формується в результаті мутацій, але здатна зростати при контакті бактерій з антибіотиком. Останні

відіграють роль агентів селекції, так як елімінують чутливі особини популяції, в результаті чого збільшується кількість резистентних штамів. Формування антибіотикорезистентності зумовлене генетично внаслідок отримання нової генетичної інформації, зміною рівня експресії власних генів, які знаходяться або у складі хромосом, або у складі поза хромосомних елементів спадковості (транспозонах, плазмідах). Хромосомні мутації частіше призводять до зміни мішені дії антибіотика. Наприклад, стійкі до еритроміцину штами бактерій мають пошкоджений сайт на 50S субодиниці рибосоми внаслідок метилювання 23S рРНК. У результаті передачі генетичного матеріалу від інших стійких штамів бактерій за допомогою R-плазмід, які містять від одного до десяти генів резистентності, бактеріальна клітина набуває стійкості до декількох антибіотиків. Цей процес еволюції плазміди значно пришвидшується за рахунок участі транспозонів та інтегронів. Позахромосомні генетичні елементи є кон'югативними, трансмісивними, здатними передаватись від одного штаму до іншого в межах виду, роду. Як тільки стійкість до антибіотика виникає у якогось виду бактерій, транспозиція сприяє поширенню відповідального гену серед різних плазмід, що призводить до подальшого розповсюдженню їх на інші види. У стафілококів передача детермінант стійкості відбувається, також, в результаті трансформації і трансдукції. Мігруючі генетичні елементи – транспозони – несуть маркери резистентності En551 і Tn554, які зумовлюють формування стійкості стафілококів до еритроміцину, а Tn552 – до пеніциліну. Інтегрони утворюють важливий будівельний блок транспозонів, що дає можливість швидко формувати та експресувати нові комбінації генів резистентності до антибіотиків у відповідь на селективний тиск. Об'єднання транспозонів та інтегронів з кон'югативними R-плазмідами, трансдукуючими r-факторами становить додаткову загрозу у розповсюдженні резистентності до антибіотиків, важкості лікування інфекцій, спричинених стафілококами. Плазміди резистентності можуть також переносити гени, які надають бактеріальній клітині підвищеної вірулентності (наприклад, гени



токсигенності) [10, 47]. Механізм інактивації бета-лактамних антибіотиків пов'язаний з дією на них бактеріальних ферментів, синтез яких кодують гени R-плазмиди. Дія бактеріальних ферментів на бета-лактамні антибіотики є найбільш поширеним механізмом резистентності стафілококів. В результаті дії бактеріальних ферментів відбувається гідроліз бета-лактамного кільця антибіотика. В науковій літературі описані понад 500 різних бета-лактамаз, які відрізняються за здатністю до переважного гідролізу бета-лактамних антибіотиків (наприклад, пеніциліні, цефалоспоринів); плазмідною чи хромосомною локалізацією генів, що кодують антибіотикорезистентність; за чутливістю до інгібіторів бета-лактамаз, а саме, клавуланової кислоти, сульбактаму, тазобактаму, релобактаму, авібактаму [48]. Преважна більшість клінічно значимих патогенних мікроорганізмів продукують бета-лактамази, які поділяють на чотири молекулярних класи – А, В, С, D. Стафілококи синтезують бета-лактамази класу А, який залежно від впливу на певні групи мікроорганізмів, чутливості до інгібіторів поділили на сім груп. Група 2а  $\beta$ -лактамаз гідролізує природні і напівсинтетичні пеніциліни, окрім метициліну і оксациліну, чутлива до інгібіторів. Решта груп ферментів цього класу є  $\beta$ -лактамазами широкого спектру, які гідролізують пеніциліни, цефалоспорини, та  $\beta$ -лактамази розширеної дії, які діють на природні, напівсинтетичні цефалоспорини I-III. Деякі  $\beta$ -лактамази є стійкими до інгібіторів. Гени резистентності, які кодують синтез ферментів усіх груп класу А, локалізовані у плазмідах бактерій [49].

У багатьох країнах широке розповсюдження набула так звана бета-лактамазонегативна резистентність, яка пов'язана із модифікацією мішені дії цієї групи антибіотиків [50-53]. В результаті змінюється структура пеніцилінзв'язуючих білків, які отримали свою назву за тропність до пеніциліну. Це призводить до зменшення спорідненості протеїнів до даної групи антибіотиків. Відомо 6 основних видів пеніцилінзв'язуючих білків, які беруть участь у формуванні та нормальному функціонуванні клітинної стінки бактерій. Особливе значення мають протеїни першого, другого, третього

видів, які відповідають за стабільність клітинної стінки, її форму, утворення перегородок під час поділу. У стафілококів, стійких до пеніциліну й оксациліну, з'являється додатковий пеніцилінзв'язуючий білок – ПЗБ-2а, зміна якого призводить до підвищення мінімальної інгібуючої концентрації препаратів і, як результат, зниженні їх клінічної ефективності [54]. Ситуація ускладнюється й тим, що мікроорганізми, які мають  $\beta$ -лактамазонегативну резистентність, стійкі до природних і напівсинтетичних  $\beta$ -лактамів, і навіть до інгібіторозахищених препаратів. Ще однією з важливих проблем, яка виникає при застосуванні бета-лактамних антибіотиків, є вірогідна стимуляція поширення стійкості. Антибіотики, механізм дії яких полягає в руйнуванні клітинної стінки, сприяють вивільненню генетичного матеріалу із генами резистентності, який потрапляє в чутливу бактеріальну клітину. Інтеграція гену резистентності призводить до міжвидового розповсюдження стійкості не тільки до  $\beta$ -лактамів, а й до антибіотиків інших груп. Відомо, що резистентність до бета-лактамів формується досить швидко і корелює із широтою їх використання, так як найчастіше саме ці антибіотики закупаються лікарні. Але потрібно враховувати, що етіологічним фактором виникнення госпітальних інфекцій є активація ендогенної флори (стафілокок, ентерокок) під впливом провокуючих факторів. Тому лікарі не рекомендують застосовувати  $\beta$ -лактами для лікування тих пацієнтів, хто їх приймав протягом попередніх трьох місяців, у зв'язку з високою вірогідністю того, що резистентність бактерій до антибіотиків вже сформувалась і препарат виявиться неефективним [46].

Стійкість *S.aureus* до метициліну на генетичному рівні пов'язана з наявністю в хромосомі (staphylococcal cassette chromosome - SCCmec) mec-комплексу. До нього належать структурні гени *mecA*, *mecI*, *mecRI*. Структурний ген *mecA* кодує синтез пеніцилінзв'язуючого білку ПЗБ2а, який має низьку афінність до  $\beta$ -лактамів (пеніциліну, цефалоспорину, монабактамів, карбапенемів) і безпосередньо відповідає за розвиток

метицилінрезистентності. Гени *mecI*, *mecRI* є регуляторними, тобто контролюють транскрипцію гену *mecA* [55, 56].

Для клініцистів важливим є диференціювання штамів з класичною *mecA*-обумовленою резистентністю від штамів з іншими механізмами резистентності, які рідко зустрічаються та обумовлюють низький рівень стійкості. Це важливо з тієї точки зору, що при захворюваннях, спричинених штамми з *mecA*-обумовленою стійкістю, терапія β-лактамами антибіотиками буде неефективною. З часу відкриття явища метицилінрезистентності стафілококів (MRSA) цей феномен постійно представляє науково-практичний інтерес, викликаючи занепокоєння у клініцистів та науковців [57]. Більшість захворювань, спричинених штамми MRSA мають важкий перебіг, проявляються як вторинні інфекції, виникають в результаті медичних втручань, а госпітальні інфекції підвищують ризик смертності пацієнтів [58-60].

Спочатку ізоляти MRSA виявляли стійкість лише до антибіотиків однієї групи (бета-лактамів), однак в сучасних умовах вони набули множинної стійкості, у т. ч. до ванкоміцину, який розглядався у якості останньої лінії лікування захворювань, обумовлених MRSA. Ванкоміцин резистентні варіанти стафілококів істотно збільшують терміни перебування пацієнтів у стаціонарі та високі показники летальності. Тому, до переліку «пріоритетних патогенів» ВООЗ включені не лише MRSA, але і ванкоміцинрезистентні варіанти [61-66].

Для ентерококів характерна природна стійкість до антибіотиків цефалоспоринового ряду, який обумовлений недостатньою проникністю їх клітинної стінки і неможливістю дії на чутливі мішені [67]. Більшість цефалоспоринів (за винятком цефалорідину) досить стійкі до гідролізуючої дії бета-лактамаз стафілококів. Антистафілококова активність цефалоспоринів залежить від їх спорідненості з стафілококовими пеніцилінзв'язуючими білками [31]. Результати дослідження протимікробної дії цефалоспоринів I, II, III поколінь на стафілококи показали різний спектр активності на клінічні

штами стафілококів. Найбільшу резистентність стафілококи формують до цефазоліну, цефаклору (47 % і 50 % штамів відповідно). Від 60 % до 85 % виділених штамів були чутливими до цефтріаксону, цефуроксиму, цефалотину [68]. Розвиток резистентності мікроорганізмів до аміноглікозидних антибіотиків пояснюють синтезом бактеріальних ферментів. Грампозитивні бактерії синтезують фермент, який інактивує більшість аміноглікозидів. Маркером наявності цього ферменту є стійкість бактерій до гентаміцину. Ферментативна інактивація антибіотиків цієї групи відбувається за рахунок приєднання до їх молекул оцтової, фосфорної кислот, а також до нуклеотиду гуаніну. В результаті аміноглікозиди втрачають здатність з'єднуватись із бактеріальними рибосомами, і, як наслідок, пригнічувати синтез білка. Сьогодні відомо більш, ніж 50 бактеріальних ферментів, які здійснюють інактивацію аміноглікозидних антибіотиків. Гени, які відповідають за ферментативну інактивацію, знаходяться у плазмідах бактерій, тому має місце дуже швидке розповсюдження резистентності в межах виду, роду. Такий механізм формування стійкості бактерій до гентаміцину і тобраміцину призвів у 2000-х роках до високої частоти резистентності, що було пов'язано з необґрунтовано широким застосуванням препаратів у 90-х роках минулого століття [69].

У ентерококів існує природна стійкість до аміноглікозидних антибіотиків, яку пояснюють їх переважно анаеробним метаболізмом. У анаеробних бактерій відсутні системи переносу електронів, необхідні для транспортування аміноглікозидів у цитоплазму бактерій. Так як мішенню для дії аміноглікозидних антибіотиків є 30S-субодина бактеріальної рибосоми, то антибіотикорезистентність може бути зумовлена зміною цієї субодина, або посиленням виведення антибіотиків з бактеріальної клітини. Описаний ще один важливий механізм формування стійкості мікроорганізмів до аміноглікозидів, а саме, зменшення проникності клітинної стінки внаслідок мутацій. Але аміноглікозиди в комбінації з ампіциліном широко застосовують для лікування генералізованих ентерококових інфекцій.

Доцільність застосування такої схеми лікування пояснюють вираженим синергізмом між аміноглікозидами та ампіциліном або ванкоміцином. Проте встановлено високий рівень розповсюдженості ентерококів з високим рівнем резистентності до аміноглікозидів (HLAR) – 88,6 % та ампіциліну (ARE) – 41 %. Цей факт ставить під сумнів доцільність сумісного використання цих груп антимікробних препаратів для лікування ентерококових інфекцій [67, 70, 71].

Описано декілька механізмів формування резистентності грампозитивних бактерій до макролідів та лінкозамідів. Вони пов'язані із процесом метилування 50S-субодиниці бактеріальної рибосоми, на яку діють дані групи антибіотиків; активним виведенням препаратів із бактеріальної клітини за допомогою декількох транспортних систем; ферментативною інактивацією антибіотиків макролідфосфотрансферазами, ерітроміцинестеразами, лінкоміцинацетилтрансферазами [72]. На сьогодні описані три різновиди модифікації мішені дії макролідів, кетолідів, лінкозамідів: метилування 23S субодиниці рРНК, яка є спільною для всіх вказаних препаратів; мутація в 5 домені 23S субодиниці рРНК; мутації в генах рибосомальних білків L4, L22. Найбільше поширення набуло формування стійкості, пов'язане з процесом метилування мішені ферментом метилазою, синтез якої кодують більш, як 20 генів мікроорганізмів. Так як макроліди, кетоліди, лінкозаміди мають спільну ділянку для зв'язування із мішенню їх дії, то формування стійкості до однієї групи препаратів спричиняє появу перехресної резистентності з іншими групами вказаних антибіотиків. У бактерій виявлений *mef*-ген, який кодує утворення системи, яка бере активну участь у виведенні макролідів та лінкозамідів з клітини. Ферменти, які інактивують антибіотики даних груп, синтезують як грампозитивні, так і грамнегативні мікроорганізми. Прогресуюче зростання резистентності клінічно значущих патогенів до макролідів пояснюють тим, що препарати переважно не проявляють мікробіцидної дії. Тому їх використання в якості монотерапії призводить до селекції резистентних мікроорганізмів [46].

Механізм формування стійкості бактерій до глікопептидів найбільш повно вивчений у ентерококів. Формування стійкості у цієї групи мікроорганізмів пояснюють із синтезом модифікованого бокового поліпептидного ланцюга в кінцевій стадії синтезу пептидоглікану клітинної стінки. Антибіотики-глікопептиди не здатні зв'язуватись із кінцевими амінокислотами зміненого пептидного ланцюга і, таким чином, не пригнічують життєдіяльність бактерій. У ванкоміцинрезистентних стафілококів та ентерококів з'являються наступні особливості: потовщення клітинної стінки, зменшення автолітичної активності, надлишкова продукція субстрату дії глікопептидів. Перші повідомлення про появу стійких до ванкоміцину штамів *S. aureus* з'явилися у різних країнах наприкінці 90-х років минулого століття, хоча раніше резистентність до даного препарату спостерігали лише у коагулазонегативних стафілококів. Кількість резистентних до ванкоміцину штамів *E. faecium* у відділеннях інтенсивної терапії досягає 15-20 % [73, 74]. Описано шість фенотипів резистентності ентерококів до ванкоміцину (від Van A до Van G). Фенотипи Van A і Van B були вперше описані в 1988 році і мають найбільше клінічне значення. Найчастіше зустрічається тип Van A, який передається плазмідною і характеризується високою резистентністю до ванкоміцину і тейкопланіну. Ентерококи з індукційним Van B фенотипом резистентні до ванкоміцину, але чутливі до тейкопланіну. Фенотип Van 3 кодується хромосомними генами двох рідкісних видів ентерококів *E. gallinarum* і *E. casseliflavus*, характеризується досить низьким рівнем ванкоміцин-резистентності. Решта три фенотипи ванкоміцин-резистентності (Van D, Van E і Van G) зустрічаються дуже рідко, кодується хромосомними генами і найчастіше чутливі до тейкопланіну. Різні фенотипи резистентності мають відповідні генетичні маркери, за якими простежують їх поширеність і циркуляцію, включаючи межвидову передачу генів резистентності. Описаний випадок виділення ванкоміцин-резистентного *Staphylococcus aureus* від трьох пацієнтів (США). В одному з трьох випадків була доведена *in vivo* можливість

кон'югативної передачі VanA-гена резистентності від ванкоміцин-резистентного *E.faecalis* (VRE) до метицилін-резистентного *S.aureus* (MRSA). Клінічно значима резистентність у ентерококів опосередковується плазмідкованими vanA- і VanB-лігазами, які замінюють аланін (D-Ala) на лактат (D-Lac) у пептидоглікані клітинної стінки. Це призводить до зменшення зв'язування глікопептидів з «мішеню», внаслідок чого ентерококи стають нечутливими до дії ванкоміцину. Клініцисти вважають незаперечним той факт, що питома вага ванкоміцин-резистентних ентерококів (VRE) разом із метицилінрезистентними *S.aureus* (MRSA) є індикатором глобального поширення мультирезистентних збудників нозокоміальних інфекцій [36, 75].

Подолання інфекцій, обумовлених метицилінрезистентними *S.aureus*, на сьогодні вважається можливим за допомогою ванкоміцину. Препаратом вибору у боротьбі з ванкоміцинрезистентними ентерококами у сьогоденній клінічній практиці більшість фахівців вважають синтетичний препарат нової хімічної групи оксазолідинонів – лінезолід. Останній також доцільно використовувати у випадках, коли стафілококи виявляють комбіновану стійкість до метициліну і ванкоміцину [76, 77].

Фторхінолони мають унікальний механізм дії на бактеріальні клітини. Їх мішенями є ферменти топоізомерази IV (відповідальна за організацію просторового розташування хромосоми, її розділення під час поділу бактерії) та ДНК-гіраза (відповідає за суперспіралізацію ДНК бактеріальної клітини). Тому формування стійкості мікроорганізмів до фторхінолонів обумовлена двома механізмами. Перший механізм пов'язаний із модифікацією мішені, яка відбувається за рахунок мутації в генах ДНК-гірази та топоізомерази IV. Другий шлях формування резистентності забезпечується активним виведенням фторхінолонів з мікробної клітини. Цей механізм стосується переважно класичних хінолінів, а у сучасних препаратах він не має клінічного значення [46]. Вважають, що фторхінолони є найменшими індукторами розповсюдження резистентності. Частота виникнення мутацій у бактерій практично не залежить від частоти використання фторхінолонів. Пояснюють

це з швидким бактерицидним ефектом антибіотиків, що забезпечує порушення роботи генетичного апарату клітини, а також із низькою вірогідністю виникнення мутацій у генах, які кодують синтез обох ферментів, що може забезпечити клінічно значимий рівень резистентності. Дослідження активності фторхінолонів на клінічні штами стафілококів підтверджують, що 93 % ізолятів є чутливими до ломефлоксацину, офлоксацину, пефлоксацину. Питома вага нечутливих до фторхінолонів ентерококів складає від 53 % до 97 % [47, 67, 68].

Закономірності формування у бактерій стійкості до антисептичних препаратів, на відміну від формування стійкості до антибіотиків, наразі вивчена недостатньо. Інформація про загальні генетичні механізми стійкості мікроорганізмів до цієї групи препаратів обмежена даними про зниження проникності клітинної стінки бактерій та ефлюкс. Штами бактерій, які володіють такими механізмами стійкості виживають при дії вищих концентрацій антисептиків, порівняно зі штамми, які не мають таких властивостей. (Контроль за устійчивістю мікроорганізмів к антибиотикам, антисептикам и дезинфицирующим средствам [78].

Механізми формування резистентності бактерій до антисептиків дещо відмінні від розвитку їх стійкості до антибіотиків. Механізм їх дії залежить від хімічного складу мікроорганізмів, характеризується багатовекторністю. Тому у деяких штамів розвивається набута резистентність, для якої характерна властивість ними зберігати свою життєдіяльність через формування нової генетичної інформації або ж зміни власних генів. Особливістю набутої резистентності до антисептиків є те, що вона не зникає і може бути повністю елімінована у випадку повної загибелі усіх бактеріальних клітин такої популяції [79; 80].

Актуальною проблемою є вивчення можливого формування резистентності бактерій до препаратів четвертинних амонієвих сполук у зв'язку з їх використанням як антисептиків, дезінфектантів, консервантів. Набута резистентність бактерій до четвертинних амонієвих сполук



обумовлена фенотиповими та генотиповими механізмами. Генотипова стійкість виникає в результаті експресії генів резистентності в плазмідах і транспозонах. Цей тип стійкості описаний для *S.epidermidis*. Дослідження, які були проведені в Австралії, встановили, біля 40 % госпітальних штамів коагулазонегативних стафілококів мають ген стійкості до четвертинних амонієвих сполук, солей важких металів, деяких антибіотиків, розташований в R-плазміді [81].

Було встановлено, що стійкість бактерій до препаратів цієї групи асоційована з наявністю генів *qacA* і *qacB*, а також *smr*. Вони кодують синтез трансмембранних ефлюксних білків, які обумовлюють стійкість мікроорганізмів до ліпофільних катіоноактивних речовин. Встановлено, що ген *qacA* зумовлює резистентність бактерій до хлоргексидину біглюконату. Але резистентних штамів бактерій не виявлено до комбінованих препаратів четвертинних амонієвих сполук, до складу яких входять етанол, полігуанідин, аміни [82].

Відзначимо незначну кількість публікацій, присвячених молекулярно-генетичним методам виявлення генів резистентності у стафілококів та ентерококів. В літературних джерелах наявна інформація про гени резистентності до четвертинних амонієвих сполук. Вони знаходяться в хромосомі і представлені *qacA*, *B*, *C*, *Z*, *E*, *ED1*, *smr*. Гени *qac* можна виявляли, як показано в ряді досліджень, у складі генетичного матеріалу великих плазмід. Дані результатів дослідження виявлення генів резистентності до четвертинних амонієвих сполук *qac* у *S. aureus* є неоднозначними. В одних публікаціях вказується на повну їх відсутність, в інших - наявність на високому рівні. Поширеність гена *smr* перебуває на достатньому рівні, і виявляється від 3,6 % до 44,2 % штамів стафілококів. Відзначається широка розповсюдженість *qacA*, хоча показники істотно варіюють (від 0,6 % до 33,7%). У той же час, більш низькою вона була для *qacC* (5,3-10,8%), *qacH* (3,3-7,1%), а також для гена *qacB* (1,5%). Гени *qacA* / *B* виявлені в 0,4% протестованих *E. faecalis*. Ген *smr* був виявлений у 0,2 % досліджуваних

штамів *E. faecalis*, які проявляли стійкість до додецілдіметіламонію хлориду. Автори відзначали, що гени виявлялися як у клінічних штамів, так і ізолятів, виділених із об'єктів зовнішнього середовища. Ген *qacZ* був виявлений в істотно більшій кількості випадків - 52%. Автори підкреслюють, що даний ген вивчений недостатньо і рідко зустрічається. Але штами ентерококів із наявністю вказаного гену є стійкими до бензалконію хлориду. Продуктом експресії гена *smr* є синтез «малих білків множинної лікарської стійкості». Комплекс генів *smr* включає в себе *qac C, D, G, E, H*. Вважають, що така кількість генів зумовлює декілька механізмів розвитку резистентності. Подібні структури знаходяться у дрібних і великих кон'югативних пламідах. Особливе місце займають дослідження по виявленню гена *qacZ* у грампозитивних коків. На моделі *E. faecalis* було продемонстровано, що даний ген кодує синтез малого транспортера множинної лікарської стійкості (який отримав назву EFA0010) в положенні генома V583. Виявлено участь цієї генетичної структури у зниженні чутливості до четвертинних амонієвих сполук [83, 84]. Актуальним залишається вивчення зв'язку між собою генів, які відповідають за видову, набуту резистентність до антисептиків та антибіотиків.

Аналіз результатів зазначених публікацій свідчить про поширеність механізму горизонтальної передачі генів в складі плазмід. Плазмідні є стійкими до впливу фізичних, хімічних факторів. Завдяки їх автономній реплікації, бактеріальна клітина може мати декілька копій, які забезпечують множинну резистентність, а також є резервуаром для передачі іншим особинам. Значну роль відіграють транспозони, які здатні мігрувати з хромосоми в плазміді і транспортувати гени резистентності. Поширеним механізмом формування резистентності бактерій до антисептиків є мутації. Генні мутації змінюють первинну структуру ДНК або РНК в клітинах. Хромосомні мутації спричиняють зміну структури хромосоми. В результаті мутацій відбуваються заміна, включення нових, або зміна існуючих генів. Мутації бактерій призводять до зміни структури клітинної стінки, білків цитоплазматичної

мембрани, мішені дії антисептика, зменшення поглинання препарату, активації механізмів його виведення. Мутаційна активність найчастіше встановлюється при дії хлоргексидину біглюконату, глутарового альдегіду, інших альдегідів [82].

В залежності від швидкості формування стійких до антисептиків штамів бактерій розрізняють два типи резистентності. У першому випадку набута резистентність формується на початку застосування антимікробного засобу і є результатом експресії генів, які знаходяться в хромосомі мікроорганізму. Описані штами бактерій з набутою стійкістю до більшості антисептиків (четвертинні амонієві сполуки, хлорамін Б, йодопірон, первомур, борна кислота, фурацилін тощо). Встановлено, що резистентність клінічних штамів золотистого стафілококу до антисептичних препаратів декасану, мірамістину, хлоргексидину формується повільно із зміною їх морфологічних, культуральних, біохімічних властивостей. Інший тип стійкості створюється дуже швидко протягом одного-двох пасажів в присутності антисептика і не залежить від концентрації препарату. Розвиток такого типу стійкості відбувається шляхом одноступеневої мутації. В результаті такої мінливості з'являються нові, або замінюються наявні нуклеотиди в хромосомі бактерій [85, 86].

У публікаціях, присвячених розвитку резистентності клінічних штамів мікроорганізмів, дискутується питання щодо кореляції рівня стійкості до антибіотиків і антисептиків. Результати дослідження показали, що тільки у 4,6 % пар антибіотиків та дезінфікуючих засобів виявлявся такий взаємозв'язок, який більше залежав від природної, а не набутої стійкості [87, 88]. У деяких випадках спостерігали обернену залежність: до дезінфікуючих розчинів були більш чутливими антибіотикорезистентні мікроорганізми. Вчені пояснюють таку залежність тим, що механізми формування резистентності до антибіотиків та антисептиків мають багато спільних і відмінних рис. Механізми стійкості до антибіотичних речовин розглядають як необхідний процес самозбереження видів живих істот. В процесі еволюції при сумісному

існуванні різних груп мікроорганізмів розвивались різні механізми стійкості до антибіотичних субстанцій, які продукували, наприклад, мікроорганізми ґрунту. На противагу антибіотикам, переважна більшість антисептиків, дезінфектантів є речовинами, які були отримані штучно, Вони є чужорідними для живих істот і не включаються в біотичний кругообіг, так як, їх порівняно невеликий проміжок часу використовують в медичній практиці [82]. Встановлено, що майже всі штами бактерій є чутливими до антисептичних препаратів, які мають пряму ушкоджуючу дію на бактеріальні клітини, пригнічують функції цитоплазматичної мембрани, блокують негативний поверхневий заряд, До таких речовин належать дигідрохлорид октенідин, полігексанід, повідон-йод, окислювачі [89].

До антисептиків, які володіють мікробостатичною дією, у бактерій може розвиватись перехресна стійкість до антибіотиків. Описано два шляхи її розвитку. Перший шлях пов'язаний тим, що завдяки активації певних генів, молекули антисептиків виводяться бактеріями аналогічно ефлюксу антибіотиків через білкові вивідні насоси (помпи). Цей механізм описаний для хлоргексидину диглюконату, деяких четвертинних амонієвих сполук. Другий шлях формування стійкості розвивається у бактерій до солей важких металів. Механізм розвитку стійкості пояснюють інактивацією антисептика генетично модифікованим периплазматичним білком бактерій, який зв'язує одновалентні іони срібла [90, 91].

Швидкість формування резистентності бактерій залежить виду антисептика, частоти його використання, видової належності мікроорганізму. Результати вивчення протимікробної активності поверхнево-активних антисептиків горостену, хлоргексидину біглюконату, мірамістину та декасану відносно ізолятів стафілококів із різним рівнем MLS-резистентності (макроліди, лінкозаміди та стрептограмін В) показали виражену пряму протимікробну дію горостену, хлоргексидину біглюконату та декасану відносно всіх тест-штамів [92]. Їх антибактеріальна активність однаково проявляється відносно MLS-резистентних та MLS-чутливих до антибіотиків

штамів стафілококів [93, 94]. Дослідження дії антисептиків на стафілококи, ентерококи, які були виділені із вмісту бойових ран встановило нижчу резистентність коагулазонегативних стафілококів до декаметоксину та полігексаметилен–гуанідин, порівняно з хлоргексидину біглюконатом, бензалконію хлоридом та мірамістином. Штами *E. faecalis* виявились стійкішими, порівняно із коагулазонегативними стафілококми, до поверхнево-активних антисептиків, окрім хлоргексидину [95, 96].

Дослідження протимікробної активності антисептиків декаметоксину та повідону йоду на клінічних ізолятах грампозитивних бактерій встановило високі бактерицидні властивості 0,02 % розчину декаметоксину, порівняно з 10 % розчином повідону йоду [97].

Оцінка результатів визначення ефективності та безпечності використання топічної антисептикопрофілактики інфекційних ускладнень 0,02 % розчином декаметоксину порівняно з антибіотикопротифілактикою цефуроксимом встановила, що протимікробну дію антисептика можна прирівняти із такою у антибіотиків цефалоспоринового ряду. Застосування періопераційної профілактики 0,02 % розчином декаметоксину сприяє зниженню частоти формування антибіотикорезистентних до  $\beta$ -лактамів мікроорганізмів [98].

Узагальнюючи результати огляду наукових джерел зазначимо, що більшість науковців визнають на сьогоднішній день у збудників госпітальних інфекцій наявність критичного рівня антибіотикорезистентності та швидкості її поширення. Більше того, мікроорганізми мають тенденцію до її подальшого розповсюдження. Проблема набула глобального характеру і через зміну спектру мікроорганізмів, які спричиняють нозокоміальні інфекції. У сучасний період зростає роль різних видів стафілококів та ентерококів у виникненні госпітальних інфекцій. Загрозливим є те, що ці мікроорганізми знаходяться у різних біотопах організму людини і здатні мігрувати навіть через неушкоджений епітелій, що сприяє їх швидшому потраплянню у внутрішнє середовище організму з наступним ендogenous інфікуванням. Особливу

небезпеку створює мультирезистентність бактерій до антибіотиків, формування її нових механізмів стосовно класичних і нових препаратів, можливість виникнення перехресної стійкості до різних груп антимікробних засобів. Незначна кількість публікацій щодо вивчення генетичних механізмів розвитку стійкості бактерій до антимікробних препаратів, виявлення генів резистентності до антибіотиків, антисептиків спонукає до проведення подальших глибоких наукових досліджень з метою попередження поширення стійких ізолятів серед пацієнтів, персоналу лікувальних установ.

## РОЗДІЛ 2

### МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ ДОСЛІДЖЕННЯ

#### 2.1. Характеристика джерел і методів виділення та ідентифікації штамів бактерій, використаних у дослідженні

Виділення, ідентифікацію та дослідження біологічних властивостей кокової мікрофлори проводили за загальноприйнятими методиками в умовах акредитованої науково-дослідної бактеріологічної лабораторії кафедри мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (Свідоцтво про технічну компетентність № 115/21).

Матеріал для виділення мікрофлори забирали у пацієнтів, що знаходились на стаціонарному лікуванні у Вінницькій обласній клінічній лікарні ім. М. І. Пирогова, НКП «Вінницька міська лікарня №1», НКП «Вінницька міська лікарня №2», Військово-медичному клінічному центрі центрального регіону. Матеріалом для бактеріологічних досліджень був вміст нагноєних ран. Всього було досліджено 167 проб ранового матеріалу.

З метою виділення грампозитивних коків з поверхні предметів лікарняного середовища шляхом змивів забирали матеріал з використаних уретральних катетерів, санітарно-технічного обладнання, дверних ручок та поручнів лікарняних ліжок, зовнішніх поверхонь дихальних контурів та панелей апаратів штучної вентиляції легень у відділеннях тих же лікувальних закладів. Всього було досліджено 285 об'єктів.

Забір ранового вмісту проводили сухим бактеріологічним аплікатором. Для забору матеріалу з поверхні предметів оточуючого середовища бактеріологічний аплікатор попередньо змочували стерильним ізотонічним розчином хлориду натрію. Після взяття матеріалу аплікатор переносили у пробірку з транспортним середовищем SARSTEDT AG&Co Germany. Транспортування матеріалу проводили у відповідності до Наказу міністерства

охорони здоров'я України № 234 про організацію профілактики внутрішньолікарняних інфекцій в акушерських стаціонарах від 10.05.2007.

Виділення чистих культур грампозитивних коків проводили чашковим методом з використанням кров'яного м'ясо-пептонного агару, манітно-сольового агару (Graso Biotech). Контроль якості поживних середовищ проводили відповідно до рекомендацій фірм-виробників, які викладені у сертифікатах до продукції, а також відповідно до інформаційного листа МОЗ України № 05.4.1/1670 [99].

Посів здійснювали шляхом ретельного втирання матеріалу з поверхні тампону у поверхню поживного середовища у сегмент, який займав одну четверту загальної площі середовища, з подальшим розсіванням по поверхні поживного середовища бактеріологічною петлею. Засіяні поживні середовища інкубували в термостаті при температурі 37°C протягом 24 годин. По завершенні експозиції інкубації мікроорганізми з колоній з характерними для грампозитивних коків культуральними властивостями для накопичення і подальшого дослідження відсівали у пробірки зі скошеним МПА. Первинну диференціацію грампозитивних коків проводили на підставі результатів каталазного тесту, за яким представники роду *Staphylococcus* є позитивними, а роду *Streptococcus* – негативними.

Біохімічна ідентифікація стафілококів ґрунтувалась на визначенні 16 показників біохімічної активності за допомогою СТАФІтеста16 (виробництва ErbaLachema). Перелік біохімічних показників: уреаза, аргінін, орнітин, бета-галактозидаза, бета-глюкоронідаза, ескулін, нітрати, фосфатаза, галактоза, сахароза, трегалоза, манітол, ксилоза, мальтоза, манноза, лактоза. Тестування штамів та ідентифікацію за біохімічними кодами проводили згідно інструкції виробника до тест-системи.

Визначення лецитиназної активності проводили шляхом посіву виділених культур стафілококів на жовточно-сольовий агар з наступною інкубацією в термостаті 24-48 год. Коагулазну активність визначали після висіву штаму у плазму кроля та інкубації посівів в термостаті протягом 4-8



годин, при негативному результаті культури залишали в термостаті ще на 16-18 годин. Згущення плазми до 8 годин враховували як позитивний результат, відповідно, якщо коагуляція відбувалась після 8 годин – слабо-позитивний або сумнівний результат.

Каталазо-негативні грам-позитивні коки, які мали гемолітичну активність (повний або неповний гемоліз), ідентифікували за біохімічними властивостями, які визначали за допомогою СТРЕПТОтест 24 (ErbaLachema). Набір дозволяє визначити біохімічну активність щодо 8 ферментів та 16 субстратів: N-ацетил-глюкозамінідаза, L-лейцин-амінопептидаза,  $\beta$  – манозідаза,  $\beta$ -глюкоронідаза,  $\beta$  -глюкозидаза,  $\beta$  – галактозидаза,  $\alpha$  – галактозидаза, фосфатаза, ескулін, інουλін, манітол, сорбітол, мелібіоза, рібоза, лактоза, пуллулан, аргінін, тагатоza, мальтоза, рафіноза, триглоза, сорбоза,  $\alpha$  – метилглюкозидаза. Тест також дозволяє визначити можливість росту виділеного штаму в присутності 6,5% NaCl, що дозволяє диференціювати стрептококи та ентерококи.

Всього у період 2017 – 2020 р. р. нами виділено, ідентифіковано і використано у дослідженнях 230 ізолятів *Staphylococcus spp.* та 87 штамів *Enterococcus spp.*.

## 2.2. Методи визначення чутливості виділених мікроорганізмів до протимікробних засобів

Визначення чутливості виділених штамів грампозитивних коків до антибіотиків проводили стандартним диско-дифузійним методом (ДДМ) у відповідності до діючих методичних рекомендацій [100]. Перелік антибіотиків, чутливість до яких визначали у стафілококів формували з урахуванням можливості екстраполяції результату на чутливість до певної хімічної групи антибіотиків, виявлення  $\beta$ -лактамазапродукції та орієнтовної детекції носійства генів *tes A* (метицилінрезистентності). Визначали чутливість до оксациліну, амоксациліну, амоксациліну/клавуланату,

цефекситіну, ципрофлоксацину, моксіфлоксацину, еритроміцину, амікацину, меропенему, ванкоміцину.

Перелік антибіотиків, чутливість до яких визначали у представників роду *Enterococcus spp*, формували з урахуванням сучасних рекомендацій EUCAST. До нього було включено амоксицилін/клавуланат, цефтриаксон, ципрофлоксацин, левофлоксацин, гентаміцин, імпіпем, триметоприм-сульфаметакзол, ванкоміцин.

Чутливість визначали на агарі Мюллера-Хінтона (Graso Biotech) у відповідності до вимог EUCAST. Для визначення антибіотикочутливості використовували стандартні диски виробництва Himedia Laboratories Pvt. Limited, Індія. Поточний контроль якості визначення проводили у відповідності до рекомендацій EUCAST з використанням еталонних штамів *S. aureus* ATCC 29213 та *E. faecalis* ATCC 29212.

Інокуляцію чашок з агаром проводили суспензією добової культури досліджуваного штаму в стерильному ізотонічному розчині хлориду натрію щільністю 0,5 за стандартом мутності McFarland, що відповідає  $1 \times 10^8$  КУО/мл для *E. coli*. Щільність суспензії визначали з використанням каліброваного за McFarland денсіметра (ЕМО, Чехія). Посів виконували стерильним ватним тампоном, після підсушування поверхні засіяного середовища на його поверхні розміщували диски з антибіотиками. Чашки інкубували в термостаті при температурі 37°C протягом 20-24 год. Результат враховували за діаметром зони затримки росту навколо диску згідно критеріїв оцінки чутливості наведених а методичних рекомендаціях. В процесі аналізу профілів резистентності помірно чутливі штами були віднесені до стійких [101].

Штам вважали стійким до оксациліну та метіциліну за рахунок гіперпродукції бета-лактамаз якщо він виявляв стійкість до оксациліну і амоксициліну, але був чутливим до амоксицилін/клавуланату та цефокситіну. Якщо штам виявляв стійкість до усіх 4-х антибіотиків – вважали можливою наявність у нього пеніцилінзв'язуючого білка 2a (ПЗБ2a) [102].

Мінімальні бактеріостатичні (МБсК) та бактерицидні (МБцК)

концентрації антибіотиків і антисептиків визначали методом послідовних серійних розведень препаратів у рідкому поживному середовищі [103]. Для цього поживне середовище (МПБ) розливали по 2 мл в пробірки. Потім в першу пробірку додавали по 2 мл розчину досліджуваного препарату і готували послідовні двократні розведення препарату в поживному середовищі. У пробірки вносили завесь досліджуваної культури в концентрації  $10^6$  колонієутворюючих одиниць (КУО) в кількості 0,2 мл. Досліди супроводжували відповідними контролями (контроль середовища на стерильність; контроль росту культури в середовищі без препарату; контроль досліджуваного препарату). Пробірки інкубували у термостаті на 18-24 год.

Найменшу концентрацію препарату, котра затримувала візуально ріст мікробів по завершенні інкубації, вважали мінімальною інгібуючою (або бактеріостатичною) концентрацією (МІК–МБсК). З метою визначення бактерицидної дії з кожної пробірки, у якій візуально не відмічали росту робили висів на МПА. Мінімальну кількість препарату, яка викликала загибель мікроорганізмів після 24-годинної інкубації, визначали як мінімальну бактерицидну концентрацію (МБцК). Досліди проводили в 3-х повторах з кожною концентрацією антимікробного засобу з метою отримання достовірних результатів.

### 2.3. Методи дослідження швидкості формування резистентності стафілококів до протимікробних засобів в штучних умовах

Швидкість формування резистентності у стафілококів визначали до ванкоміцину – глікопептидного антибіотика, який в сучасній медичній практиці використовується у якості препарату резерву для лікування хворих з патологічними процесами, обумовленими метицилінрезистентними золотистими стафілококами. З тією ж метою використовували лінезолід - синтетичний антибактеріальний препарат, що належить до нового класу антимікробних засобів – оксазолідинонів з антирибосомальним

механізмом дії, який теж має клінічно підтверджену ефективність у боротьбі з метицилінрезистентними *S. aureus* [104]. Третім препаратом, використаним у цих дослідженнях, був синтетичний препарат фторхінолонового ряду левофлоксацин, спектр протимікробної дії якого охоплює золотистих стафілококів і який часто використовують у медичній практиці у схемах емпіричної антибіотикотерапії різноманітних гнійно-запальних процесів.

Крім означених вище препаратів, які у медичній практиці використовуються системно, у дослідженнях використані наступні антисептичні засоби:

- декаметоксин (декаметилен-1,10-бісдіметилкарбментоксіметиламоній дихлорид) – четвертинне амонієве похідне, що у чисельних лікарських формах використовується у топічному лікуванні хворих з гнійно-запальними процесами, у т. ч. стафілококової етіології [105 - 106];

-хлоргексидин (1,6-біс-/5-(пара-хлорфеніл)-бігуанідо/-гексин) – антисептик групи похідних бігуанідину, який у вигляді 0,05 % водного розчину використовується за тими ж медичними показаннями [107 - 108].

Для дослідження швидкості формування стійкості до протимікробних препаратів в штучних умовах було обрано 6 штамів *S. aureus*, у трьох з яких молекулярно-генетичними методами було підтверджено наявність генетичної детермінанти синтезу ПЗБ2а (*mecA*). Ще три штами не мали генетичних детермінант стійкості до метіциліну. При цьому, усі взяті у дослідження штами фенотипово не виявляли стійкості до ванкоміцину лінезоліду та левофлоксацину.

Швидкість формування резистентності мікроорганізмів до перерахованих вище протимікробних засобів досліджували *in vitro* методом пасажування мікроорганізмів у МПБ з наростаючими концентраціями препаратів. Для цього готували ряд послідовних двократних розведень ванкоміцину, лінезоліду чи левофлоксацину у пробірках з м'ясо-пептонним бульйоном. В пробірки вносили досліджувану культуру в концентрації  $10^6$

колонієутворюючих одиниць (КУО) в кількості 0,2 мл бактерій і інкубували протягом 24 годин в термостаті при температурі 37°C. Після чого визначали в ряду пробірку з максимальною концентрацією антибіотика, в якій ще візуально спостерігається ріст бактерій і використовували її вміст у якості інокуляту для наступного пасажу. Паралельно у кожному пасажі визначали мінімальну бактерицидну концентрацію антибіотиків шляхом висіву вмісту пробірок, у яких візуально росту бактерій не відмічалось, на м'ясо-пептонний агар. Оскільки у дослідах використовували протимікробні препарати з бактерицидною дією, критерієм швидкості формування стійкості штаму бактерій до антибіотиків вважали середній показник МБцК після проведення визначеної кількості пасажів у поживному середовищі з антибіотиком.

Всього було проведено 25 послідовних пасажів з кожною взятою у дослідження культурою. У кожному пасажі визначали середнє значення МБсК та МБцК для трьох культур – носіїв гену *tesA*, і трьох культур, у яких ця генетична днтермінанта була відсутня.

#### 2.4. Методи виявлення у грампозитивних коків генів резистентності до антибіотиків

Сіквенування геному та аналіз структури нуклеотидних послідовностей виділених культур грампозитивних коків проводилось на базі репозиторію полірезистентних мікроорганізмів Військового інституту досліджень ім. Волтера Ріда, США. Передача культур проводилась на умовах «Угоди на подальший розвиток співробітництва та передачу матеріалів під час спільного дослідження» № W81XWH-17-0315 між Національним медичним університетом ім. М. І. Пирогова та Інститутом досліджень центру Волтера Ріда, США.

В репозиторії полірезистентних мікроорганізмів проводилось визначення первинної структури нуклеотидних послідовностей для всього генетичного матеріалу, що містили ізоляти. Дослідження проводилось

методом сіквенування «нового покоління» (next –generation sequencing) на платформі Applied biosystems/life technologies (SOLiD system) [109]. Для ідентифікації генів резистентності проводилось порівняння виділених нуклеотидних послідовностей по базі GenBank® у Національному центрі біотехнології та інформації [110], для порівняння використовували технологію BLAST [111].

З урахуванням «Списку ВООЗ пріоритетних збудників захворювань для НДДКР в галузі створення нових антибіотиків» з метою виявлення генетичних детермінант резистентності до метициліну з числа виділених штамів стафілококів нами було відібрано 10 штамів *S. aureus*, та 25 штамів коагулазонегативних видів (13 – *S. epidermidis*; 12 – *S. haemoliticus*), які виявляли фенотипову стійкість до оксациліну. Крім того, з метою виявлення генетичних детермінант ванкоміцинрезистентності молекулярно-генетичне дослідження було проведено щодо 10 довільно обраних з числа виділених штамів *E. faecium*, оскільки фенотипово стійких до ванкоміцину варіантів в процесі роботи нами виділено не було.

## 2.5. Методи дослідження плівкоутворюючої активності стафілококів

Вивчення біоплівкоутворюючої здатності обраних для дослідження штамів стафілококів проводили за допомогою спектрофотометричного методу за G.D. Christensen (MtP-test «microtiter plate test»), який полягає у відтворенні біоплівки на полімерних багатолункових планшетах з наступним забарвленням 1%-розчином кристалічного фіолетового [112].

Культивування досліджуваних штамів стафілококів проводили у триптон-соевому бульйоні. Визначення проводили в плоскодонних полістеролових 96-лункових планшетах для імуноферментного аналізу. За для цього готували мікробну суспензію з добової культури бактерій, яку розводили поживним середовищем у 100 разів до мутності 0,5 за стандартом McFarland. Концентрація мікроорганізмів в 1мл суспензії становила  $10^6$  КУО.

Отримані суспензії вносили у кожен лунку по 200 мкл (по 8 лунок на кожний дослід), інкубували при 37° С протягом 24 год. По завершенні інкубації ретельно відмивали лунки планшетів від неприкріплених клітин дистильованою водою, біоплівки фіксували 96% етанолом впродовж 10 хв, висушували і забарвлювали 1% розчином кристалічного фіолетового. Через 15 хвилин барвник видаляли, лунки промивали і після висушування додавали по 200 мкл етилового спирту для елюції барвника. Для негативного контролю один ряд планшета ( 8 лунок ) був заповнений відповідним стерильним поживним середовищем.

Визначення оптичної густини (OD) проводили на мікропланшетному аналізаторі GBG Chromate 4300 (Awareness Technology, Inc., USA) при довжині хвилі 630 нм. OD для кожного штаму визначали у трьох повторах, результати усереднювали. Штам вважався позитивним щодо плівкоутворення, якщо його середнє значення OD було більшим, ніж середня оптична щільність негативного контролю збільшена на три стандартних відхилення (SD): (OD негативного контролю + (3×SD негативного контролю)). OD негативного контролю розраховувалось для кожного планшета окремо. Інтенсивність плівкоутворення оцінювали за величиною відносного показника оптичної щільності [113].

## 2.6. Математико-статистичні методи дослідження

Статистичну обробку отриманих результатів проводили з використанням пакету прикладних програм Microsoft Excel 2003, «BioStat LE», Medcalc. Аналіз якісних даних проводився за допомогою критерію  $\chi^2$ . Вираховувались середні арифметичні значення для ряду даних (M) та похибки середніх величин (m); стандартне відхилення (SD), верхній (Q<sub>В</sub>) та нижній (Q<sub>Н</sub>) квартилі, як міри розсіювання; мінімальне (M<sub>min</sub>) та максимальне (M<sub>max</sub>) значення, як показники розмаху вибірки. Достовірність отриманих даних оцінювали шляхом парного порівняння та визначення довірчого інтервалу на

підставі розрахунку коефіцієнта Стюдента ( $t$ ), у випадку нормального розподілу, та за критерієм  $U$  Манна-Уїтні – в інших випадках. Відмінності вважали статистично значущими у відповідності з прийнятим у медико-біологічних дослідженнях показником  $p \leq 0,05$  [69].



### РОЗДІЛ 3

## ХАРАКТЕРИСТИКА БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ДОСЛІДЖЕНИХ ШТАМІВ ГРАМПОЗИТИВНИХ КОКІВ

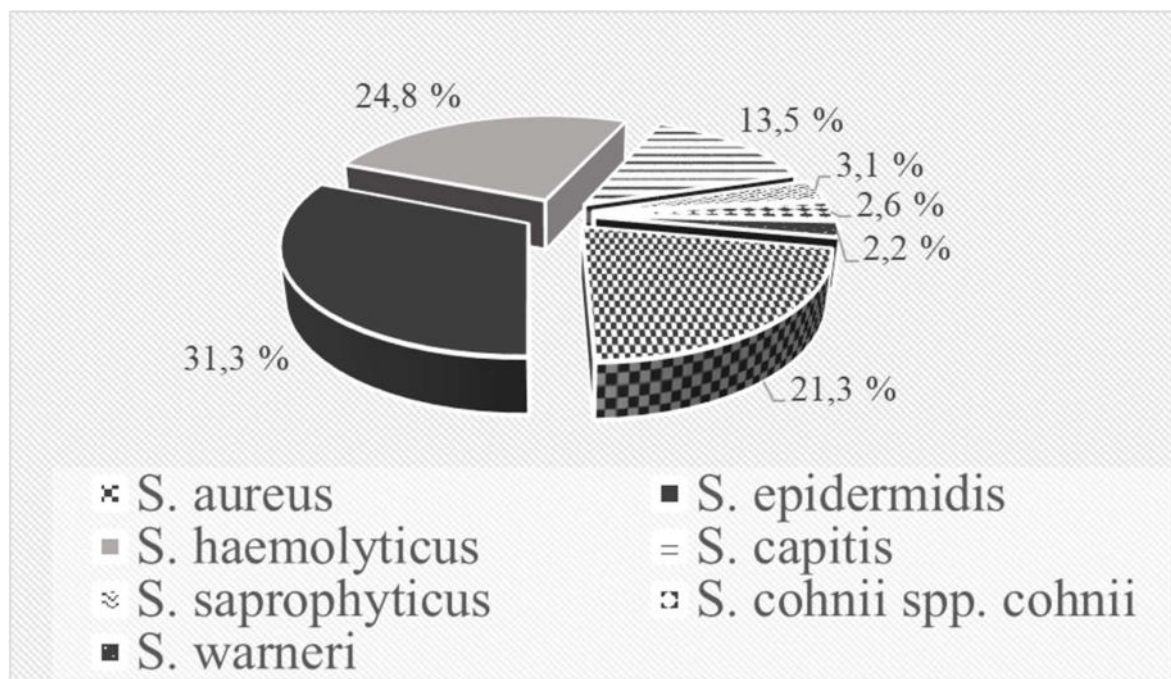
Публікація ВООЗ списку пріоритетних збудників захворювань, що несуть найбільшу загрозу здоров'ю людей, у 2017 р. є закликом до інтенсифікації наукових досліджень біологічних властивостей останніх з метою розробки ефективних засобів боротьби. У цьому списку першу і другу сходинки II категорії пріоритетності (високий рівень пріоритетності) відповідно займають ванкоміцинрезистентні ентерококи та метицилінрезистентні золотисті стафілококи. Тому одним із завдань нашого дослідження було вивчення поширення подібних варіантів грампозитивних коків у лікувальних установах Вінницької області та вивчення їх біологічних властивостей. Досліджували біологічні властивості штамів стафіло- та ентерококів, виділених із вмісту ран, поверхонь дихальної апаратури та інших поверхонь лікарняного середовища [114-115].

3.1. Видовий склад грампозитивної кокової мікрофлори, виділеної у госпітальному середовищі.

У період 2017 – 2020 р. р. нами досліджено властивості 230 ізолятів *Staphylococcus spp.* та 87 штамів *Enterococcus spp.*, виділених від пацієнтів з гнійно-запальними ураженнями м'яких тканин, що тривалий час знаходились на стаціонарному лікуванні у відділеннях хірургічного профілю, та поверхні предметів госпітального середовища. Видовий склад виділених штамів стафілококів ілюструє рис. 3.1.

Питома вага *S. aureus* у загальній кількості ізолятів становила 21,3 %, решта штамів належала до коагулазонегативних видів. Усі штами золотистих стафілококів були виділені із вмісту ран пацієнтів з гнійно-запальними

ураженнями м'яких тканин, з поверхні предметів госпітального середовища та медичного обладнання мікрорганізмів цього виду не виділялось. Лідерами серед усіх видів стафілококів за частотою виділення виявились *S. epidermidis* та *S. haemolyticus*, питома вага яких у загальній кількості виділених штамів склала 31,3 % та 24,8 % відповідно. З відносно високою частотою (13,5 %) зустрічались ізоляти *S. capitis*, представники інших видів стафілококів, що не коагулюють плазму (*S. saprophyticus*, *S. cohnii*, *S. warneri*), були виділені у поодиноких випадках.



**Рис. 3.1.** Характеристика видового складу виділених стафілококів.

Представники коагулазонегативних видів стафілококів також найчастіше виділялись з вмісту нагноєних ран. Окрім того, досить часто ними були контаміновані внутрішні поверхні трубок дихальних контурів та внутрішня сторона лицевих масок пацієнтів, яким здійснювалась неінвазивна респіраторна підтримка, що пояснюється контамінацією представниками нормофлори обстежених в процесі проведення медичних маніпуляцій [116].

Виділені штами стафілококів мали типові морфологічні, тинкторіальні та культуральні характеристики. Результати визначення ферментативної активності виділених штамів наведені у таблиці 3.1.

Таблиця 3.1

**Характеристика ферментативних властивостей виділених штамів  
стафілококів**

Тест	Вид мікроорганізмів (кількість штамів)						
	Результати тесту						
	<i>S. aureus</i> (49)	<i>S. epidermidis</i> (72)	<i>S. haemolyticus</i> (57)	<i>S. saprophyticus</i> (10)	<i>S. cohnii</i> spp. <i>cohnii</i> (6)	<i>S. capitis</i> spp. <i>capitis</i> (31)	<i>S. warneri</i> (5)
1	2	3	4	5	6	7	8
Уреаза	41/8*	+	-	+	3/3	-	+
Аргінін	+	54/18	+	-	-	20/11	3/2
Орнітин	-	-	-	-	-	-	-
Бета-галактозίδαза	-	-	-	8/2	-	-	-
Бета-глюкоронідаза	-	-	51/6	-	-	-	3/2
Ескулін	-	-	-	-	-	-	-
Нітрати	+	+	+	-	-	26/5	3/2
Фосфатаза	+	60/12	-	-	-	-	-
Галактоза	+	64/8	14/43	-	-	-	-
Сахароза	+	+	+	+	-	10/21	+
Трегалоза	48/1	-	+	+	+	-	+
Манітол	+	-	32/25	+	3/3	+	+

Продовження табл. 3.1

1	2	3	4	5	6	7	8
Ксилоза	-	-	1/56	-	-	-	-
Мальтоза	+	+	+	+	+	-	-
Манноза	+	36/36	56/1	-	4/2	+	4/1
Лактоза	+	70/2	29/28	7/3	-	30/1	-
VP-тест	44/5	+	52/5	8/2	4/2	18/13	3/3

Примітки: «+» - ознака позитивна у всіх досліджених штамів; «-» - ознака негативна у всіх досліджених штамів; \* - у числівнику – кількість штамів з позитивною ознакою; у знаменнику – кількість штамів з негативною ознакою.

Дані, наведені у табл. 3.1, свідчать про гетерогенність окремих видів виділених стафілококів за біохімічними властивостями. Так, 5 з 49 досліджених штамів *S. aureus* не утворювали ацетоїну в реакції Фогеса-Проскауера, половина виділених штамів *S. epidermidis* не утилізувала маннози, а кожен четвертий штам не утилізував аргініну. Найбільше варіабельних біохімічних ознак виявилось у *S. haemoliticus* (7 з визначених 16 у СТАФІ-тест16 системі). Однак, подібна варіабельність окремих ферментативних ознак знаходиться у межах відомих видових характеристик біологічних властивостей стафілококів.

За сукупністю морфологічних, культуральних та ферментативних ознак 72 штами (82,8 %) виділених ентерококів було віднесено до виду *E. faecalis*. Ці культури росли у бульйоні з 6,5 % відсотками NaCl, на кров'яному агарі викликали альфа-тип гемолізу, не розщиплювали арабінози, гідролізували піруват. Решта (15) штамів не утилізували пірувату, проте розщиплювали арабінозу, і були віднесені до біологічного виду *E. faecium*.

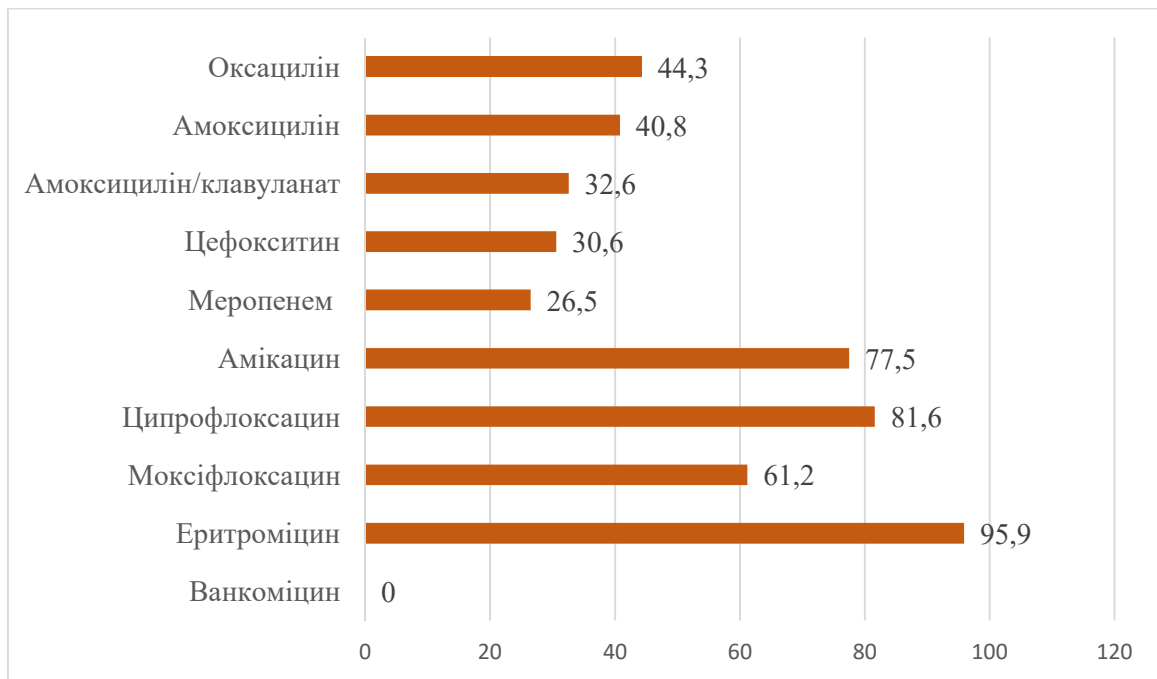
Слід зазначити, що усі використані у дослідженні штами *E. faecium* були виділені із вмісту ран. Сорок чотири із 72 штамів *E. faecalis* були рановими контамінантами або культурами, виділеними з поверхонь

використаних сечових катетерів, решта штамів цього виду були виділені з поверхонь лікарняного середовища, а саме: санітарно-технічного обладнання, дверних ручок та поручнів лікарняних ліжок, зовнішніх поверхонь дихальних контурів та панелей апаратів штучної вентиляції легень. При цьому, метою нашого дослідження не ставилось визначення частоти контамінації тих чи інших об'єктів лікарняного середовища грампозитивними коками.

### 3.2. Характеристика чутливості досліджених штамів грампозитивних коків до антибіотиків.

Висока ступінь контамінації госпітального середовища грампозитивними коками обумовлена еволюційно сформованими тісними симбіотичними взаємостосунками багатьох біологічних видів бактерій цієї групи з організмом людини і їх роллю у патології людей, як умовно-патогенних мікроорганізмів. Сама по собі поширеність бактерій цієї групи у оточуючому людину середовищі є цілком природною і, незважаючи на високу питому вагу у етіологічній структурі гнійно-запальних захворювань, не є особливо небезпечною для людей. У список пріоритетних і небезпечних мікроорганізмів ВООЗ потрапили окремі представники цієї групи бактерій завдяки поширенню їх антибіотикорезистентних варіантів, які обумовлюють патологічні процеси, що не піддаються корекції сучасним арсеналом антибіотиків.

Вивчення рівня резистентності виділених нами культур стафілококів до антибіотиків за допомогою ДДМ показало значну гетерогенність цієї ознаки у різних штамів. У госпітальному середовищі виявлено, як чутливі до антибіотиків різних груп варіанти, так і ті, що за стандартами EUCAST слід віднести до варіантів з розширеною резистентністю (XDR). Узагальнену характеристику рівня стійкості виділених штамів *S. aureus* відображено на рис. 3.2.

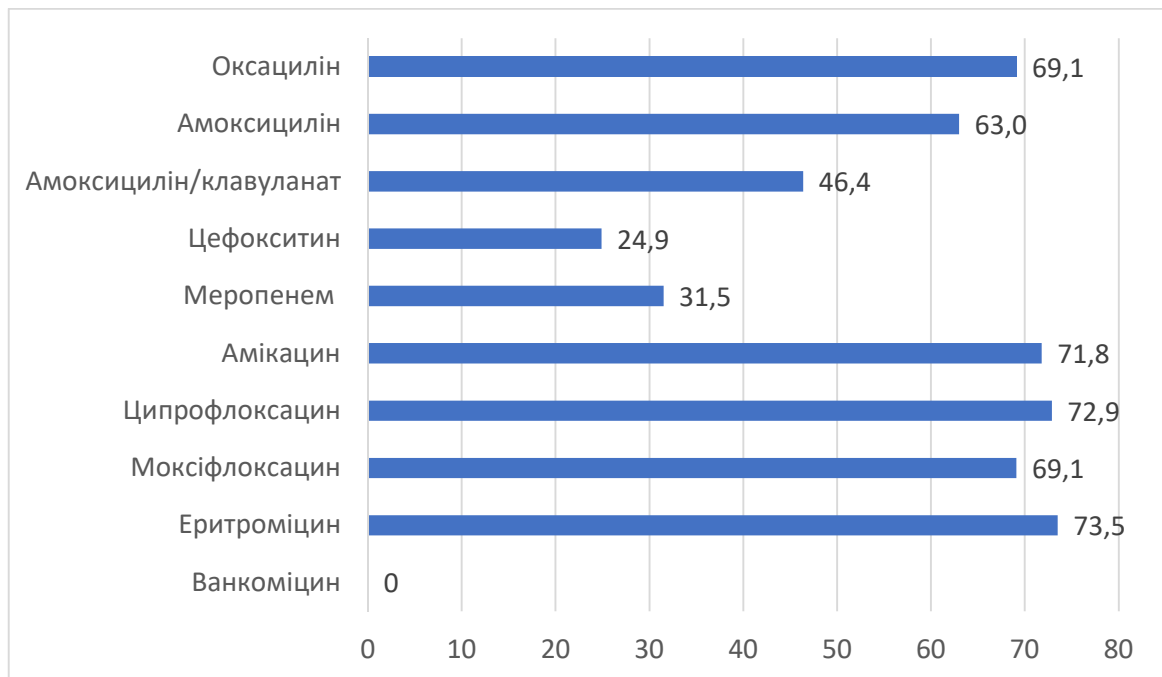


**Рис. 3.2.** Характеристика чутливості виділених штамів *S. aureus* до антибіотиків.

Найвищий рівень стійкості золотисті стафілококи виявили до антибіотиків макролідного ряду (95,9 % штамів). Високим виявився рівень резистентності до ципрофлоксацину та амікацину (81,6 % та 77,5 % відповідно). Серед виділених штамів золотистих стафілококів не виявилось стійких до ванкоміцину варіантів. Щодо метицилінрезистентних штамів, то до оксациліну виявили резистентність 44,9 % (22) штами. Однак, за ознакою стійкості до цефокситину до справжніх метицилінрезистентних варіантів належало лише 30,6% (15) штамів. Різниця у кількості оксацилін- та цефокситинрезистентних штамів пояснюється гіперпродукцією частиною штамів  $\beta$ -лактамаз.

Коагулазонегативні стафілококи також виявили високий рівень резистентності до антибіотиків макролідної, аміноглікозидної та фторхінолонової структури (рис. 3.3) [117 - 118]. Вищим були показники рівня стійкості коагулазонегативних стафілококів, у порівнянні з золотистими стафілококами, і до більшості  $\beta$ -лактамних антибіотиків. Так до оксациліну стійкими були 69,1 % штамів. До амоксициліну – 63 % штамів, проти 40,8 %

штамів золотистих стафілококків. Більша кількість штамів коагулазонегативних стафілококків, у порівнянні з *S. aureus*, виявила стійкість до меропенему (31,5 % та 26,5 % відповідно). Однак, питома вага стійких до цефокситину штамів коагулазонегативних стафілококків була нижчою, ніж серед *S. aureus* (24,9 % та 30,6 % відповідно).



**Рис. 3.3.** Характеристика чутливості виділених штамів коагулазонегативних стафілококків до антибіотиків.

Узагальнений показник резистентних до оксациліну і цефокситину штамів серед виділених нами у лікарняних закладах м. Вінниці представників *Staphylococcus spp.* становить 26,1 %.

Резистентність стафілококків до  $\beta$ -лактамних антибіотиків може бути обумовлена продукцією  $\beta$ -лактамаз, чи зміною структури органу мішені у вигляді появи пеніцилінзв'язуючого білку ПЗБ2а, який має низьку афінність до  $\beta$ -лактамів, в т.ч. карбапенемів, і безпосередньо відповідає за розвиток метицилінрезистентності. Фенотипові прояви гіперпродукції  $\beta$ -лактамаз і справжньої метицилінрезистентності, обумовленої наявністю додаткового ПЗБ, однакові, оскільки варіанти стафілококків з обома механізмами стійкості

можуть виявляти резистентність до карбапенемів і захищених амінопеніцилінів та цефалоспоринів [119].

Повне розуміння закономірностей формування резистентності до окремих антибіотиків не можливе без застосування генетичних методів аналізу. Єдиним об'єктивним методом визначення справжньої метицилінрезистентності з метою оцінки та прогнозування епідемічної ситуації є виявлення структурного гену *tes A*, що кодує синтез пеніцилінзв'язуючого білку ПЗБ2а, молекулярно-генетичними методами. З метою встановлення поширеності штамів стафілококів – носіїв генетичних детермінант резистентності до антибіотиків різних хімічних груп, частина випадково, без урахування фенотипових проявів стійкості, вибраних штамів була досліджена методами молекулярно-генетичного аналізу.

В результаті повного секвенування геному у відібраних штамів стафілококів було виявлено 11 генів стійкості до антибіотиків різної хімічної структури. Спектр генетичних детермінант резистентності та частота виявлення у дослідженій вибірці представлена у таблиці 3.2.

Слід зазначити, що усі досліджені штами були носіями водночас від 3 до 9 генів, які забезпечують стійкість до антибіотиків однієї або різних груп. Цим пояснюється множина антибіотикорезистентність більшості штамів, що виявлялась фенотипово.

Як свідчать дані, наведені у табл. 3.2, 100 % досліджених штамів виявились носіями гену *bla Z*, відповідального за синтез  $\beta$ -лактамаз, які руйнують пеніцилін. Понад 90 % штамів коагулазопозитивних і коагулазонегативних штамів стафілококів були продуцентами аміноглікозид-аденілтрансфераз (*ant*), що інактивують стрептоміцин. Більше половини досліджених штамів виявились носіями генів, які обумовлюють синтез аміноглікозид-ацетилтрансфераз (*aac*), та аміноглікозид-фосфотрансфераз (*aph*), що руйнують інші антибіотики аміноглікозидного ряду. Від 60 % до 92 % штамів мали різні генетичні детермінанти стійкості до антибіотиків макролідного та тетрациклінового рядів. Половина досліджених штамів *S.*



*aureus* та 60 % коагулазонегативних стафілококів мали генетично закріплену стійкість до препаратів фторхінолонового ряду [120].

Таблиця 3.2

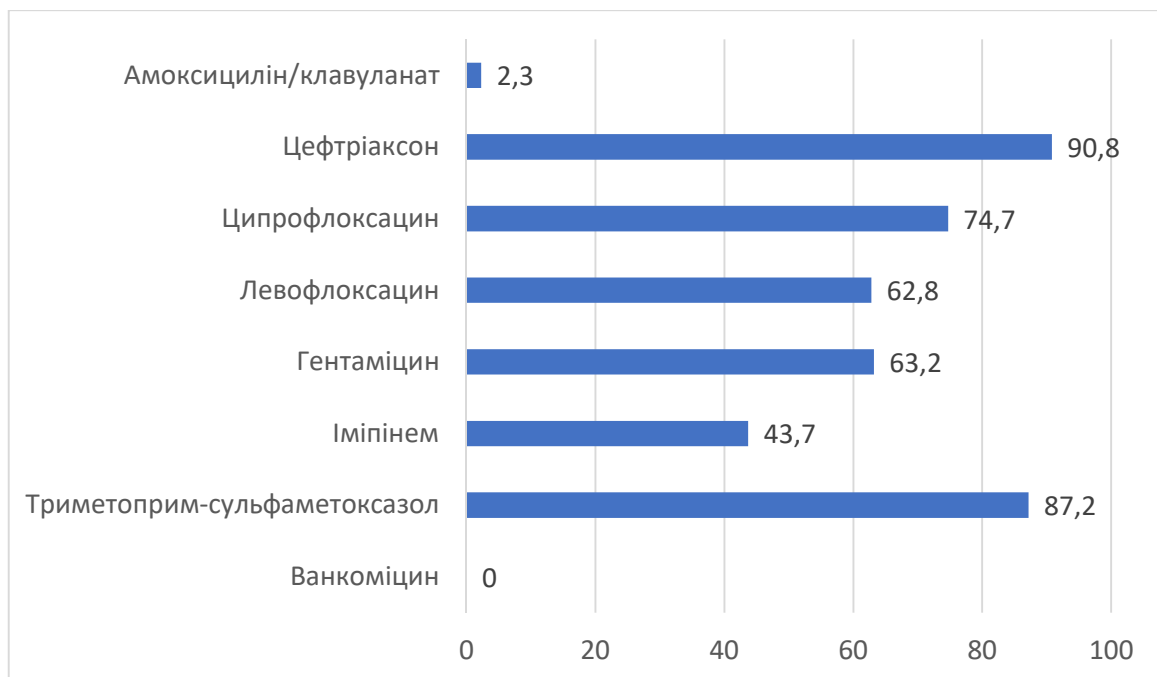
**Частота виявлення генетичних маркерів резистентності до антибіотиків у досліджених штамів стафілококів**

Ген	Фенотип резистентності	Кількість штамів-носіїв гена			
		<i>S. aureus</i> (n=10)		Коагулазонегативні (n=25)	
		абс. ч.	%	абс. ч.	%
<i>bla Z</i>	β-лактамази: пеніциліни	10	100	25	100
<i>mec A</i>	β-лактамази: оксацилін, метицилін	3	30	6	24
<i>aac</i> (6') – <i>aph</i> (2")	аміноглікозиди: гентаміцин, канаміцин, тобраміцин	5	50	21	84
<i>ant</i> (6) 1a	аміноглікозиди: стрептоміцин	9	90	23	92
<i>aph</i> (3') III	аміноглікозиди: амікацин, канаміцин	7	70	14	56
<i>erm</i> (C)	макроліди	6	60	18	72
<i>mph</i> (C)	макроліди	6	60	22	88
<i>mrs</i> (A)	макроліди	9	90	23	92
<i>cat</i> (pc221)	феніколи	7	70	17	68
<i>nor A</i>	фторхінолони	5	50	15	60
<i>tet</i> (K)	тетрацикліни	8	80	22	88

Резистентність до метициліну, забезпечена наявністю гену *mec A*, що кодує синтез пеніцилінзв'язуючого білку ПЗБ2а, була притаманна 30 % взятих у дослідження штамів *S. aureus* та 24 % штамів коагулазонегативних

стафілококів. Слід звернути увагу на те, що значення показників поширеності генетичних детермінант резистентності до кожної з груп антибіотиків, в т. ч. до оксациліну з цефокситіном, серед досліджених штамів стафілококів близькі до показників фенотипових профілів стійкості. Вищий, ніж поширеність гену *nor A*, рівень фенотипової стійкості до фторхінолонів серед стафілококів може пояснюватись точковими мутаціями в генах *par C* та *gyr A* [121].

Ентерококи, як і стафілококи, є представниками нормофлори організму людини і несуть небезпеку здоров'ю людини лише у випадках зміни звичайного локусу існування. Найнебезпечнішими при цьому є варіанти, що характеризуються множинною антибіотикорезистентністю. На рисунку 3.4 представлена узагальнена характеристика стійкості до антибіотиків виділених нами штамів ентерококів, визначена за допомогою ДДМ. Перелік антибіотиків визначали з урахуванням сучасних рекомендацій EUCAST.



**Рис. 3.4.** Характеристика чутливості виділених штамів *Enterococcus spp.* до антибіотиків.

Ентерококи відомі високим рівнем стійкості до цефалоспоринів за рахунок низької проникливості клітинних оболонок для препаратів цього

ряду, вочевидь тому, понад 90 % досліджених штамів виявились стійкими до цефтриаксону. Проте, більше половини досліджених штамів виявилось чутливими до антибіотика карбапенемового ряду іміпенему. Високий рівень чутливості ентерококи мали до широко вживаного у медичній практиці захищеного  $\beta$ -лактам амоксацилін/клавуланату, стійкими до якого виявились лише 2,3 % досліджених штамів. Низький рівень чутливості досліджені клінічні штами виявляли до аміноглікозидних, фторхінолонових препаратів та триметоприм-сульфаметоксазолу. Найважливішим, з урахуванням завдань нашого дослідження, стало те, що серед досліджених штамів ентерококів не виявилось ванкоміцинрезистентних варіантів.

Враховуючи те, що генетично детермінована ванкоміцинрезистентність може носити індуктивний характер і не виявляється ДДМ, одержані результати потребували підтвердження результатами молекулярно-генетичних досліджень. Було проаналізовано наявність генетичних детермінант стійкості до антибіотиків за результатами секвенування геному 10 довільно обраних з числа виділених штамів *E. faecium*, оскільки ванкоміцинрезистентні варіанти саме цього виду ентерококів включено у перелік «пріоритетних патогенів» ВООЗ. Результати представлені у таблиці 3.3.

Як зазначено у табл. 3.3, усі досліджені штами мали по одній або декілька детермінант, відповідальних за стійкість до антибіотиків аміноглікозидного, лінкозамідного, тетрациклінового ряду та триметоприму. Проте, у жодного із досліджених штамів не було виявлено генетичних маркерів стійкості до ванкоміцину (Van A, Van B), що підтвердило одержані за допомогою ДДМ результати.

Узагальнюючи наведені у даному розділі результати досліджень біологічних властивостей грампозитивних коків, які циркулюють у госпітальному середовищі регіональних лікувальних закладів, слід зазначити, що домінуючими видами є *S. aureus*, *S. epidermidis*, *S. haemolyticus* та *E. faecalis*.

**Частота виявлення генетичних маркерів резистентності до антибіотиків  
у досліджених штамів ентерококів**

Ген	Фенотип резистентності	Кількість штамів <i>E. faecium</i> (n=10) носіїв гена	
		абс. ч.	%
<i>aph</i> (3') III a	аміноглікозиди: амікацин, канаміцин	8	80
<i>aac</i> (6') – 1e	аміноглікозиди: амікацин, тобраміцин	7	70
<i>aph</i> (2'') – 1a	аміноглікозиди: амікацин, тобраміцин	8	80
<i>ant</i> (6) 1a	аміноглікозиди: стрептоміцин	10	100
<i>str</i>	аміноглікозиди: стрептоміцин	10	100
<i>esa</i> (A)	лінкозаміди	10	100
<i>erm</i> (B)	макроліди	10	100
<i>cat</i> (A)	феніколи	4	40
<i>sat</i> 4	стрептоміцин	10	100
<i>tet</i> (L)	тетрацикліни	2	20
<i>tet</i> (M)	тетрацикліни	9	90
<i>dfr</i> E	триметоприм	10	100
<i>dfr</i> F	триметоприм	5	50
<i>dfr</i> G	триметоприм	5	50
Van A	глікопептиди: ванкоміцин, тейкопланін	0	0
Van B	глікопептиди: ванкоміцин	0	0

Досліджені штами, незалежно від видової та родової належності, характеризуються високим рівнем резистентності до антибіотиків аміноглікозидної, макролідної та фторхінолонової структури. Чутливість до антибіотиків  $\beta$ -лактамного ряду у досліджених штамів стафіло- та ентерококів характеризувалась варіабельністю. Однак, серед досліджених штамів

грампозитивних коків до пріоритетних за списком ВООЗ збудників захворювань, що несуть найбільшу загрозу здоров'ю людей, належало 30 % штамів *S. aureus*. Серед виділених штамів коагулазонегативних стафілококів за результатами досліджень фенотипових та молекулярно-генетичних характеристик метіцилінрезистентними виявились 24 %. Ванкоміцинрезистентних варіантів стафіло- та ентерококів серед виділених у лікувальних закладах м. Вінниці штамів не виявлено.

## РОЗДІЛ 4

### ШВИДКІСТЬ ФОРМУВАННЯ СТІЙКОСТІ СТАФІЛОКОКІВ ДО ПРОТИМІКРОБНИХ ЗАСОБІВ В ШТУЧНИХ УМОВАХ

Загрозливою тенденцією, яка вимусила ВООЗ окремі варіанти стафілококів занести у список «пріоритетних патогенів», що несуть найбільшу небезпеку здоров'ю людей, є зростання рівня їх резистентності до антибіотиків. При цьому, в згаданий перелік включено метицилінрезистентні варіанти *S. aureus* та ванкоміцинрезистентні варіанти *E. faecium*. За оцінками експертів ВООЗ включені у перелік види бактерій становлять загрозу досягненням сучасної медицини, оскільки нівелюють ефективність сучасного арсеналу протимікробних засобів, несуть значні соціально-економічні втрати, подовжуючи терміни госпіталізації хворих і збільшуючи вартість їх лікування та обумовлюючи зростання летальності. Вірогідність смерті хворого, інфікованого метицилінрезистентними стафілококами, на 64 % вища, ніж пацієнта з нерезистентним штамом *S. aureus*.

За результатами наших досліджень серед циркулюючих у лікувальних закладах штамів грампозитивних коків ванкоміцинрезистентних варіантів *E. faecium* виявлено не було. Однак, з досить високою частотою (26,1 %) виділялись метицилінрезистентні варіанти стафілококів, в т. ч. і *S. aureus*. Препаратами вибору у боротьбі з метицилінрезистентними штамми *S. aureus* у сьогоденній клінічній практиці більшість фахівців вважають глікопептидний антибіотик ванкоміцин. Враховуючи те, що у останні роки почали поширюватись метицилінрезистентні варіанти стафілококів, які і до ванкоміцину не виявляють чутливості, ще одним препаратом вибору став синтетичний препарат нової хімічної групи оксазолідинонів – лінезолід [122 - 124].

Метою досліджень, результати яких наведені у цьому розділі, було встановити, як швидко формується стійкість до ванкоміцину і лінезоліду та

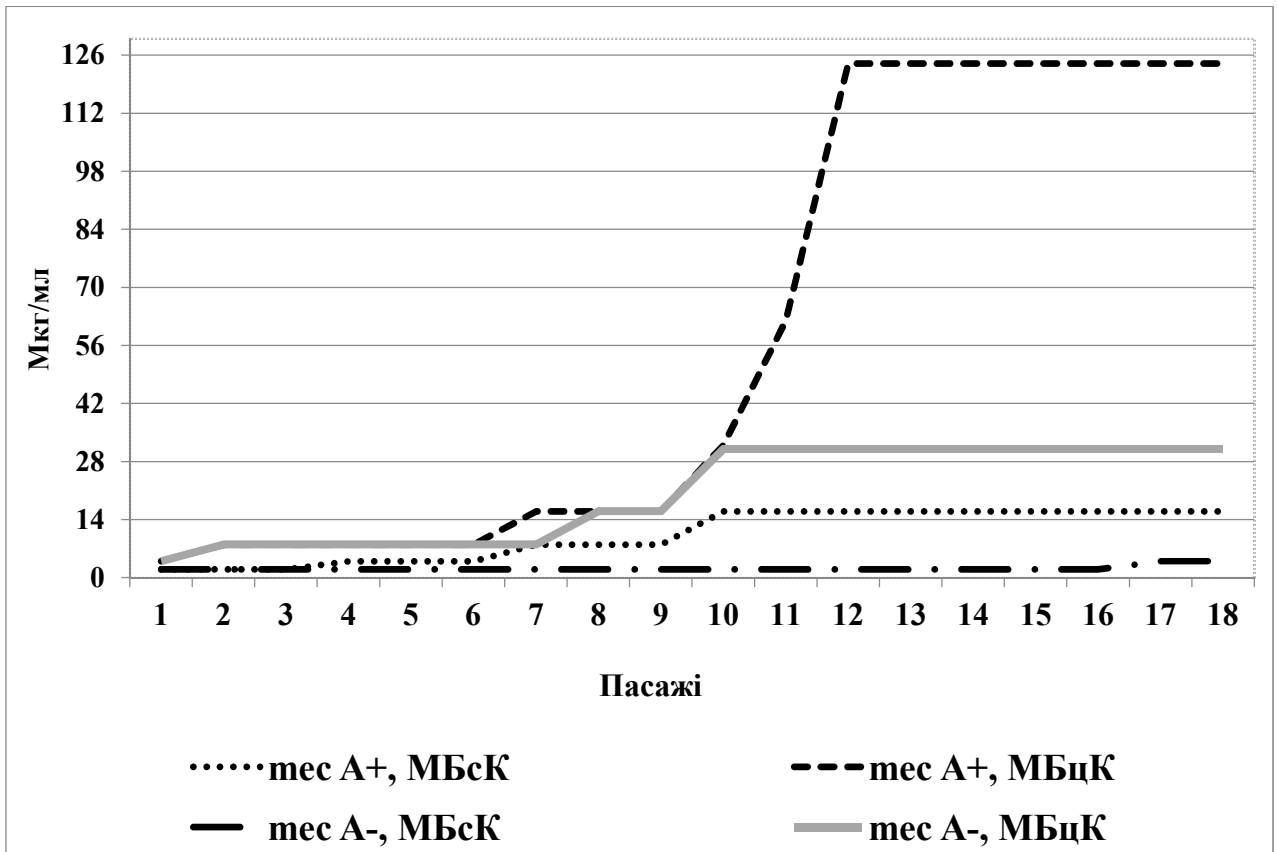
інших протимікробних засобів у метицилінрезистентних *S. aureus*, у порівнянні з не резистентними до метициліну варіантами в штучних умовах.

4.1. Формування стійкості стафілококів до протимікробних препаратів, що застосовуються системно

У дослідженнях використовували 3 штами *S. aureus*, у яких молекулярно-генетичними методами було підтверджено наявність генетичної детермінанти синтезу ПЗБ2а (*mecA*), (MRSA). Ще три штами не мали генетичних детермінант стійкості до метициліну (MSSA). При цьому, усі взяті у дослідження штами фенотипово (при визначенні ДДМ) не виявляли стійкості до ванкоміцину лінезоліду, проте, були стійкими до оксациліну. Крім ванкоміцину і лінезоліду у дослідженнях використовували фторхінолон левофлоксацин, до якого за даними літератури чутливими є метицилінчутливі штами *S. aureus* і помірно чутливими – метицилінрезистентні варіанти [125]. Мінімальна бактеріостатична концентрація левофлоксацину на початку дослідження для усіх використаних у штамів стафілококів становила 2 мкг/мл. МБЦК для штамів MSSA була не більшою 4 мкг/мл, а для штамів MRSA дорівнювала 40 мкг/мл.

На рис. 4.1 відображено швидкість зростання стійкості досліджених штамів MSSA та MRSA до ванкоміцину в процесі послідовного пасажування у середовищах із зростаючими концентраціями препарату.

Аналіз зображення на рис. 4.1.1 дозволяє зробити висновок про наявність істотних відмінностей у швидкості формування резистентності до ванкоміцину у MSSA, у порівнянні з MRSA. У MSSA МБсК практично не змінювалась протягом усього дослідження, і лише на 18-му пасажі зростає з 2 мкг/мл до 4 мкг/мл. Мінімальна бактерицидна концентрація зростала швидше і уже на 10-му пасажі досягла 32 мкг/мл при початковій у 4 мкг/мл. Подальшого зростання стійкості до ванкоміцину у MSSA не спостерігали до 20-го пасажу.



**Рис. 4.1.** Швидкість формування стійкості до ванкоміцину у метицилінчутливих і метицилінрезистентних штамів стафілококів.

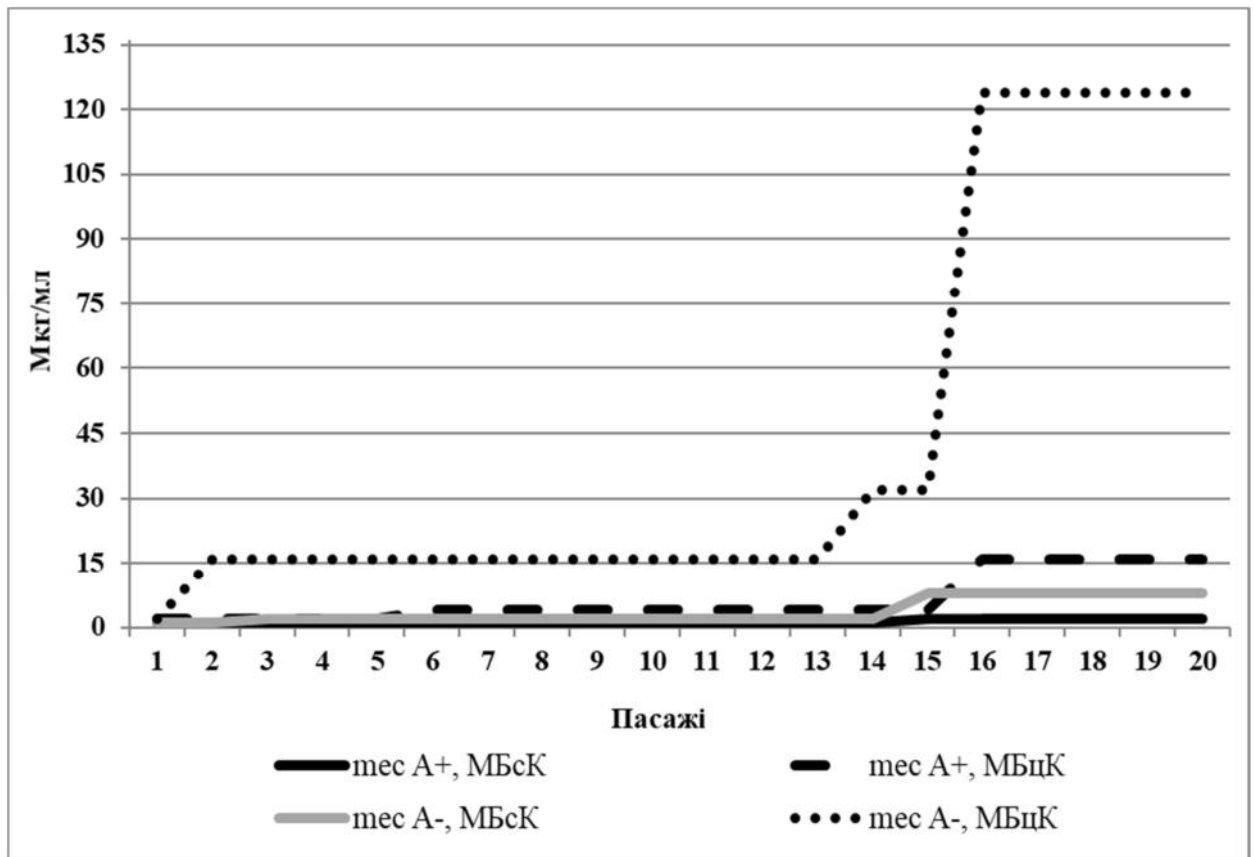
У MRSA МБсК ванкоміцину теж зростала повільно, проте сягала у 4 рази вищих показників (16 мкг/мл), ніж у MSSA. МБцК ванкоміцину для цього варіанту стафілококів уже на 10-му пасажі досягла 32 мкг/мл, а до 12-го пасажу зросла до 125 мкг/мл і трималась на такому рівні до 20-го пасажу.

Враховуючи те, що концентрація ванкоміцину у плазмі крові на піку після введення терапевтичної дози становить 23 мкг/мл, можна очікувати довготривалого збереження клінічної ефективності препарату, адже його бактеріостатична концентрація в процесі адаптації, як для MSSA так і для MRSA зростає поволі і не сягає критичних значень. Однак, в цілому одержані результати свідчать про більш швидку адаптацію MRSA до наявності у оточуючому середовищі ванкоміцину, у порівнянні з MSSA.

Штучна адаптація тих же штамів стафілококів до лінезоліду відбувалась дуже повільно, при цьому спостерігались дещо інші



закономірності (рис. 4.2).



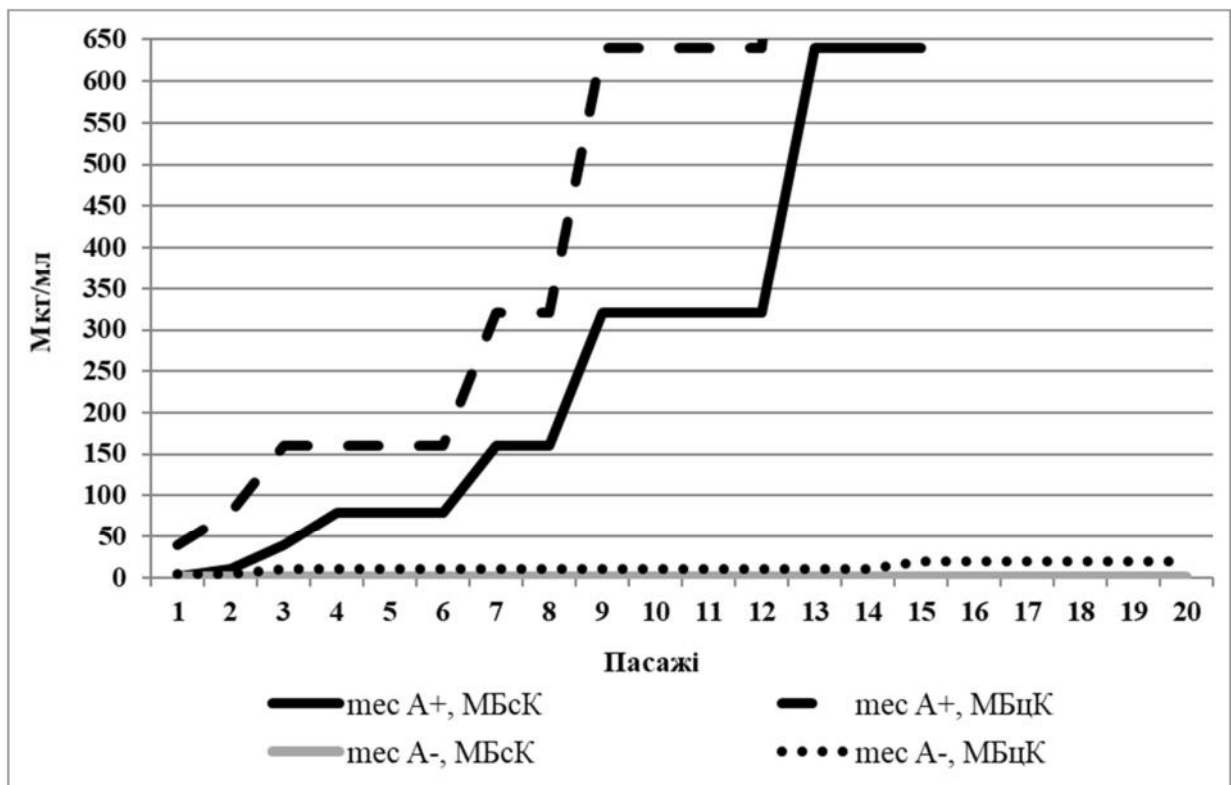
**Рис. 4.2.** Швидкість формування стійкості до лінезоліду у метицилінчутливих і метицилінрезистентних штамів стафілококів.

Так МБсК препарату для MRSA протягом 14-ти пасажів трималась на рівні 1 мкг/мл, на 15-му пасажі зросла у двічі і на такому рівні залишалась до 20-го пасажу. У MSSA стійкість до лінезоліду за показником МБсК теж залишалась на початковому рівні до 14-го пасажу, після чого зростала до 8 мкг/мл. Для штамів MRSA МБцК лінезоліду залишалась низькою (2-4 мкг/мл) до 14-го пасажу і потім зростала до 16 мкг/мл. У штамів MSSA після 12-ти пасажів цей показник стрибкоподібно у декілька кроків зростав до 125 мкг/мл.

Таким чином, в процесі штучної адаптації стафілококів до присутності підвищених концентрацій лінезоліду у оточуючому середовищі для MSSA було досягнуто значно вищих показників МБсК та МБцК, ніж для MRSA. Однак, проведених спостережень недостатньо для того, щоб стверджувати

статистично достовірно швидше формування стійкості до лінезоліду MSSA, у порівнянні з MRSA. Можна лише відзначити те, що наявність генетично детермінованої метицилінрезистентності у стафілококів не обумовлює швидкого формування їх стійкості до лінезоліду.

Найбільш очевидною була різниця у швидкості формування стійкості метицилінчутливих і метицилінрезистентних стафілококів до левофлоксацину (рис. 4.3).



**Рис. 4.3.** Швидкість формування стійкості до левофлоксацину у метицилінчутливих і метицилінрезистентних штамів стафілококів.

У MSSA протягом 20-ти пасажів МБсК залишалась на одному рівні (2 мкг/мл). МБцК також зростала повільно і лише після 15-го пасажу досягла 20 мкг/мл. Тоді як, у штамів MRSA обидва показники синхронно стрибкоподібно і швидко зростали до максимально досяжних в умовах досліду показників. Так, МБцК левофлоксацину для MRSA з 1-го пасажу до 3-го зросла від 40 мкг/мл до 160 мкг/мл, на 7-му – зросла ще у 2 рази, після двох наступних пасажів – знову зросла у 2 рази і на 13-му – стрибнула до максимально

досяжної у досліді концентрації, що була більшою 1250 мкг/мл. Слід при цьому зазначити, що серед генетичних детермінант стійкості до антибіотиків, виявлених у використаних у дослідженні штамів стафілококів в процесі молекулярно-генетичних досліджень, генів, що відповідають за специфічну резистентність до фторхінолонів, виявлено не було.

Узагальнюючи наведене вище, слід зазначити, що у клінічних штамів стафілококів, в т. ч. метицилінрезистентних, в умовах досліду стійкість до ванкомицину і лінезоліду формується повільно. Це дозволяє зробити сприятливий прогноз щодо строків збереження цими препаратами клінічної ефективності у найближчі роки. Подібного не можна сказати про препарати фторхінолонового ряду, до високих концентрацій яких штами MRSA адаптуються дуже швидко.

#### 4.2. Формування стійкості у стафілококів до антисептиків

Антисептичні засоби мають досить жорсткі механізми впливу на мікроорганізми і пошкоджують, в першу чергу, поверхневі структури бактеріальних клітин. Резистентність до них у бактерій формується значно повільніше, ніж до антибіотиків, тим більше, що топічне застосування дає можливість до використання досить широкого діапазону концентрацій препаратів [126 - 127]. Між тим, у останні роки фахівці не відкидають загрози поширення стійких до антисептиків варіантів мікроорганізмів [89, 128, 129]. Тому, являє значний науково-практичний інтерес з'ясування адаптивної здатності метицилінрезистентних варіантів стафілококів у відношенні широко використовуваних у медичній практиці антисептиків [130, 131].

Нами було визначено середні показники чутливості 10 виділених штамів *S. aureus*, що не мали генетичних детермінант резистентності, до четвертинної амонієвої сполуки декаметоксину та похідного бігуанідину хлоргексидинубіглюконату. Для порівняння ті ж показники встановлено для 3 штамів *S. aureus*, у яких молекулярно-генетичним методом підтверджена

метицилінрезистентність. Чутливість до цих антисептиків визначено також у *E. faecium*. Оскільки серед виділених штамів ентерококів не було виявлено ванкоміцинрезистентних варіантів, то для дослідження обрали 10 штамів, які за фенотиповими ознаками у відповідності до вимог EUCAST належали до MDR-варіантів. Отримані результати наведені у табл. 4.1.

Таблиця 4.1

**Чутливість виділених штамів грамполозитивних коків до декаметоксину та хлоргексидину**

Вид мікроорганізмів	Хлоргексидин		Декаметоксин	
	МБсК	МБцК	МБсК	МБцК
	M ± m (мкг/мл)			
<i>S. aureus</i> ( <i>mecA</i> -); (n=10)	6,67± 0,84	14,52± 1,01	2,32± 0,46	3,12± 0,37 <sup>1</sup>
<i>S. aureus</i> ( <i>mecA</i> ); (n=3)	2,32± 0,31	12,33± 4,35	1,48± 0,21	2,87± 0,88 <sup>1</sup>
<i>E. faecium</i> (n=10)	4,74± 0,64	17,27± 7,77	1,79± 0,39	7,63± 0,95 <sup>1</sup>

Примітки: <sup>1</sup> – показник статистично достовірно відрізняється від аналогічного для біглюконатхлоргексидину (p < 0,05).

Показники, наведені у табл. 4.1 свідчать про високий рівень чутливості досліджених штамів до антисептиків. Адже, у клінічній практиці досліджені препарати використовуються у розчинах, що містять від 100 мкг/мл до 500 мкг/мл препарату. У наших дослідженнях середній показник МБцК декаметоксину для стафілококів був близьким до 3 мкг/мл, а хлоргексидину – не більше 15 мкг/мл, що вказує на високу надійність згубного впливу робочих розчинів антисептиків на цей вид мікроорганізмів. МБцК декаметоксину для *E. faecium* дорівнювала 7,63± 0,95 мкг/мл, хлоргексидину – 17,27±7,77 мкг/мл,

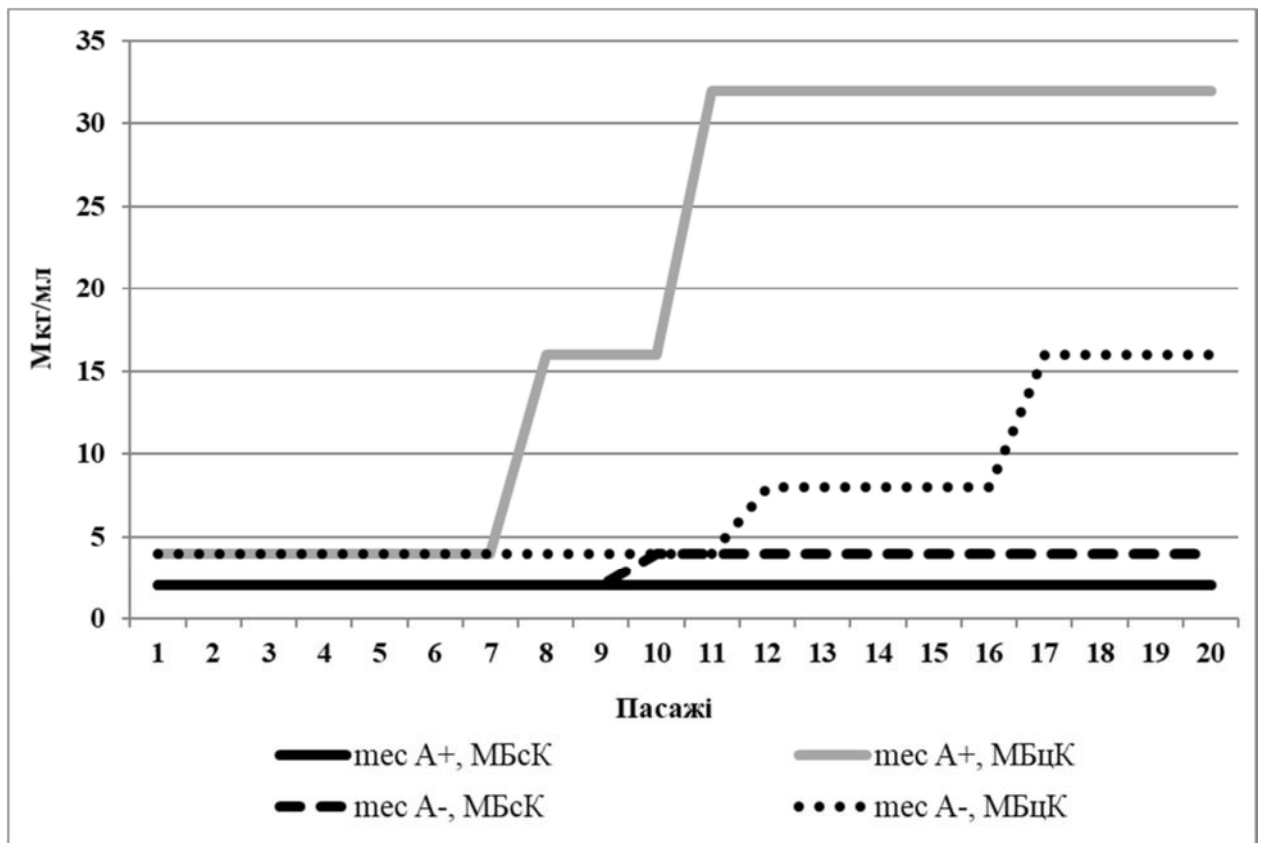
що демонструє вищий рівень стійкості ентерококів до досліджених антисептиків, у порівнянні з стафілококками.

Статистично достовірної різниці у чутливості до декаметоксину та хлоргексидину у метицилінчутливих та метицилінрезистентних варіантів стафілококів встановлено не було. Це дозволяє стверджувати, що метицилінрезистентні *S.aureus* з групи «пріоритетних», за думкою ВООЗ, мікроорганізмів залишаються вразливими для дії поверхнево-активних антисептиків у тій же мірі, що і інші бактерії.

Між тим, визначення здатності цих варіантів мікроорганізмів адаптуватись до наявності антисептиків в оточуючому середовищі можливе експериментальним шляхом. У дослідах по штучній адаптації грампозитивних коків до декаметоксину і хлоргексидину у рідких поживних середовищах з наростаючими концентраціями антисептиків нами було використано по 3 штами мікроорганізмів *S. aureus (mecA-)*, *S.aureus (mecA+)* та *E. faecium*.

На рис. 4.4 наведено криві швидкості адаптації метицилінчутливих і метицилінрезистентних штамів стафілококів до антисептика декаметоксину, який у практиці клінічних закладів різного профілю використовується у вигляді 0.02 % розчину.

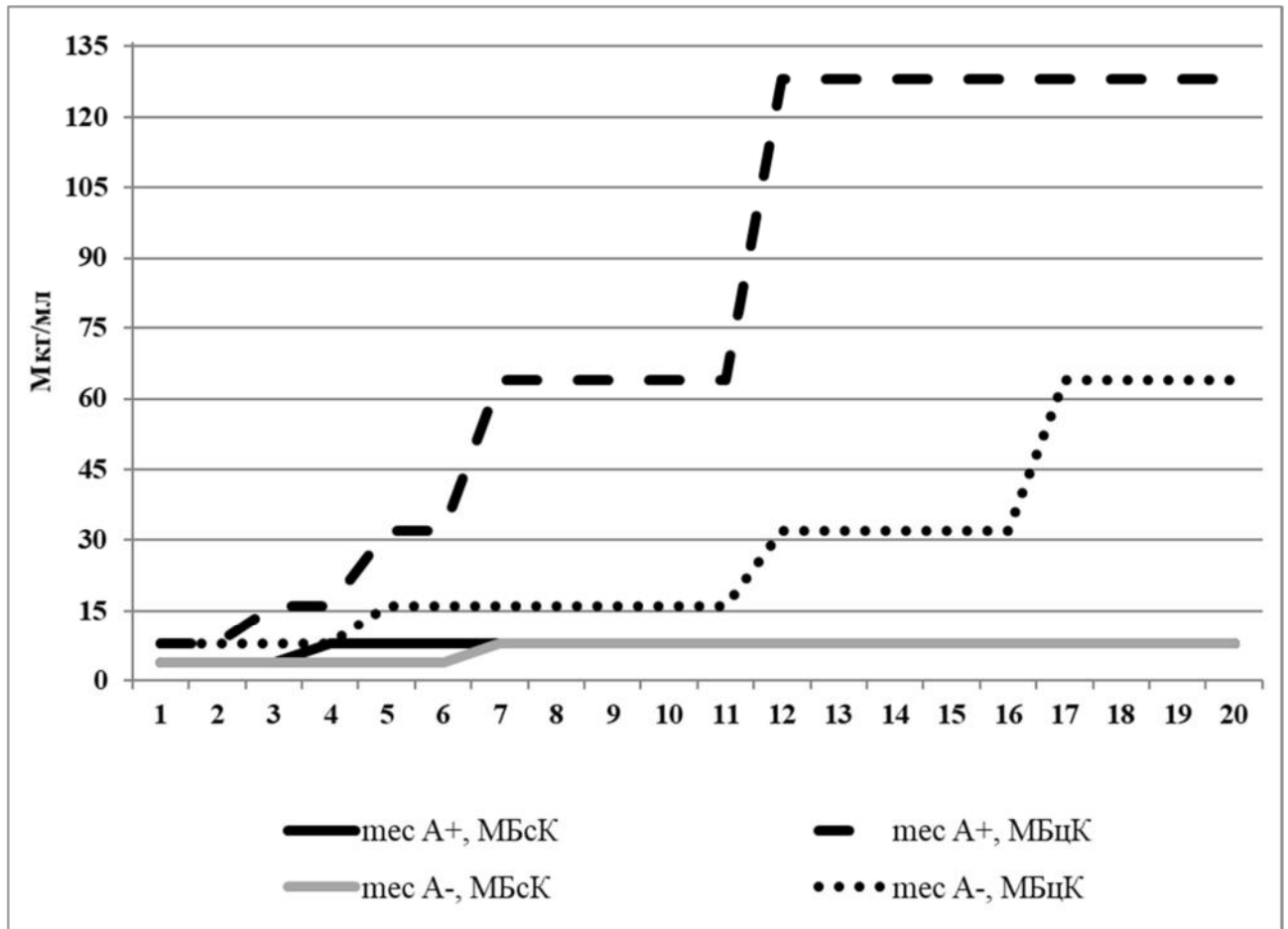
Аналіз зображення на рис 4.4 показує, що МБСК декаметоксину для MRSA протягом 20 пасажів у середовищі з наростаючими концентраціями препарату не змінюється і залишається на рівні 2 мкг/мл. Для MSSA цей показник після 10-го пасажу зріс у два рази і залишався таким до кінця дослідження. Тобто, бактеріостатична дія декаметоксину зберігається на одному рівні навіть при тривалому контакті клітин як MSSA так і MRSA з молекулами цієї хімічної сполуки.



**Рис. 4.4.** Швидкість формування стійкості до декаметоксину у метицилінчутливих і метицилінрезистентних штамів стафілококів.

Певне зростання мінімальної бактерицидної концентрації декаметоксину спостерігали для обох варіантів стафілококів і у MRSA цей показник досяг вищих значень, ніж у MSSA. Так, для останніх після 17-го пасажу МБцК стала у 4 рази вищою, у порівнянні з початковою і досягла значення 16 мкг/мл. Для MRSA після 11-ти пасажів стрибнула до 32 мкг/мл і залишалась на такому рівні після 20-ти пасажів. Таким чином, можна помітити тенденцію щодо вищої здатності MRSA адаптуватись до дії антисептика, у порівнянні з MSSA. Однак, в цілому у обох варіантів стафілококів швидкість адаптації до дії антисептика є низькою і, враховуючи те, що робочі концентрації декаметоксину дорівнюють 200 мкг/мл, не сягає критичного для ефективності препарату рівня [132].

Рисунок 4.5 ілюструє швидкість адаптації MRSA та MSSA до антисептика біглюконатухлогексидину, який у клінічній практиці використовується у вигляді 0,05 % розчину.



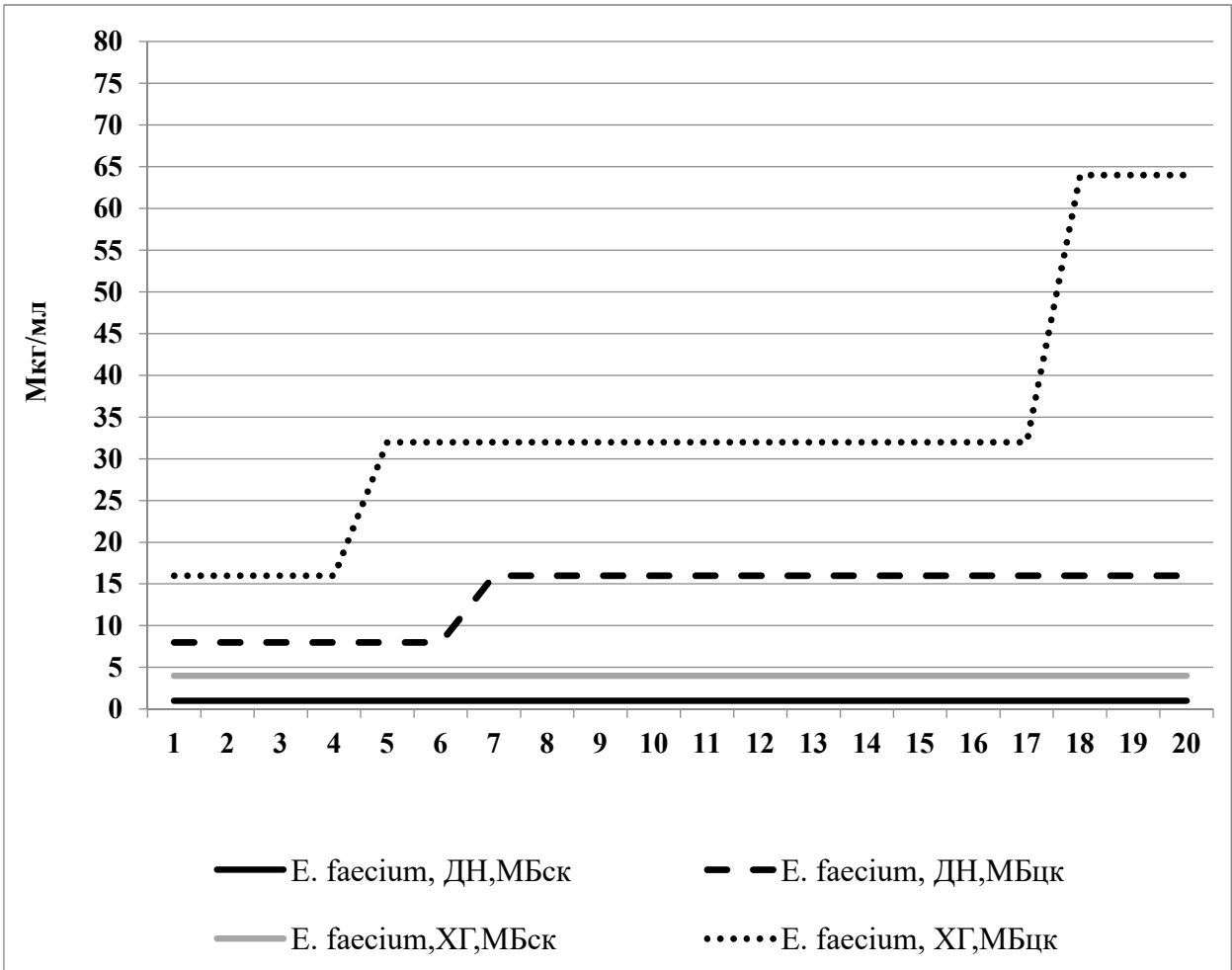
**Рис. 4.5.** Швидкість формування стійкості до біглюконатхлоргексидину у метицилінчутливих і метицилінрезистентних штамів стафілококів.

Співствлення зображень рис. 4.4 та 4.5 показує, що, як і для декаметоксину, для хлоргексидинубіглюконату МБсК протягом 20-ти пасажів не змінюється і тримається на рівні не вище 8 мкг/мл препарату для обох варіантів стафілококів МБцК виявляє тенденцію до зростання. При цьому значення показника у варіантів *S.aureus* (*mecA*+) сягають у двічі більшої величини (128 мкг/мл), ніж у варіантів *S. aureus*(*mecA*-) (64 мкг/мл).

Таким чином, для біглюконатхлоргексидину виявлені ті самі тенденції у швидкості формування резистентності стафілококів, що і у декаметоксину. Проте, декаметоксин має певні переваги, оскільки його показник МБцК після 20-ти пасажів у середовищах з наростаючими

концентраціями антисептика у 8 разів нижчий, ніж у хлоргексидину [133 - 135].

Зображення на рис. 4.6 засвідчує низьку здатність до адаптації до хлоргексидину і декаметоксину у іншого виду грампозитивних коків, а саме: *E. faecium*. На початку експерименту для обраних у дослідження штамів ентерококів МБсК та МБцК декаметоксину становили 1 мкг/мл та 8 мкг/мл відповідно, ті ж показники біглюконатухлоргексидину дорівнювали 4 мкг/мл та 16 мкг/мл. Як видно з рис. 4.6, МБсК препаратів протягом 20-ти пасажів у середовищах зростаючими концентраціями декаметоксину і хлоргексидину не змінювались і залишались на початковому рівні.

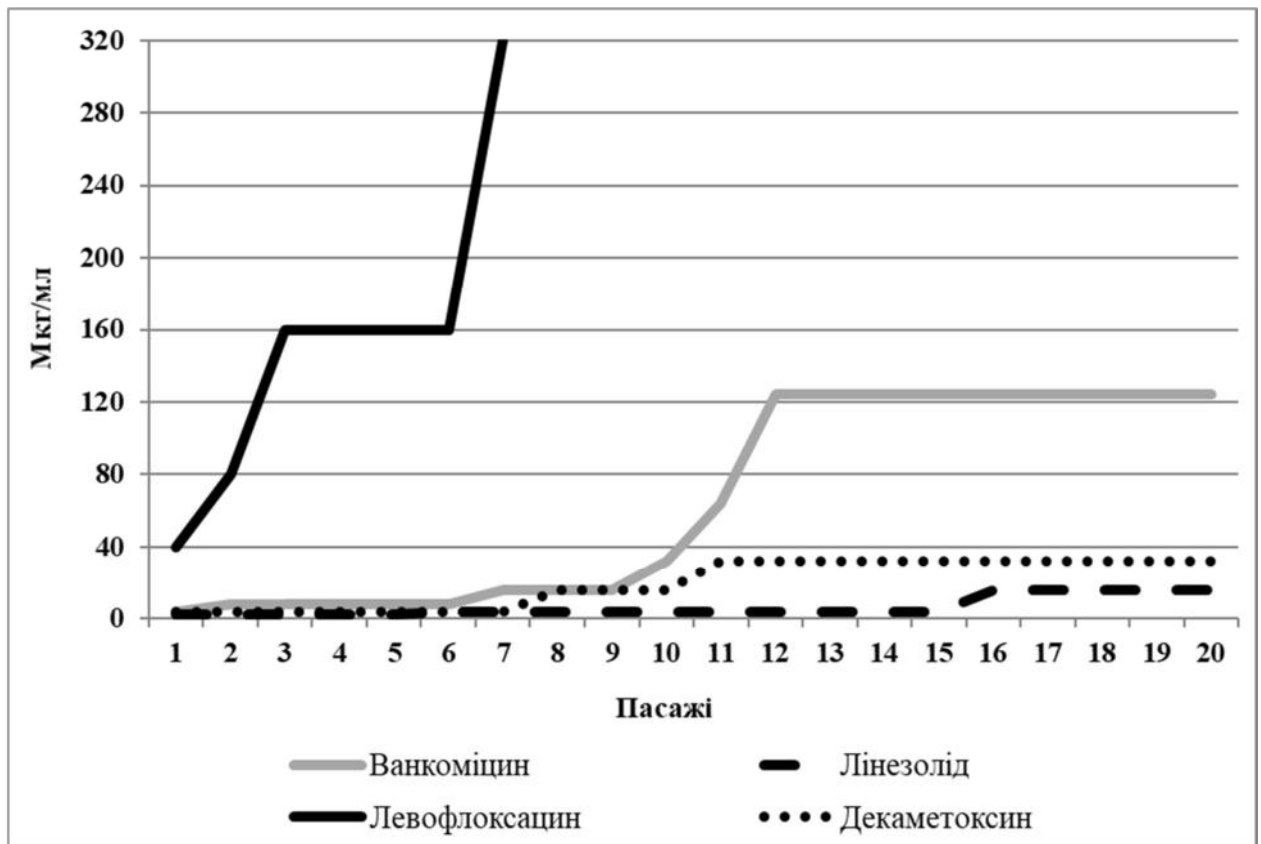


**Рис. 4.6.** Швидкість формування стійкості до декаметоксину та біглюконатухлоргексидину у штамів *E. faecium*.



МБцК декаметоксину після 7-го пасажу зростає у двічі і залишалась такою до 20-го пасажу. МБцК хлоргексидину у двічі збільшилась після 5-го пасажу і ще у двічі після 17-го. Тобто, як і для стафілококів, при в цілому низькій швидкості формування стійкості до антисептиків у ентерококів здатність адаптуватись до впливу хлоргексидину вища, у порівнянні з адаптацією до впливу декаметоксину.

Узагальнюючи результати досліджень, наведених у даному розділі, слід зазначити, що адаптація і формування стійкості варіантів *S. aureus*, внесених ВООЗ у список «пріоритетних патогенів», до ванкоміцину і лінезоліду в штучно створених умовах, які забезпечують селекцію резистентних варіантів, відбувається повільно. З метою порівняння на рис. 4.7 винесено криві швидкості зростання резистентності *S. aureus* (*mecA*<sup>+</sup>) до ванкоміцину, лінезоліду, левофлораксацину та антисептика декаметоксину.



**Рис. 4.7.** Швидкість формування стійкості до протимікробних засобів у штамів *S. aureus* (*mecA*<sup>+</sup>) за показником МБцК.

Можливий варіант швидкого зростання резистентності до протимікробного засобу на цьому малюнку наочно ілюструє крива зміни показників МБцК препарату фторхінолонового ряду левофлоксацину в процесі пасажування у поживних середовищах із зростаючими концентраціями препарату. Стрибкоподібне зростання згубної для стафілококів концентрації цього препарату у експерименті починалось з 2-го пасажу і швидко сягало недосяжних у клінічних умовах значень.

На подібному тлі більш зрозумілим стає твердження про повільне формування стійкості до ванкоміцину і лінезоліду. Адже, МБцКванкоміцину для досліджених штамів *S.aureus* (*mecA*+) до 7-го пасажу залишалась на початковому рівні і лише потім зростала. У лінезоліду цей показник тримався на початковому рівні протягом 16-ти пасажів і тільки потім незначно зріс. При цьому, кінцева досягнута в експерименті МБцКлінезоліду (16 мкг/мл) залишалась нижчою, ніж концентрація препарату у плазмі крові після введення терапевтичної дози пацієнту (20 мкг/мл). Подібні закономірності адаптації метицилінрезистентних стафілококів до цих протимікробних засобів дозволяють зробити сприятливий прогноз щодо строків збереження ними клінічної ефективності. Так саме повільно і у незначній мірі зростають в процесі адаптації дієві концентрації антисептика декаметоксину.

У випадках топічного лікування гнійно-запальних процесів, обумовлених *S.aureus* (*mecA*), ефективними є поверхнево-активні антисептики декаметоксин і біглюконатухлоргексидин. Адже, концентрації їх робочих розчинів у багато разів вищі, ніж МБцК для витривалих до антибіотиків штамів грампозитивних коків і, навіть, тих їх варіантів, які пройшли експериментальну процедуру штучного формування резистентності [136].

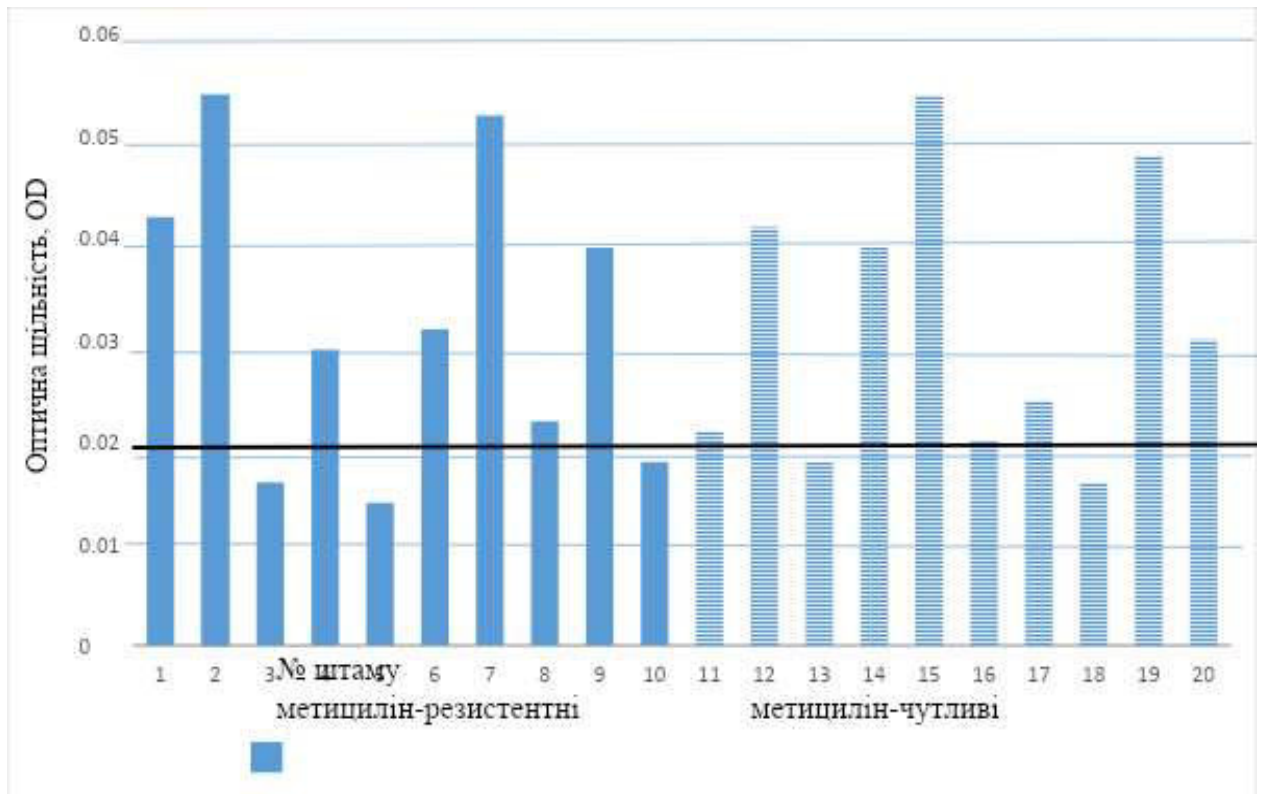
## РОЗДІЛ 5

### БІОПЛІВКОУТВОРЮЮЧА АКТИВНІСТЬ МЕТИЦИЛІНРЕЗИСТЕНТНИХ *S. AUREUS*

Резистентність до антимікробних засобів сесильних форм бактерій в значній мірі обумовлена хімічним складом і структурою біоплівки. Адже, екстрацелюлярний матрикс біоплівки виконує роль молекулярного фільтру, повністю блокує penetрацію великих молекул в структуру біоплівки і значно знижує швидкість дифузії менших у розмірі. Окремі елементи матриксу не просто уповільнюють дифузію, а активно сорбують дрібні молекули протимікробних засобів. Мікробні ферменти, які руйнують антибіотики, накопичуються у матриксі біоплівки в значних концентраціях, перехоплюють і нейтралізують молекули антибіотиків на шляху до мішені [137]. Біоплівкоутворення у метицилінрезистентних стафілококів може бути додатковим механізмом реалізації загальної стратегії збереження виду і створювати неподоланні медичні проблеми, перетворюючи стійкі до  $\beta$ -лактамних антибіотиків варіанти у плівковій формі у панрезистентні. Важливо встановити наскільки виражена здатність до плівкоутворення у метицилінрезистентних стафілококів.

Нами визначено здатність до плівкоутворення 10 штамів *S. aureus*, які були стійкими до оксациліну і цефокситину, в т. ч. 3 штамів носіїв гену *mec A*, при умові культивування в триптон-соєвому бульйоні при температурі 37°C. Для порівняння синхронно в аналогічних умовах визначали плівкоутворюючу активність 10 метицилінчутливих штамів *S. aureus*. Інтенсивність плівкоутворення оцінювали за величиною відносного показника оптичної щільності. Оптичну щільність (OD) для кожного штаму визначали у трьох повторах, результати усереднювали. Штам вважався позитивним по здатності до плівкоутворення, якщо його середнє значення OD було більшим, ніж середня оптична щільність негативного контролю збільшена на три

стандартних відхилення (SD): (OD негативного контролю + (3×SD негативного контролю). OD негативного контролю розраховувалось для кожного планшета окремо. Плівкоутворюючу активність досліджених штамів *S. aureus* ілюструє рис. 5.1.



**Рис. 5.1.** Характеристика здатності до плівкоутворення *S. aureus*.

Аналіз зображення на рис. 5.1 дозволяє константувати високий рівень гетерогенності досліджених штамів стафілококів за здатністю до плівкоутворення. Три штами метицилінрезистентних і 2 штами метицилінчутливих стафілококів згідно обраного нами критерію були негативними за ознакою здатності до плівкоутворення. Середній показник ( $M \pm SD$ ) інтенсивності утвореної плівки (оптичної щільності) метицилінрезистентних штамів дорівнював  $0,032 \pm 0,012$  і не мав статистично достовірної різниці з таким для метицилінчутливих штамів ( $0,031 \pm 0,012$ ). По чотири штами у кожній групі мали показники інтенсивності плівкоутворення вищі, ніж середнє для групи значення.

Штами, у яких виявлено ген *mec A* (№№ 8,9,10), теж мали різний рівень здатності до плівкоутворення: один був віднесений до неплівкоутворюючих, а два інші істотно різнились за інтенсивністю плівкоутворення.

Невдалими виявились спроби встановити залежність між здатністю до інтенсивного біоплівкоутворення та стійкістю до окремих анатибіотиків. Так, *mec A*-позитивний штам *S. aureus* № 10, який виявляв найвищий рівень стійкості до меропенему (МБсК=250 мкг/мл) виявився не здатним до плівкоутворення, а метицилінрезистентний штам № 2 з найвищою інтенсивністю плівкоутворення виявив відносно високу чутливість до цього антибіотика (МБсК=16 мкг/мл). Схожі полюсні розбіжності спостерігали серед, як метицилінчутливих, так і метицилінрезистентних штамів, у відношенні антибіотиків аміноглікозидного та фторхінолонового рядів.

Кореляційний зв'язок між здатністю до утворення біоплівки стафілококами та стійкістю до цефокситину, як маркерного у визначенні метицилінрезистентності антибіотика, виявився середнім негативним ( $r = -0,59$ ). Враховуючи такий характер кореляційного зв'язку цих двох властивостей, здатність до плівкоутворення можна вважати компенсаторним механізмом, що забезпечує виживання відносно чутливої до дії  $\beta$ -лактамних антибіотиків популяції стафілококів у випадку їх появи в оточуючому середовищі.

В цілому спроби аналізу зв'язків між резистентністю до антибіотиків та здатністю до біоплівкоутворення привели до висновку, що ці фенотипові ознаки на генетичному рівні мають різні, не пов'язані між собою, детермінанти. Означені фенотипові властивості доповнюють, або компенсують одна одну, забезпечуючи колонізаційну здатність і виживання бактерій в умовах несприятливих впливів. Дане твердження ґрунтується на встановлених фактах високої біоплівкоутворюючої активності чутливих до антибіотиків штамів та низької інтенсивності плівкоутворення серед резистентних штамів.

З метою визначення бактерицидного впливу протимікробних засобів на плівкові форми метицилінчутливих та метицилінрезистентних стафілококів провели серію дослідів з використанням штучних тест-об'єктів. У дослідженнях використали три штами *S. aureus*, які фенотипово виявляли метицилінрезистентність і три штами чутливих до оксациліну та цефокситіну золотистих стафілококів. При цьому обирали штами, які фенотипово, за результатами визначення ДДМ, не виявляли стійкості до меропенему і мали близькі за значенням показники інтенсивності плівкоутворення.

Визначали бактерицидну для плівкових форм концентрацію (БцПлК) меропенему та антисептика декаметоксину [138 - 139].

В якості тест-об'єктів використовували полівінілхлоридні кільця висотою 5 мм, з внутрішнім діаметром 2 мм, зовнішнім діаметром 4 мм. Для формування зрілої біоплівки кільцеві тест-об'єкти занурювали у триптон-соєвий бульйон і вносили завис досліджуваної культури, інкубували при 37<sup>0</sup>С протягом 48 годин. Після інкубування тест-об'єкт в стерильних умовах тричі відмивали фізіологічним розчином і переносили у пробірки з протимікробним препаратом для подальшого дослідження.

Мінімальну концентрацію антибіотиків, що забезпечує ерадикацію життєздатних форм бактерій із біоплівки (БцПлК) визначали по впливу послідовних серійних розведень препарату на сформовану на поверхні тест-об'єктів біоплівку. Для цього у кожен пробірці ряду з серійними двократними розведеннями препарату у ізотонічному розчині хлориду натрію занурювали один тест-об'єкт із біоплівкою. Пробірки протягом 24 годин витримували при кімнатній температурі, після чого тест-об'єкти, вилучали, відмивали стерильним ізотонічним розчином хлориду натрію від залишків протимікробного засобу і переносили у пробірки із звичайним ТСБ. Пробірки з тест-об'єктами інкубували при 37<sup>0</sup>С протягом 48 годин. БцПлК визначали по пробірці з найменшою концентрацією препарату, у якій відсутні ознаки росту бактерій.

З метою порівняння паралельно ставили ряд двократних серійних розведень того ж препарату і того ж штаму стафілококів щоб визначити МБСК для планктонної форми бактерій. Усі дослідження виконані у трьох повторюваннях з кожним штамом стафілококів. Одержані результати наведені у таблиці 5.1.

Для планктонної форми метицилінрезистентних та метицилінчутливих стафілококів показники МБСК меропенему не мали статистично достовірних відмінностей, оскільки у дослідження були відібрані ті штами метицилінрезистентних стафілококів, які не виявляли фенотипової стійкості до препарату.

Таблиця 5.1.

**Результати визначення дії меропенему та декаметоксину на планктонні і плівкові форми метицилінчутливих та метицилінрезистентних стафілококів**

Показник	<i>S.aureus</i> метицилін- чутливі	<i>S.aureus</i> метицилін- резистентні	P
	M±m (мкг/мл)		
МБСК меропенему (планктонна форма)	1,67± 0,44	2,78±1,10	>0,05
МБцПлК меропенему	6,22±2,11*	106,67±28,44*	<0,05
МБСК дкаметоксину (планктонна форма)	1,33±0,44	1,44±0,49	>0,05
МБцПлК декаметоксину	1,67±0,44	2,22±0,49	>0,05

Примітка. \* - показник достовірно відрізняється ( $p < 0,05$ ) від такого для планктонної форми.

Однак, показник МБцПлК меропенему для метицилінрезистентних стафілококів був у 17 разів більшим, ніж МБцПлК того ж препарату для метицилінчутливих стафілококів. Враховуючи те, що використані у дослідженні штами не відрізнялись за активністю плівкоутворення, залишається припустити, що в плівковій формі у метицилінрезистентних стафілококів під впливом меропенему експресувався генетичний потенціал стійкості до дії  $\beta$ -лактамних сполук.

Слід зазначити, що у плівковій формі метицилінчутливі стафілококи виявляли статистично достовірно вищий рівень резистентності до дії меропенему, у порівнянні з планктонною формою (МБсК=1,67±0,44 мкг/мл, МБцПлК=6,22±2,11 мкг/мл). Вочевидь, різниця обумовлена захисною дією плівкового матриксу.

За показниками стійкості до дії антисептика декаметоксину не встановлено суттєвих відмінностей між планктонними формами метицилінчутливих та метицилінрезистентних варіантів стафілококів (показники МБсК не мали статистично достовірної різниці). Так саме, не встановлено різниці у ефективності дії декаметоксину на планктонну і плівкову форму обох варіантів стафілококів. МБсК декаметоксину для метицилінрезистентних варіантів стафілококів (1,44±0,49 мкг/мл) очікувано була нижчою, ніж МБцПлК (2,22±0,49 мкг/мл), однак відмінності виявились статистично не достовірними. Аналогічна тенденція виявлялась і у метицилінчутливі варіантів стафілококів. Повна елімінація життєздатних клітин з біоплівки метицилінчутливих та метицилінрезистентних стафілококів відбувалась під впливом близьких за значенням концентрацій антисептика: 1,67±0,44 мкг/мл та 2,22±0,49 мкг/мл відповідно. Враховуючи те, що робоча концентрація у поширених його лікарських формах становить 200 мкг декаметоксину у 1 мл, загрозу неефективності препарату щодо плівкових форм, як метицилінчутливих, так і метицилінрезистентних варіантів стафілококів, слід визнати нереальною.



Узагальнюючи результати досліджень, наведених у даному розділі, можна констатувати, що здатність до плівкоутворення і метицилінрезистентність у стафілококів не є взаємозв'язаними біологічними характеристиками. Ці властивості компенсують, а іноді доповнюють одна одну, забезпечуючи виживання бактерій в умовах несприятливих впливів. Між тим, метицилінрезистентні варіанти стафілококів у плівковій формі виявляють значно вищий рівень стійкості до меропенему, у порівнянні з метицилінчутливими варіантами. Подібна закономірність відсутня щодо дії антисептика з ряду четвертинних амонієвих сполук декаметоксину. Як плівкові, так і планктонні форми метицилінчутливих і метицилінрезистентних стафілококів виявляють однаково високий рівень чутливості до дії декаметоксину [140].

## АНАЛІЗ ТА ОБГОВОРЕННЯ РЕЗУЛЬТАТІВ

Виникнення явища антибіотикорезистентності мікроорганізмів стало самою серйозною проблемою системи охорони здоров'я XXI сторіччя. Інфекції, обумовлені бактеріальними патогенами з множинною стійкістю до антибіотиків обумовлюють приблизно 700 тис. смертей у рік. Якщо ефективний план дій по боротьбі з явищем антибіотикорезистентності не буде реалізований, слід очікувати, що до 2050 року щорічний рівень летальності сягне 10 млн. смертей у рік, що перевищить кількість смертей від онкологічних захворювань [141 - 143].

В зв'язку з означеною небезпекою ВООЗ сформовано перелік пріоритетних бактерій, стійких до антибіотиків, яким націлює науковців на розвиток досліджень по вирішенню цієї проблеми. В список увійшли стійкі до метициліну *S. aureus* (MRSA) та стійкі до ванкоміцину *E. faecium*, які часто викликають інфекції шкіри та м'яких тканин, костей та суглобів, ендокардити і, навіть, бактеремію з розвитком токсичного шоку і загибеллю хворого [5, 59, 144].

Дисертаційне дослідження виконано відповідно до плану науково-дослідної роботи «Дослідження біологічних властивостей мікроорганізмів, віднесених Всесвітньою організацією охорони здоров'я до списку «провідних патогенів», що несуть найбільшу загрозу для здоров'я людини та розробка засобів боротьби з ними» (Державний реєстраційний номер 0117U006903) кафедри мікробіології, імунології та вірусології Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова. Тему дисертаційної роботи «Особливості формування стійкості грампозитивної кокової мікрофлори до антибіотиків та антисептиків» затверджено на засіданні Вченої ради Вінницького національного медичного університету ім. М.І. Пирогова (протокол № 5 від 26 листопада 2020 року. Метою дослідження було підвищення ефективності профілактики та лікування госпітальних інфекцій

шляхом локального моніторингу поширеності у лікувальних закладах грампозитивних коків, включених ВООЗ за ознаками антибіотикорезистентності у групу «пріоритетних патогенів», дослідження їх біологічних властивостей та закономірностей формування стійкості до протимікробних засобів.

У якості матеріалу для виділення мікрофлори використовували вміст нагноєних ран пацієнтів, що знаходились на стаціонарному лікуванні у клініках хірургічного профілю м. Вінниці. Всього було досліджено 167 проб ранового матеріалу. З метою виділення грампозитивних коків з поверхні предметів лікарняного середовища шляхом змивів забирали матеріал з використаних уретральних катетерів, санітарно-технічного обладнання, дверних ручок та поручнів лікарняних ліжок, зовнішніх поверхонь дихальних контурів та панелей апаратів штучної вентиляції легень у відділеннях тих же лікувальних закладів. Всього було досліджено 285 об'єктів.

Всього у період 2017 – 2020 р. р. нами виділено, ідентифіковано і використано у дослідженнях 230 ізолятів *Staphylococcus spp.* та 87 штамів *Enterococcus spp.*.

Видова ідентифікація виділених штамів стафілококів показала, що 78,7 % штамів належить до некоагулюючих плазму видів. Лідерами серед усіх видів стафілококів за частотою виділення виявились *S. epidermidis* та *S. haemoliticus*, питома вага яких у загальній кількості виділених штамів склала 31,3 % та 24,8 % відповідно. З відносно високою частотою (13,5 %) зустрічались ізоляти *S. capitis*. Питома вага *S. aureus* у загальній кількості ізолятів становила 21,3 %.

За сукупністю морфологічних, культуральних та ферментативних ознак 82,8 % виділених штамів ентерококів було віднесено до виду *E. faecalis*. Серед виділених культур представники цього роду були представлені ще одним видом, а саме *E. faecium* (17,2 %).

Незважаючи на те, що серед поставлених завдань не було епідеміологічного моніторингу частоти виділення тих чи інших видів

грампозитивних коків з певних об'єктів лікарняного середовища, варто зазначити, що коагулазонегативні стафілококи та *E. faecalis* виділялись як із предметів лікарняного середовища, так і із ранового вмісту пацієнтів. *S. aureus* та *E. faecium* виділялись виключно з ранового вмісту, що підкреслює їх провідну роль у розвитку гнійно-запальних уражень, пов'язаних з наданням медичної допомоги.

Враховуючи глобальне значення для системи охорони здоров'я людей явища антибіотикорезистентності бактерій у кожній країні розроблено комплекс заходів та нормативних документів, націлених на вирішення цієї проблеми. Розпорядженням № 116 р Кабінету Міністрів України від 06.03 2019 р. затверджено «Національний план дій щодо боротьби із стійкістю до протимікробних препаратів». Згідно цього плану введено у обіг низку директивних документів, які регламентують обіг протимікробних препаратів. У відповідності до «Інструкції з впровадження адміністрування антимікробних препаратів в закладах охорони здоров'я, які надають медичну допомогу в стаціонарних умовах», затвердженої Наказом Міністерства охорони здоров'я України 03 серпня 2021 року № 1614 «Про організацію профілактики інфекцій та інфекційного контролю в закладах охорони здоров'я та установах/ закладах надання соціальних послуг/ соціального захисту населення», найважливішими показниками ефективності адміністрування антимікробними препаратами є поширеність у лікувальних закладах ванкоміцинрезистентних *E. faecium* та MRSA. Тому, основною задачею нашого дослідження стало визначити не лише поширеність цих видів бактерій у лікарняних установах м. Вінниці, але й показники їх стійкості до антибіотиків.

Вивчення рівня резистентності виділених нами культур золотистих стафілококів до антибіотиків за допомогою ДДМ засвідчило високий рівень стійкості до антибіотиків різних хімічних груп. Найвищий рівень стійкості золотисті стафілококи виявили до антибіотиків макролідного ряду (95,9 %

штамів). Високим виявився рівень резистентності до ципрофлоксацину та амікацину (81,6 % та 77,5 % відповідно).

Щодо метицилінрезистентних штамів, то до оксациліну виявили резистентність 44,9 % штамів. Однак, за ознакою стійкості до цефокситину до справжніх метицилінрезистентних варіантів належало лише 30,6% штамів. Різницю у кількості оксацилін- та цефокситинрезистентних штамів можна пояснити гіперпродукцією  $\beta$ -лактамаз штамми, стійкими до оксациліну і чутливими до цефокситину [145]. Питома вага стійких до антибіотика карбапенемового ряду меропенему *S. aureus* була дещо нижчою (26,5 %), ніж до оксациліну та цефокситину. Тобто, карбапенеми у окремих випадках стафілококових уражень, обумовлених MRSA, можуть зберігати ефективність.

Ванкоміцин вважався тривалий час останньою лінією опору резистентним до метициліну стафілококам. Поява штамів MRSA, стійких до ванкоміцину, значно ускладнила проблему. На сьогодні поширеність таких варіантів стафілококів набуває у світі загрозливих масштабів [ 62 - 64 ]. Тому, важливо зазначити, що серед виділених нами штамів золотистих стафілококів не виявилось стійких до ванкоміцину варіантів.

Ентерококи, як і стафілококи, є представниками нормофлори організму людини і несуть небезпеку здоров'ю людини лише у випадках зміни звичайного локусу існування. Найнебезпечнішими при цьому є варіанти, що характеризуються множинною антибіотикорезистентністю. Серед виділених нами штамів *Enterococcus spp.* більшість виявляли множинну антибіотикорезистентність будучи одночасно стійкими до триметоприму-сульбактаму (87,2 %), цефтриаксону (90,8 %), левофлоксацину (62,8 %), гентаміцину (63,2 %), імпіпенему (43,7 %). Високий рівень чутливості ентерококи виявляли до амоксацилін/клавуланату, оскільки стійкими були лише 2,3 % штамів. Ванкоміцинрезистентних варіантів не виявлено, як серед *E. faecalis* так і серед *E. faecium*.

Механізми стійкості грампозитивних коків до метициліну і глікопептидних антибіотиків закріплені на генетичному рівні і здатні до міжвидової міграції. Резистентність до метициліну, цефалоспоринів, карбапенемів детермінується структурним геном *mecA*, який кодує синтез пеніцилінзв'язуючого білку ПЗБ2а з низькою афінністю до β-лактамів. Відомо 11 генів типу *van*, що обумовлюють зміни у кінцевих структурах пептидогліканової молекули і забезпечують стійкість до ванкоміцину. І ті і інші можуть бути частиною транспозоноподібних гетерогенних мобільних хромосомних елементів типу SCC<sub>mec</sub> II, що приймають участь у горизонтальному переносі генетичної інформації [146 - 148].

У частини штамів тих видів, які потрапило до списку ВООЗ «пріоритетних патогенів» (10 *S. aureus*, 10 *E. faecium*) проведено визначення первинної структури нуклеотидних послідовностей для всього генетичного матеріалу, що містили ізоляти. Дослідження проводилось методом сіквенування «нового покоління» (next –generation sequencing) на платформі Applied biosystems/life technologies (SOLiD system). Для ідентифікації генів резистентності проводили порівняння виділених нуклеотидних послідовностей по базі GenBank® у Національному центрі біотехнології та інформації (National Center for Biotechnology Information (NCBI). Для порівняння використовували технологію BLAST (Basic Local Alignment Search Tool).

В результаті проведених досліджень у всіх досліджених штамів *S. aureus* виявлено ген *bla* Z, відповідальний за синтез β-лактамаз, що руйнують пеніцилін. Високий рівень стійкості золотистих стафілококів до антибіотиків макролідного ряду був обумовленим наявністю у 9 штамів гену *mrs* (A), а також по 6 штамів генів *mph* (C) та *erm* (C) у різних комбінаціях. Молекулярно-генетичне пояснення знайшлося для високого рівня стійкості *S. aureus* до антибіотиків аміноглікозидної структури. Адже, 9 штамів виявились носіями генів аміноглікозид-аденілтрансфераз *ant* (6) 1а. У 7 штамів виявлено ген *aph* (3') III, відповідальний за синтез аміноглікозид-фосфотрансфераз, і у 5 – ген

*aac* (6') – *aph* (2''), що забезпечує бактеріальні клітини не лише аміноглікозид-фосфотрансферазою, але й аміноглікозид-ацетилтрансферазою.

Ген *tes A*, що кодує синтез пеніцилінзв'язуючого білку ПЗБ 2а і обумовлює стійкість до метициліну та решти  $\beta$ -лактамних антибіотиків, виявлено у 3 з 10 досліджених штамів *S. aureus*. Не виявлено у досліджених штамів золотистих стафілококів генетичних детермінант резистентності до глікопептидних антибіотиків. Варто зазначити, що значення показників поширеності генетичних детермінант резистентності до кожної з груп антибіотиків, в т. ч. до метициліну, серед досліджених штамів стафілококів близькі до показників фенотипових профілів стійкості і корелюють з даними інших дослідників [8, 149].

До списку «пріоритетних патогенів» ВООЗ включено ванкоміцинрезистентні *E. faecium*. Фенотипово стійких до ванкоміцину варіантів серед наших ізолятів цього виду не було. Враховуючи те, що відсутність фенотипових проявів може бути обумовлена відсутністю експресії генетично детермінованої властивості, нас, в першу чергу, цікавила наявність у досліджених штамів генів типу *van*. Однак, результати молекулярно-генетичних досліджень показали відсутність серед ізолятів носіїв подібних генетичних детермінант. Між тим, досліджені штамі виявились носіями 14 різних генів, що обумовлювали стійкість до аміноглікозидів, макролідів, феніколів, тетрациклінів, триметоприму і забезпечували їм множинну стійкість до антибіотиків.

Таким чином, моніторинг поширеності та антибіотикорезистентності грампозитивних коків у лікарняному середовищі закладів м. Вінниці засвідчив, що з числа найнебезпечніших, за думкою ВООЗ, представників цієї групи мікроорганізмів мають циркуляцію метицилінрезистентні варіанти *S. aureus*. Їх питома вага у загальній кількості госпітальних штамів цього виду бактерій близька до 30 %. Ванкоміцинрезистентних варіантів *S. aureus* та *E. faecium* не виявлено.

Ванкоміцин у сьогоденній клінічній практиці залишається препаратом

вибору у боротьбі з метицилінрезистентними штамми *S. aureus*. Враховуючи те, що у останні роки у світі набирають поширення метицилінрезистентні варіанти стафілококів, які і до ванкоміцину не виявляють чутливості, ще одним препаратом вибору стало похідне нової хімічної групи оксазолідинонів – лінезолід. Останній у відповідності до згаданої вище діючої «Інструкції з впровадження адміністрування антимікробних препаратів в закладах охорони здоров'я, які надають медичну допомогу в стаціонарних умовах» є препаратом резерву, призначення якого потребує погоджень і окремої реєстрації.

У виконання поставлених у дослідженні завдань проведено серію експериментів, що дозволяють з'ясувати, як швидко формується стійкість до ванкоміцину і лінезоліду у метицилінрезистентних *S. aureus*, у порівнянні з не резистентними до метициліну варіантами. У якості препарату порівняння використали широко застосовуваний у сьогоденній клінічній практиці препарат фторхінолонового ряду левофлоксацин. У дослідженнях використовували 3 штами *S. aureus*, у яких молекулярно-генетичними методами було підтверджено наявність генетичної детермінанти синтезу ПЗБ2а (*mecA*), (MRSA). Ще три штами не мали генетичних детермінант стійкості до метициліну (MSSA). Швидкість формування резистентності мікроорганізмів до перерахованих вище протимікробних засобів досліджували *in vitro* методом послідовних пасажів мікроорганізмів у рідкому поживному середовищі з наростаючими концентраціями препаратів.

У використаних у дослідженні штамів стафілококів серед генетичних детермінант стійкості до антибіотиків, виявлених в процесі молекулярно-генетичних досліджень, генів, що відповідають за специфічну резистентність до фторхінолонів, виявлено не було. Між тим, МБЦК левофлоксацину для MRSA з 1-го пасажу до 3-го зросла від 40 мкг/мл до 160 мкг/мл, на 7-му – зросла ще у 2 рази, після двох наступних пасажів – знову зросла у 2 рази і на 13-му – стрибнула до максимально досяжної у досліді концентрації, що була більшою 1250 мкг/мл. Тобто, після 13 пасажів клітини MRSA виживали в присутності левофлоксацину у концентраціях понад у 30 разів вищих, ніж на



початку досліджень.

У штамів MSSA при початковій МБцК левофлораксацину 4 мкг/мл лише після 15-го пасажу вона досягла 20 мкг/мл і на такому рівні трималась до 20-го пасажу. Таким чином, штами MRSA виявляють значно вищу здатність адаптації до антибіотиків фторхінолонового ряду, у порівнянні з MSSA, і правомірно прогнозувати швидку втрату клінічної ефективності препаратів цього ряду у випадках лікування інфекційних уражень, обумовлених MRSA.

Швидкість формування стійкості обох варіантів стафілококів до ванкоміцину була значно нижчою. МБцК ванкоміцину для штамів MSSA з 4 мкг/мл на початку, після 10 пасажів, зростає до 32 мкг/мл. Подальшого зростання стійкості до ванкоміцину у MSSA не спостерігали до 20-го пасажу. Резистентність до ванкоміцину у штамів MRSA до 10-го пасажу зростала з тією ж швидкістю, що і у штамів MSSA, і показник МБцК теж зріс до 32 мкг/мл, але протягом двох наступних пасажів продовжував рости і досяг 125 мкг/мл. До 20-го пасажу здатності виживати у вищих концентраціях ванкоміцину не формувалось.

Таким чином, і у відношенні ванкоміцину MRSA виявили теж вищий адаптивний потенціал, у порівнянні з MSSA. При цьому, прогноз збереження клінічної ефективності ванкоміцином слід вважати значно кращим, у порівнянні з левофлораксацином. Адже, в процесі штучної адаптації показник МБсК ванкоміцину для MRSA до 20-го пасажу не піднімався вище 16 мкг/мл. За даними фармакодинамічних досліджень максимальна концентрація ванкоміцину у плазмі крові після введення середніх терапевтичних доз дорівнює 23 мкг/мл, тобто є вищою, ніж досягнута нами в процесі штучної адаптації MRSA [125, 150]. Значення МБсК левофлораксацину в процесі штучної адаптації досягали 1250 мкг/мл, тоді як максимальна концентрація у плазмі крові при використанні терапевтичних доз препарату не перевищує 5 мкг/мл.

Штучна адаптація взятих у дослідження штамів стафілококів до лінезоліду відбувалась дуже повільно, при цьому спостерігались дещо інші закономірності. Для штамів MRSA показник МБцК лінезоліду залишався

низьким (2-4 мкг/мл) до 14-го пасажу, після чого зріс до 16 мкг/мл і залишився на такому рівні до 20-го пасажу. У штамів MSSA після 12-ти пасажів цей показник стрибкоподібно у декілька кроків зріс до значення 125 мкг/мл. При цьому, показник МБсК до 20-го пасажу не піднявся вище 8 мкг/мл.

Таким чином, в процесі штучної адаптації стафілококів до присутності підвищених концентрацій лінезоліду у оточуючому середовищі для MSSA було досягнуто вищих показників МБцК, ніж для MRSA. Проведених спостережень недостатньо для того, щоб стверджувати статистично достовірно швидше формування стійкості до лінезоліду штамів MSSA, у порівнянні з MRSA. Можна лише відзначити те, що наявність генетично детермінованої метицилінрезистентності у стафілококів не обумовлює швидкого формування їх стійкості до лінезоліду. А порівнюючи досягнуті у процесі штучної адаптації показники МБсК препарату з концентрацією лінезоліду у плазмі крові при введенні середньо терапевтичних доз (15-20 мкг/мл), можна прогнозувати тривале збереження ним клінічної ефективності.

Одним із біологічних механізмів, що забезпечує виживання мікроорганізмів у несприятливих умовах, в т. ч. впливу антибіотиків, є утворення біоплівки на твердих поверхнях. Біоплівкоутворення у метицилінрезистентних стафілококів може бути додатковим механізмом реалізації загальної стратегії збереження виду і створювати неподоланні медичні проблеми, перетворюючи стійкі до  $\beta$ -лактамних антибіотиків варіанти у плівковій формі у панрезистентні [151].

Нами визначено здатність до плівкоутворення 10 штамів *S. aureus*, які були стійкими до оксациліну і цефокситину, в т. ч. 3 штамів носіїв гену *mec A*, при умові культивування в триптон-соєвому бульйоні при температурі 37°C. Для порівняння синхронно в аналогічних умовах визначали плівкоутворюючу активність 10 метицилінчутливих штамів *S. aureus*. Вивчення біоплівкоутворюючої здатності обраних для дослідження штамів стафілококів проводили за допомогою спектрофотометричного методу за G.D. Christensen (MtP-test «microtiter plate test»), який полягає у відтворенні біоплівки на

полімерних багатолункових планшетах з наступним забарвленням 1%-розчином кристалічного фіолетового. Бактерицидну для плівкових форм стафілококів концентрацію (БцПлК) меропенему та антисептика декаметоксину визначали з використанням полівінілхлоридних тест-об'єктів, на яких попередньо відтворювали стафілококову біоплівку.

Результати проведених досліджень показали високий рівень гетерогенності досліджених штамів стафілококів за здатністю до плівкоутворення. Три штами метицилінрезистентних і 2 штами метицилінчутливих стафілококів згідно обраних нами критеріїв були негативними за ознакою здатності до плівкоутворення. Середній показник ( $M \pm SD$ ) інтенсивності утвореної плівки (оптичної щільності) метицилінрезистентних штамів дорівнював  $0,032 \pm 0,012$  і не мав статистично достовірної різниці з таким для метицилінчутливих штамів ( $0,031 \pm 0,012$ ). В цілому спроби аналізу зв'язків між резистентністю до антибіотиків та здатністю до біоплівкоутворення привели до висновку, що ці фенотипові ознаки на генетичному рівні мають різні, не пов'язані між собою, детермінанти. Означені фенотипові властивості доповнюють, або компенсують одна одну, забезпечуючи колонізаційну здатність і виживання бактерій в умовах несприятливих впливів. Дане твердження ґрунтується на встановлених фактах високої біоплівкоутворюючої активності чутливих до антибіотиків штамів та низької інтенсивності плівкоутворення серед резистентних штамів.

Окремі *мес* А-позитивні штами *S. aureus*, які виявляли найвищий рівень стійкості до меропенему (МБсК=250 мкг/мл) виявились не здатним до плівкоутворення. Водночас, окремі метицилінрезистентні штами з найвищою інтенсивністю плівкоутворення ( $OD\ 0,057 \pm 0,018$ ) виявили відносно високу чутливість до цього антибіотика (МБсК=16 мкг/мл). Кореляційний зв'язок між здатністю до утворення біоплівки стафілококами та стійкістю до цефокситину, як маркерного у визначенні метицилінрезистентності антибіотика, виявився середнім негативним ( $r = - 0,59$ ). Враховуючи такий характер кореляційного

зв'язку цих двох властивостей, здатність до плівкоутворення можна вважати компенсаторним механізмом, що забезпечує виживання відносно чутливої до дії  $\beta$ -лактамних антибіотиків популяції стафілококів у випадку їх появи в оточуючому середовищі.

Результати досліджень чутливості плівкових і планктонних форм стафілококів до дії меропенему підтвердили відомі дані щодо захисної ролі біоплівкового матриксу. При цьому, у MSSA показник БцПлК був приблизно у 3,5 рази вищий, ніж МБсК для планктонних форм тих же штамів. Для MRSA ця різниця була більшою, ніж у 37 разів. А показник МБцПлК меропенему для метицилінрезистентних стафілококів був у 17 разів більшим, ніж МБцПлК того ж препарату для метицилінчутливих стафілококів при однакових показниках фенотипової чутливості планктонних форм обох варіантів стафілококів до препарату. Одержані порівняльні дані свідчать про значно вищу здатність до виживання плівкових форм MRSA, у порівнянні з MSSA. Вочевидь, в плівковій формі у метицилінрезистентних стафілококів в присутності у оточуючому середовищі меропенему експресується генетичний потенціал стійкості до дії  $\beta$ -лактамних сполук.

За показниками стійкості до дії антисептика з ряду четвертинних амонієвих сполук декаметоксину не встановлено суттєвих відмінностей між планктонними формами метицилінчутливих та метицилінрезистентних варіантів стафілококів (показники МБсК не мали статистично достовірної різниці). Так саме, не встановлено різниці у ефективності дії декаметоксину на планктонну і плівкову форму обох варіантів стафілококів. Аналогічна тенденція виявлялась і у метицилінчутливіх варіантів стафілококів. Повна елімінація життєздатних клітин з біоплівок метицилінчутливих та метицилінрезистентних стафілококів відбувалась під впливом близьких за значенням концентрацій антисептика:  $1,67 \pm 0,44$  мкг/мл та  $2,22 \pm 0,49$  мкг/мл відповідно ( $p > 0,05$ ). Таким чином, декаметоксин чинить однаково ефективну нищівну дію на планктонні і плівкові форми, як метицилінчутливих, так і метицилінрезистентних стафілококів.

Підводячи підсумок, слід зазначити, що наведені вище результати проведених досліджень дозволили встановити поширеність грампозитивних коків, що увійшли до «Списку ВООЗ пріоритетних збудників захворювань для НДДКР в галузі створення нових антибіотиків» у лікувальних закладах м. Вінниці, визначити ряд порівняльних біологічних характеристик MSSA та MRSA, одержати орієнтири щодо перспектив клінічної ефективності ряду протимікробних засобів у боротьбі з цими збудниками.

## ВИСНОВКИ

У дисертаційній роботі наведено теоретичне узагальнення і експериментальне обґрунтування вирішення актуального науково-практичного завдання сучасної мікробіології підвищення ефективності профілактики та лікування госпітальних інфекцій шляхом локального моніторингу поширеності у лікувальних закладах грампозитивних коків, включених ВООЗ за ознаками антибіотикорезистентності у групу «пріоритетних патогенів», дослідження їх біологічних властивостей та закономірностей формування стійкості до протимікробних засобів.

1. У видовому спектрі грампозитивних коків роду *Staphylococcus*, що виділяються з поверхонь предметів лікарняного середовища та вмісту нагноєних ран лікувальних закладів м. Вінниці, домінують коагулазонегативні види *S. epidermidis* (31,3 %) та *S. haemoliticus* (24,8 %). Питома вага *S. aureus* у загальній кількості ізолятів роду *Staphylococcus* становить 21,3 %. Грампозитивні коки роду *Enterococcus* представлені видами *E. faecalis* (82,8 %) та *E. faecium* (17,2 %).

2. Виділені штами *S. aureus* виявляють стійкість до антибіотиків різних хімічних груп, у т. ч. до еритроміцину 95,9 % штамів, ципрфлоксацину – 81,6 % штамів, амікацину – 77,5 % штамів, меропенему – 26,5 % штамів. За фенотиповими ознаками до метицилінрезистентних штамів належить 30,6 % штамів. Ванкоміцинрезистентних варіантів золотистих стафілококів серед виділених ізолятів не виявлено. Відсутні ванкоміцинрезистентні варіанти серед виділених штамів *E. faecium*.

3. В результаті аналізу молекулярно-генетичних характеристик у досліджених штамів *S. aureus* виявлено ген *bla<sub>Z</sub>*, відповідальний за синтез β-лактамаз, гени стійкості до макролідних антибіотиків *mrs* (A), *mph* (C) та *erm* (C), гени стійкості до аміноглікозидних антибіотиків *ant* (6) 1a, *aph* (3') III, *aac* (6') – *aph* (2'') та ін. Ген *tec* A, що кодує синтез пеніцилінзв'язуючого білку

ПЗБ 2а і обумовлює стійкість до метициліну та решти β-лактамних антибіотиків, виявлено у 33,3 % досліджених молекулярно-генетичними методами штамів *S. aureus*. Генів типу *van*, що обумовлюють стійкість до ванкоміцину, у досліджених штамів *S. aureus*, та *E. faecium* не виявлено. Таким чином, з числа грампозитивних коків, що увійшли до «Списку ВООЗ пріоритетних збудників захворювань для НДДКР в галузі створення нових антибіотиків», у лікарняному середовищі закладів м. Вінниці мають циркуляцію метицилінрезистентні варіанти *S. aureus*. Їх питома вага у загальній кількості госпітальних штамів цього виду бактерій близька до 30 %.

4. Дослідження плівкоутворюючої активності метицилінрезистентних та метицилінчутливих штамів *S. aureus* та аналіз зв'язків між резистентністю до антибіотиків та здатністю до біоплівкоутворення дозволяють стверджувати, що ці фенотипові ознаки на генетичному рівні мають різні, не пов'язані між собою, детермінанти. Кореляційний зв'язок між здатністю до утворення біоплівки стафілококами та стійкістю до цефокситину, як маркерного у визначенні метицилінрезистентності антибіотика, є середнім негативним ( $r = -0,59$ ). Враховуючи такий характер кореляційного зв'язку цих двох властивостей, здатність до плівкоутворення можна вважати компенсаторним механізмом, що забезпечує виживання відносно чутливої до дії β-лактамних антибіотиків популяції стафілококів у випадку їх появи в оточуючому середовищі.

5. Штами MRSA виявляють значно вищу здатність адаптації до антибіотика фторхінолонового ряду левофлоксацину, у порівнянні з MSSA. Після 13 пасажів у середовищі з наростаючими концентраціями антибіотика клітини MRSA виживали в присутності левофлоксацину у концентраціях понад у 30 разів вищих, ніж першопочаткова. До ванкоміцину MRSA виявили теж вищий адаптивний потенціал, у порівнянні з MSSA. Однак, в процесі штучної адаптації показник МБСК ванкоміцину для MRSA після 20-ти пасажів не піднімався вище 16 мкг/мл. Адаптація MRSA до лінезоліду відбувається дуже повільно. Після 20-ти пасажів у середовищах з наростаючими

концентраціями препарату його МБЦК для штамів MRSA є не вищою 16 мкг/мл.

6. Результати порівняльних досліджень швидкості формування резистентності MRSA та MSSA до левофлоксацину, ванкоміцину та лінезоліду у штучних умовах вказують на перспективу швидкої втрати клінічної ефективності препаратами фторхінолонового ряду у випадках лікування хворих з запальними процесами, обумовленими MRSA. Правомірно прогнозувати тривале збереження клінічної ефективності похідним оксазолідинону – лінезолідом, адаптація до впливу якого у стафілококів відбувається повільно.



## СПИСОК ВИКОРИСТАНИХ ДЖЕРЕЛ ЛІТЕРАТУРИ

1. Barrasa-Villar J. I., Aibar-Remón C., Prieto-Andrés P. (2017). Impacton morbidity, mortality, and length of stay of hospital-acquired infections by resistant microorganisms. *Clin Infect*, 65(4), 644–52.
2. World Health Organization. Global Guidelines for the Prevention of Surgical Site Infection [Internet]. (2016). Geneva, Switzerland: WHO. San Francisco: Matthew Holt. 2003 Oct [cited 2018 Aug 30]. Available from: <http://apps.who.int/iris/bitstream/handle/10665/250680/9789241549882-eng.pdf;jsessionid=1F8A9546C46F1803027E22A3F82DBEE4?sequence=1>
3. European Centre for Disease Prevention and Control. (2013). Surveillance of surgical site infections in Europe 2010–2011 [Internet]. Stockholm: ECDC. Oct [cited 2018 Aug 30]. Available from: <https://ecdc.europa.eu/sites/portal/files/media/en/publications/Publications/SSI-in-europe-2010-2011>
4. Barrasa-Villar J. I., Aibar-Remón C., Prieto-Andrés P. (2017). Impacton morbidity, mortality, and length of stay of hospital-acquired infections by resistant microorganisms. *Clin Infect*, 65(4), 644–52. [http://www.who.int/drugresistance/WHO\\_Global\\_Strategy\\_English.pdf](http://www.who.int/drugresistance/WHO_Global_Strategy_English.pdf).
5. Global priority list of antibiotic-resistant bacteria to guide research, discovery, and development of new antibiotics. The World Health Organization. URL: <http://www.who.int/medicines/publications/global-priority-list-antibiotic-resistant-bacteria/en/>
6. Ghali H., Ben Cheikh A., Bhiri S., Bannour R., Dhouib W., Khefacha S., Said Latiri H., Ben Rejeb M. Bacteriological profile and trends of antimicrobial resistance in healthcare associated pathogens in Tunisian teaching hospital, Department of Prevention and Security of Care, Sahloul university hospital. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 10(1).

7. Rybak, M. J., Le, J., Lodise, T. P., Levine, D. P., Bradley, J. S., Liu, C., Mueller, B. A., Pai, M. P., Wong-Beringer, A., Rotschafer, J. C., Rodvold, K. A., Maples, H. D., & Lomaestro, B. (2020). Therapeutic Monitoring of Vancomycin for Serious Methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* Infections: A Revised Consensus Guideline and Review by the American Society of Health-system Pharmacists, the Infectious Diseases Society of America, the Pediatric Infectious Diseases Society, and the Society of Infectious Diseases Pharmacists. *Clinical infectious diseases : an official publication of the Infectious Diseases Society of America*, 71(6), 1361–1364. <https://doi.org/10.1093/cid/ciaa303>
8. K. Hiramatsu, Y. Katayama, M. Matsuo, T. Sasaki, Y. Morimoto, A. Sekiguchi, T. Baba. Multi-drug-resistant *Staphylococcus aureus* and future chemotherapy. *Journal of Infection and Chemotherapy* . 2014 , 20 , 593–601.
9. Зезюліна О. В., Воронкова О. С. (2018). Український журнал медицини, біології та спорту. 3( 7), 238-242.
10. Майкл Р. Барбер, Вілл Ірвінг (Ред.). (2020). Медична мікробіологія. Посібник з мікробних інфекцій: патогенез, імунітет, лабораторна діагностика та контроль : пер. 19-го англ. Вид. : у 2 т. Т. 1 К. : ВСВ «Медицина».
11. Lemma F., Alemayehu H., Stringer A., Eguale T. (2021). Prevalence and Antimicrobial Susceptibility Profile of *Staphylococcus aureus* in Milk and Traditionally Processed Dairy Products in Addis Ababa, Ethiopia. *Biomed. Res Int*, 16, doi: 10.1155/2021/5576873/
12. Sollida J.U.E., A.S. Furberg A.S., Hanssen A.M., Johannessen M. (2014). *Staphylococcus aureus*: Determinants of human carriage. *Infection, Genetics and Evolution*, 21, 531-541.
13. David P Kateete, Cyrus N Kimani, Fred A Katabazi, Alfred Okeng , Moses S Okee... Florence C Najjuka. (2010). Identification of *Staphylococcus aureus*: DNase and Mannitol salt agar improve the efficiency of the tube coagulase test. *Annals of Clinical Microbiology and Antimicrobias*, 23.

14. Климнюк С. І., Ситник І. О., Широбоков В. П. (2018). Практична мікробіологія: навчальний посібник. Вінниця : Нова Книга.
15. Саламанов А. Г. (2007). Визначення рівня розповсюдження інфекцій в області хірургічних втручань із використанням стандартних критеріїв захворювань. Український журнал екстремальної медицини імені Г. О. Можаяєва, 8, 4, 49-51.
16. Поліщук О. І., Саламанов А. Г., Яновська В. М., Тишко В. В. (2007). Етіологічна структура хірургічних раньових інфекцій. Збірник наукових праць співробітників НМАПО імені П.Л. Шупика. Київ. 16, 2, 557 - 561.
17. Глаголева А. Ю. (2019). Сравнение эффективности профилактического системного введения антибиотиков с топическим применением антисептика декаметоксина при чистых хирургических вмешательствах. *Journal of perioperative medicine*. Режим доступа до ресурсу: DOI: 10.31636/prmd.v2i2.2.
18. Хараева З. Ф., Балахова Б. О., Белимготова Р. Р. (2014). Особенности внутрибольничных штаммов *Staphylococcus aureus*. *Фундаментальные науки*, 11, 1316–1318.
19. Дерябин Д. Г. (2000). Стафилококки: экология и патогенность. Екатеринбург: УрО РАН.
20. Покровський В. І. (Ред.). (2006). *Медицинская микробиология: учебное пособие*. М.: ГЭОТАР. Медиа.
21. Neuwirth M. M., Wendel A. F., Malecki M., F. Mattner F. (2021). Results of an infection and microbiological surveillance of panton valentine leucocidin (PVL) forming *S. aureus* strains. *Antimicrob Resist Infect Control*, 10 (1), 130.
22. M. M. Neuwirth M. M. (2021). Division of Hygiene and Environmental Medicine, Witten/Herdecke University, Cologne, Germany Correspondence. *Antimicrobial Resistance & Infection Control* 10(1).

23. Abstracts Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy: 41st Interscience Conference on Antimicrobial Agents and Chemotherapy. Chicago, Illinois, December 16 – 19, 2001, 2119.

24. Wisplinghoff H. et al. (2004). Nosocomial bloodstream infections in US hospitals: analysis of 24,179 cases from a prospective nationwide surveillance study. *Clin. Infect. Dis.*, 39, 3, 309–317.

25. Willems R. J. (2011). Population biology of Gram-positive pathogens: high risk clones for dissemination of antibiotic resistance. *FEMS Microbiol. Rev.*, 35, 872–900.

26. Саламанов А. Г., Друбов С. О., Харченко Л. А. (2016). Госпітальні інфекції, антибіотикорезистентність, криза антибіотиків: чи є вихід з глухого кута? *Здоров'я України*. Режим доступу до ресурсу: <https://health-ua.com/article/6715-gosptaln-nfektc-antibotikorezistentnst-krizaantibotikv-chi--vihd-z-gluhogo->

27. Schroeder C., Behnke M., Gastmeier P., Maechler F. Hospital outbreaks of multidrug resistant bacteria—ICU based surveillance data indicate underreporting to health authorities. Institute of Hygiene, Charité Universitätsmedizin, Berlin, Germany Correspondence, 10(1).

28. Isabel Baroja, Sara Guerra, Marco Coral-Almeida, Alejandra Ruíz et al. (2021). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* Nasal Colonization Among Health Care Workers of a Tertiary Hospital in Ecuador and Associated Risk Factors, 14, 3433-3440.

29. Конечний Ю., Скуратівський Ю., Тимчук І та ін.. (2019). Видовий профіль мікробних чинників нозокоміальних інфекцій. *Праці НТШ Медичні науки*, 1, 56–64.

30. Thankachan J. “Neonatal sepsis”—gram positive & negative bacteria’s and their antibiotic susceptibility in NICU. King Saud Medical City, Riyadh, Saudi Arabia Correspondence: J. Thankachan *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 10(1).

31. Римша О. В. (2015). До сучасної оцінки нозокоміальної інфекції (Огляд літератури). *Biomedical and Biosocial Anthropology*, 25, 225–233.
32. Dorota Romaniszyn, Anna Różańska, Jadwiga Wójkowska-Mach, Agnieszka Chmielarczyk, Monika Pobiega, Paweł Adamski, Ewa Helwich ... Małgorzata Bulanda. (2009-2012). *Epidemiology, antibiotic consumption and molecular characterisation of Staphylococcus aureus infections – data from the Polish Neonatology Surveillance Network*.
33. Перетятко О. Г. (2013). Роль ентерококів у виникненні нозокоміальних інфекцій. *Annals of Mechnikov Institute*, 4, 22–27.
34. Мироненко Л. Г., Перетятко О. Г., Ягнюк Ю. А., Кулик Р. В. (2015). Характеристика факторів патогенності та здатності до біоплівкоутворення в ентерококів, виділених від хворих на урологічну патологію. *Буковинський медичний вісник*, 4, 11–114.
35. Guardado R., Asensi V., Torres J. M. et al. (2006). Post-surgical enterococcal meningitis: clinical and epidemiological study of 20 cases [Електроннийресурс]. *Scandinavian Journal of Infectious Diseases*. Режим доступу до ресурсу: <https://www.tandfonline.com/doi/abs/10.1080/00365540600606416?journalCode=infd19>
36. Демиховская Е. В. (2013). Ванкомицин-резистентные энтерококки как возбудители внутрибольничных инфекций [Електронний ресурс]. *Болезни и антибиотики*. Режим доступу до ресурсу: <http://www.mif-ua.com/archive/article/36571>.)
37. Синетар Е. О., Брич О. І., Лоскутова М. М., Ткачик І. П. (2014). Антибіотикостійкість та адгезивні властивості збудників катетер-асоційованих інфекцій сечовивідних шляхів. *Мікробіологічний журнал*, 3, 36–41.
38. Колесник М. О., Степанова Н. М., Кругліков В. Т., Руденко А. В. (2016). Етіологічний спектр та десятирічний патерн антибактеріальної

резистентності збудників неускладненої інфекції сечової системи(2005-2015 роки). Український журнал нефрології та діалізу, 4, 32–41.

39. Бойко В. В., Иванова Ю. В., Головина О. А. (2016). Антибиотикорезистентность основных возбудителей интраабдоминальных инфекций (обзор литературы и собственный исследования). Хірургія України, 4, 108–116.

40. Чорний В. М., Поліщук Н. М., Кирик Д. Л. (2020). Чутливість резистентних до антибіотиків клінічних штамів стафілококів і ентерококів до продуктів біодеградації магнієвого сплаву МЛ-10. Ортопедия, травматология и протезирование, 2, 68–84.

41. Factors for the Acquisition of Enterococcus faecium Infection and Mortality in Patients with Enterococcal Bacteremia: A 5-Year Retrospective Analysis in a Tertiary Care University Hospital. *Antibiotics* 2021, 10 (1), 64; <https://doi.org/10.3390/antibiotics10010064>

42. Мироненко Л. Г., Ткачик І. П., Перетятко О. Г. (2013). Видовий склад та антибіотикорезистентність ентерококів, ізольованих від хворих на нейрохірургічну патологію. *Лабораторна діагностика*, 1, 39–43.

43. Перетятко О. Г. (2013). Роль ентерококів у виникненні нозокоміальних інфекцій. *Annals of Mechnikov Institute*, 4, 22–27.

44. Тутченко Т. М., Бурка О. А., Марфіна Я. А. (2020). Маркери антибіотикорезистентності — необхідний інструмент багатьох клінічних напрямків. *Reproductive Endocrinology*, 6, 49–56.

45. Frederick K. Wangai, Moses M. Masika , Marybeth C. Maritim and R. Andrew Seaton. Methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) in East Africa: red alert or red herring? Retrieved from <https://doi.org/10.1186/s12879-019-4245-3>

46. Фещенко Ю. І., Гуменюк М. І., Денисов О. С., (2010). Антибіотикорезистентність мікроорганізмів. Стан проблеми та шляхи її вирішення. *Український хімотерапевтичний журнал*, 1, 4–10.

47. Романюк Л. Б., Кравець Н. Я., Климнюк С. І. (2019). Антибіотикорезистентність умовно-патогенних мікроорганізмів: актуальність, умови виникнення, шляхи подолання. Інфекційні хвороби, 4, 63–71.
48. Бондар М. В., Пилипенко М. М., Свѣнтуковський М. Ю. (2016). Антибіотикорезистентність мікроорганізмів: механізми розвитку й шляхи запобігання. Медицина неотложных состояний, 3, 11–17.
49. Березин А. Г., Ромашов О. М., Яковлев С. В., Сидоренко С. В. (2003). Характеристика и клиническое значение бета-лактамаз расширенного спектра. Антибиотики и химиотерапия, 48, 7. 5–11.
50. Battistella F. F. Are nursing homes a risk factor of transmission of methicillin resistant staphylococcus aureus? Unitécantonale Hygiène, contrôle et prévention de l'infection. Battistella Antimicrobial Resistance & Infection Control, 10(1).
51. Fonton1 P. F. D., Ahoyo A. T., Boya B. Impact of hand hygiene compliance on meticillin resistant staphylococcus aureus proportion in healthcare setting over fve years period: a retrospective study in Benin. Ecole Polytechniqued'Abomeycalavi. Fonton Antimicrobial Resistance & Infection Control, 10(1):
52. Yusuf I., Muhammad Damj Z. , Danladi Shuaibu M., Hamza N., Abdullahi Bako N. Wastes and surfaces as reservoir of antibiotic resistant bacteria in Nigeria/ Microbiology, Bayero University, Kano, Nigeria Correspondence: Antimicrobial Resistance & Infection Control,10(1).
53. Hongbin Chen, Yuyao Yin, Lucy van Dorp, Liam P. Shaw, Hua Gao, Mislav et al. Drivers of methicillin-resistant Staphylococcus aureus (MRSA) lineage replacement in China. Retrieved from <https://doi.org/10.1186/s13073-021-00992-x>
54. Zapun A., Conters-Martel C., Vernet T. (2008). Penicillin-binding proteins and lactam resistance. FEMS Microbiol. Rev., 32, 361–385.

55. Li A. S., de Lencastre H., Garau J., Kluytmans J., Malhotra-Kumar S., Peschel A., Харбарт С. (2018). Метициллин-устойчивый золотистый стафилококк. *Nat. Преподобный Дис. Prim.*, 4, 18033.
56. Sahreena Lakhundi, Kunyan Zhanga. (2018). Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus*: Molecular Characterization, Evolution, and Epidemiology. *Clinical Microbiology Reviews*, 31, 4, 20-18.
57. Holibar M., Meng L., Deresinski S. (2016). Bacteremia due to Methicillin-Resistant *Staphylococcus aureus* An Update on New Therapeutic Approaches. *Infect Dis Clin North Am*, 30 (2), 491-507.
58. Гаркавенко Т. О., Козицька Т. Г. (2016). Механізм резистентності та методи виявлення метицилінрезистентного стафілокока (MRSA) (Оглядова стаття) . *Ветеринарна біотехнологія*, 28, 42–54.
59. Тернер Н. А., Шарма-Куинкель Б. К., Maskarinec S. A., Eichenberger E. M., Шах П. П., Carugati, M и другие. (2019). Метициллин-устойчивый золотистый стафилококк: обзор фундаментальных и клинических исследований. *Nat. Rev. Microbiol.* , 17, 203–218.
60. Brown N. M., Goodman A. L., Horner C et al. (2021). Treatment of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus* (MRSA): updated guidelines from the UK. *JAC Antimicrob Resist.* doi:10.1093/jacamr/dlaa114
61. Rashedul Hasan, MrityunjyAcharjee, Rashed Noor,Tzu Chi (2016). Prevalence of vancomycin resistant *Staphylococcus aureus* (VRSA) in methicillin resistant *S. aureus* (MRSA) strains isolated from burn wound infections. *Medical Journal*, 28, 49-53.
62. Kim T., Чонг Ю. П., Парк К., Банг К. М., Парк С., Kim S., Jeong J., Lee S., Choi S., Ву J. Н. (2019). Клинические и микробиологические факторы, связанные с ранней смертностью пациентов от метициллинрезистентной бактериемии *Staphylococcus aureus*. *J. Intern. Med.*, 34 , 184–194.
63. Шариати А., Дадаши М., Moghadam M. Т., ван Белкум А., Яслианифард С., Дарбан-Сарохалил Д. (2020). Глобальная распространенность и распределение устойчивых к ванкомицину,



промежуточных к ванкомицину и гетерогенных промежуточных к ванкомицину клинических изолятов *Staphylococcus aureus* : систематический обзор и метаанализ. . *Sci. Rep.*, 10, 1–16.

64. Jubeh B., Breijyeh Z., Караман P. (2020). Устойчивость грамположительных бактерий к современным антибактериальным средствам и подходы к преодолению. *Molecules*, 25, 2888.

65. Cong Y., Ян С., Пао Х. J. *Adv. Res.* (2020). Устойчивые к ванкомицину инфекции *Staphylococcus aureus*: обзор обновленных случаев и клинических особенностей. 21 , 169–176.

66. Isabella Hernández-Aristizábal and Iván Darío Ocampo-Ibáñez (2021). Antimicrobial Peptides with Antibacterial Activity against Vancomycin-Resistant *Staphylococcus aureus* Strains: Classification, Structures, and Mechanisms of Action. *Int. J. Mol. Sci.*, 22(15), 7927; doi:10.3390/ijms22157927

67. Перетятко О. Г. (2013). Особливості антибіотикограм ентерококів, що резистентні до високих рівнів аміноглікозидів. *Kharkiv Surgical School*, 6, 53–56.

68. Стукан О. К. (2015). Чутливість клінічних штамів бактерій до антибіотиків. *Вісник проблем біології і медицини*, 4, 206–209.

69. Краузе К. М., Серіо А. W., Кейн Т. R., Коннолли Л. E. (2020). Аминоглікозиды: обзор. Харб Холодного источника. *Perspect Med.*, 6.

70. Azucena E., Mobashery C. B. (2001). Aminoglycoside-modifying enzyme mechanism of catalytic processes and inhibition. *Drug Res. Updates*, 4, 106-117.

71. Wang J., Zhou M., Liu F., Lee Y. F. (2021). Antimicrobial resistance in enterococcus faecalis and enterococcus faecium in children hospitals in China: a meta analysisю *Antimicrobial Resistance & Infection Control*, 10(1).

72. Бондар М. В., Пилипенко М. М., Свінтуковський М. Ю. (2016). Антибіотикорезистентність мікроорганізмів: механізми розвитку й шляхи запобігання. *Медицина неотложных состояний*, 3, 11–17.

73. New plasmid mediatedresistanceto antimicrobial agents. (2008). Arch. Microbiol, 189, 289-291.

74. Berkesl T., Endrich O., Fiedler M., Marschall J. (2021). Vancomycin resistant enterococcus—a health economic evaluation of a healthcare outbreak in Switzerland. University Bayreuth. Antimicrobial Resistance & Infection Control, 10(1).

75. Гаркавенко Т. О., Горбатюк О. І., Козицька Т. Г. (2020). Виявлення ванкоміцин-резистентних штамів (VRE) з VanA і VanB-ферментами серед польових ізолятів Eterococcuspp., одержаних із зразків питної води. Ветеринарна біотехнологія, 36, 21–33.

76. Solomkin Joseph S., MazuskiJohn E., BradleyJohn S. et al. (2011). Диагностика и лечение осложненных интраабдоминальных инфекций у взрослых и детей: рекомендации Общества хирургических инфекций и Общества инфекционных заболеваний Америки (часть 1). Острые и неотложные состояния в практике врача, 4, 5-19.

77. Салманов А. Г., Усенко О. Ю. (2017). Антибіотикорезистентність клінічних штамів Enterococcusfaecalis у хірургічних стаціонарах України: результати багаточентрового дослідження (2011—2015). International Journal of Antibiotics and Probiotics. 1 (2).

78. Гренкова Т. А., Селькова Е. П., Гусарова М. П. (2014). Эпидемиология и вакцинопрофилактика. <https://cyberleninka.ru/article/n/kontrol-za-ustoychivostyu-mikroorganizmov-k-antibiotikam-antiseptikam-i-dezinfitsiruyuschim-sredstvam>.

79. Гаркавенко Т. О., Козицька Т. Г., Горбатюк О. І., Коваленко В. Л. (2019). Вивчення стійкості антибіотикорезистентних штамів S.aureus до дезінфікуючих засобів з різними діючими речовинами. Науково-технічний бюлетень Державного науково-дослідного контрольного інституту ветеринарних препаратів та кормових добавок і Інституту біології тварин, 2, 193–193.

80. Шкарин В. В., Благодрава А. С., Ковалишена О. В. (2011). Современные представления о механизмах устойчивости микроорганизмов к дезинфицирующим средствам. Эпидемиология и инфекционные болезни. Актуальные вопросы. 3, 48.

81. Гренкова Т. А., Селькова Е. П., Гусарова М. П. (2014). Контроль за устойчивостью микроорганизмов к антибиотикам, антисептикам и дезинфицирующим средствам. Эпидемиология и вакцинопрофилактика. <https://cyberleninka.ru/article/n/kontrol-za-ustoychivostyu-mikroorganizmov-k-antibiotikam-antiseptikam-i-dezinfitsiruyuschim-sredstvam>.

82. Корчак Г. И., Клименко И. В., Сурмашева О. В. (2019). Механизмы резистентности бактерий и вирусов к дезинфектантам и антисептикам. Environment and Health. <https://doi.org/10.32402/dovkil2019.04.070>.

83. Саперкин Н. В., Алебашина Л. А., Квашнина Д. В. (2016). Устойчивость бактерий к дезинфектантам: оценка доказательной базы. Современные проблемы науки и образования, 5.

URL: <https://science-education.ru/ru/article/view?id=25429>.

84. Палій В. Г., Дудар А. О., Палій Д. В., Павлюк С. В., Яцула О. В. (2016). Новітні підходи до вивчення, використання антисептичних препаратів. Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека : наук.-практ. конф., присвячена щорічним «Читанням» пам'яті акад. Л. В. Громашевського та 120-річчю ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського Національної академії медичних наук України», 12-13 жовт. 2016 р. : матеріали конф, Київ, 89-90.

85. Римша О. В., Сухляк В. В. (2012). Формування резистентності мікроорганізмів до антисептичних препаратів. Профілактична медицина, 3, 37–40.

86. Сергеев В. И., Ключкина Т. В., Волкова Э. О., Решетникова Н. И., Зуева Н. Г., Авдеева Н. С. (2013). Приобретенная устойчивость возбудителей внутрибольничных гнойно-септических инфекций к

дезинфицирующим и антисептическим средствам. Эпидемиология и инфекционные болезни, 1, 41 – 46.

87. Herruxo I., Herruxo R., Vizcaino M. J. (2017). Is There A Correlation Between Antibiotic Resistance and Decreased Susceptibility to Biocides in Different Genus of Bacterial Genera? *Journal of Antibiotics Research*. Режим доступа до ресурсу: DOI: 10.15744/2574-5980.1.102.)

88. Increasing tolerance of hospital *Enterococcus faecium* to hand wash alcohols. *Science Translational Medicine*, 2018, 1,10, 452.

89. Салманов, Марієвський. (2010). Резистентність бактерій до антисептику в... Український медичний часопис, 6 (80), XI / XII.

90. Глаголева А. Ю. (2019). Сравнение эффективности профилактического системного введения антибиотиков с топическим применением антисептика декаметоксина при чистых хирургических вмешательствах [Электронный ресурс]. *Journal of perioperative medicine*. Режим доступа до ресурсу: DOI: 10.31636/prmd.v2i2.2.)

91. Гренкова Т. А., Селькова Е. П., Гусарова М. П., Ершова О. Н., Александрова И. А., Сазыкина С. Ю. (2014). Контроль за устойчивостью микроорганизмов к антибиотикам, антисептикам и дезинфицирующим средствам.

92. Назарчук О. А., Палій Д. В., Коваленко І. В., Гончар О. О., Яцула О. В. (2015). Мікробіологічна характеристика резистентності мікроорганізмів до антисептичних препаратів. *Вісник проблем біології і медицини*, 4, 2 (125).

93. Юрчишин О. І. (2016). Вивчення протимікробної дії антисептиків відносно стафілококів – збудників піодермій з різними механізмами MLS-резистентності. *Буковинський медичний вісник*, 3, 197–200.

94. Холина Е. Г., Коваленко И. Б., Боздаганян М. Е., Страховская М. Г. (2020). Катионные антисептики способствуют образованию пор в модельных бактериальных мембранах *J. Phys. Chem. B*, 124 , 39.

95. Кондратюк В. М. (2018). Антимікробна дія антисептичних препаратів на клінічні штами мікроорганізмів, що контамінують бойові

поранення кінцівок. Український журнал медицини, біології та спорту. 6, 136–140.

96. Paliy D., Zaderey N., Kovalenko I., Yatsula O., A. Dudar A. (2016). The research of the influence of antiseptics on microorganisms. International scientific conference «Molecular microbiology and biotechnology», June 2 - 23, Odessa.

97. Назарчук О. А. (2019). Дослідження протимікробної ефективності сучасних антисептичних засобів на основі декаметоксину та повідону йоду [Електронний ресурс]. Perioperative medicine. Режим доступу до ресурсу: <file:///C:/Temp/21-Article%20Text-40-1-10-20190717>.

98. Глаголева А. Ю. (2019). Сравнение эффективности профилактического системного введения антибиотиков с топическим применением антисептика декаметоксина при чистых хирургических вмешательствах [Електронний ресурс]. Journal of perioperative medicine. Режим доступу до ресурсу: DOI: 10.31636/prmd.v2i2.2.

99. Бактеріологічний контроль поживних середовищ : інформаційний лист МОЗ України № 05.4.1/1670. Київ, 2000.

100. «Про затвердження методичних вказівок щодо визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів»: наказ МОЗ України № 167 від 05.04.2007. К: МОЗ України.

101. European committee on antimicrobial susceptibility testing (EUCAST). EUCAST disk diffusion test methodology; Available at: [http://www.eucast.org/ast\\_of\\_bacteria/disk\\_diffusion\\_methodology/](http://www.eucast.org/ast_of_bacteria/disk_diffusion_methodology/)(updated 26 January, 2015; last accessed 12 August, 2015).

102. Макушенко О. С. (2010). Біологічні властивості актуальних штамів бактерій роду *Staphylococcus*. Дис. ...канд.мед.н, Київ.

103. Методичні вказівки МВ 9.9.5-143-2007. Визначення чутливості мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів. Київ: МОЗ України (2007).

104. Wunderink, R. C., Rello J., Cammarata S. K. (2013). Линезолид в сравнении с ванкомицином. Анализ двух двойных слепых исследований

пациентов с нозокомиальной пневмонией, вызванной метициллинрезистентным *Staphylococcus aureus*. Therapia. Український медичний вісник, 3, 45-52.

105. Палий Г. К. (1973). Лечебное, профилактическое и биологическое действие антимикробного препарата декаметоксина. Автореф. дис... доктора мед. Наук.- Краснодар.

106. Палий Г. К., Ковальчук В. П., Деркач Н. М., Палій Д. В. (2010). Обґрунтування ефективності антисептичного препарату декасан в лікуванні хворих на гнійно-запальні захворювання. Український хіміотерапевтичний журнал, 1-2 (23), 78-82.

107. Davis G. E., Francis J., Martin A. R., Rose F. L., Swain G. (1954). 1:6Di-4`-Chlorophenyldiguanidohexan ("Hibitane"). Laboratory investigation of a new antibacterial agent of high potency. Br. J. Pharmacol., 9, 192-196.

108. Зверьков А. В., Зузова А. П. (2013). Хлоргексидин: прошлое, настоящее и будущее одного из основных антисептиков. Антимикробные препараты. 15, 4, 297-285.

109. Suja Pillai, Vinod Gopalan, Alfred King-Yin Lam. (2017). Review of sequencing platforms and their applications in pheochromocytoma and paragangliomas Critical Reviews in Oncology/Hematology, 116 , 58–67. <http://dx.doi.org/10.1016/j.critrevonc.2017.05.005>

110. National Center for Biotechnology Information (NCBI) [<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>

111. Basic Local Alignment Search Tool) [<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>

112. Christensen G. D., Simpson W. A., Yonger J. J., Baddor L. M., Barrett F. F., Melton D. M., Beachey E. H. (1985). Adherence of coagulase-negative Staphylococci to plastic tissue culture plates: a quantitative model for the adherence of Staphylococci to medical devices. J Clin Microbiol, 22, 996-1006.

113. Stepanovic S., Bonaventura G. D., Vukovic D. et al. (2007). Quantification of biofilm in microtiter plates: overview of testing conditions and

practical recommendations for assessment of biofilmproduction by staphylococci. APMIS, 9, 891–899.

114. Котков Д. В., Дудар А. О. (2017). Дослідження чутливості клінічних штамів *Helicobacter pylori* до антибактеріальних препаратів. Матеріали XIV Міжнародної наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2017», Вінниця, 26-28 квітня, 2017.

115. Палій Г. К., Дудар А. О., Задерей Н. В., Яцула О. В., Павлюк С. В. (2017). Вивчення дії антимікробних препаратів на збудників гнійно-запальних процесів очей. Довкілля і здоров'я : наук.-практ. конф., 25 берез. 2017 р. : матеріали конф. Тернопіль : Укрмедкнига.

116. Палій Д. В., Яцула О. В., Дудар А. О., Коваленко І. В. (2016). Вивчення дії антимікробних препаратів на адгезивні властивості бактерій. Вісник проблем біології і медицини, 2, 3 (130), 174-177.

117. Дудар А. О., Задерей Н. В., Яцула О. В., Павлюк С. В. (2017). До оптимізації використання антисептиків, фторхінолонів для лікування та профілактики у пацієнтів з гнійно-запальними процесами. Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : I Міжнар. наук.-практ. конф., 30-31 берез. 2017 р. : матеріали конф., Харків : НФУ.

118. Палій Г. К., Дудар А. О., Палій Д. В., Павлюк С. В., Кулик А. В. (2018). Дослідження механізму дії протимікробних засобів на стафілококи. Довкілля і здоров'я: наук.-практ. конф., 27-28 квіт. 2018 р., Тернопіль.

119. Дудар А. О., Сідько І. Ю. (2021). Швидкість формування стійкості метицилінрезистентних стафілококів до інших протимікробних засобів. Науково-практична міжнародна дистанційна конференція «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині», 26 березня 2021 року, м. Харків.

120. Назарчук О. А., Павлюк С. В., Назарчук Г. Г., Мруг В. М., Дудар А. О., Сорокоумова Л. К. (2020). Дослідження впливу комбінованого застосування антисептика декаметоксину і фторхінолонів на клінічні штами

S.aureus. Вісник Вінницького національного медичного університету, 24, 1, 80-83.

121. Дудар А. О., Палый Г. К., кулик А. В., павлюк С. В., Палый Д. В. (2017). Антимікробні властивості антибіотиків, декаметоксину® та фторхінолонів. *Biomedical and biosocial anthropology*, 29, 58-62.

122. Solomkin Joseph S., Mazuski John E., Bradley John S. et al. (2011). Диагностика и лечение осложненных интраабдоминальных инфекций у взрослых и детей: рекомендации Общества хирургических инфекций и Общества инфекционных заболеваний Америки (часть 1). Острые и неотложные состояния в практике врача, 4, 5-19;

123. Салманов А. Г., Лазоришинець В. В., Марієвський В. Ф. (2011). Антибіотикорезистентність клінічних штамів *Staphylococcus aureus* у хірургічних стаціонарах України в 2010 році. *Хірургія України*, 3, 26-31.

124. Марієвський В. Ф., Поляченко Ю. В., Салманов А. Г., Шпак І. В., Доан С. І. (2010). Антибіотикорезистентність нозокоміальних штамів *Staphylococcus aureus* в хірургічних стаціонарах України у 2009 р. *Клініч. Хірургія*, 9, 31-35.

125. Компендиум — лекарственные препараты К.: МОРИОН, 2020 [https://compendium.com.ua/?gclid=EAIaIQobChMIw\\_24v-O\\_9AIVmQWiAx2e2ABLEAAAYASAAEgJ2fvD\\_BwE](https://compendium.com.ua/?gclid=EAIaIQobChMIw_24v-O_9AIVmQWiAx2e2ABLEAAAYASAAEgJ2fvD_BwE)

126. Палій В. Г., Палій І. Г., Дудар А. О., Палій Д. В., кулик А. В. (2018). Протимікробні, фізико-хімічні властивості азотвмісних препаратів, похідних ментолу, хіноліну та фенолу. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 22, 2, 267-271.

127. Палій Г. К., Павлюк С. В., Дудар А. О., Палій Д. В., Кулик А. В. (2018). Характеристика резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів. *Вісник Вінницького національного медичного університету*, 22, 3, 417-421.



128. Russell A.D. (2004) Bacterial adaptation and resistance to antiseptics, disinfectants and preservatives is not a new phenomenon. *J. Hosp. Infect.*, 57: 97–104

129. Палій Г. К., Ковальчук В. П., Палій Д. В., Кордон Ю. В. (2013). Порівняльна протимікробна ефективність декаметоксину та нітрофуранів. *Український хіміотерапевтичний журнал*, 2 (29), 42-48.

130. Палій В. Г., Присяжна С. В., Тарамбіла О. Ю., Дудар А. О. (2016). Обґрунтування ефективності комбінованого лікування бактеріальної виразки рогівки з використанням амніотичної оболонки. *Biomedical and Biosocial Anthropology*. 26, 176-179.

131. Новицький А. О., Власенко В. В., Власенко І. Г., Назарчук О. А., Коваленко І. В., Барило О. С., Дудар А. О. (2016). Біологічна характеристика антимікробного засобу для ерадикації *Helicobacter pylori*. *Biomedical and biosocial anthropology*. 27, 76-81.

132. Palii H. K., Dudar A. O., Pavliuk S. V., Nazarchuk O. A., Palii D. V., Kulyk A.V. (2019). The research of antibacterial properties of decamethoxin, decasan, horosten. *Journal of Education, Health and Sport*. 9, 10, 94-102.

133. Дудар А. О., Палій Д. В., Павлюк С. В., Задерей Н. В., Яцула О. В., Кулик А. В. (2017). Комбінована антибактеріальна дія антисептиків, антибіотиків та її роль в етіотропному лікуванні пацієнтів. *Перспективи розвитку медичної науки і освіти : Всеукр. наук.-метод. конф., що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського Державного Університету*, 16-17 листоп. 2017р. : тези доп. Суми : СДУ.

134. Палій Г. К., Назарчук О. А., Палій Д. В., Павлюк С. В., Яцула О. В., Задерей Н. В., Дудар А. О., Кулик А. В. (2018). Протимікробні, фізико-хімічні властивості та формування в мікроорганізмів резистентності до лікарських препаратів на основі чотирьохвалентного. *Сучасні проблеми антибіотикотерапії та формування антибіотикорезистентності : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 29 січ. 2018 р. : матеріали конф. Чернівці : БДМУ*. 130-132.

135. Палій Г. К., Павлюк А. О., Дудар А. О., Палій Д. В., Кулик А. В. (2018). Дослідження резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів. European Biomedical Young Scientist Conference NMAPE: матеріали наук.-практ. конф. з міжнар. участю (до 100-річчя заснування НМАПО ім. П. Л. Шупика МОЗ України), 19-21 квітня 2018 р. Київ, 86-88.

136. Kryzhanovska A.V., Sidko Y., Shkarupa V. M., Dudar A. O., Gorbatyuk S. M. (2020). The prospects of finding new treatments for acne. *Biomedical and Biosocial Anthropology*. 40, 42-48.

137. Водяник А. А. (2018). Механізми розвитку та шляхи подолання стійкості до протимікробних речовин у бактеріальних біоплівках. *Міжнародний журнал педіатрії, акушерства та гінекології*. 12, 2, 18-22.

138. Палій Д. В., Павлюк С. В., Дудар А. О., Кулик А. В. (2019). Антистафілококові властивості антисептичних лікарських засобів з декаметоксином. Актуальні питання сучасної мікробіології та імунології» присвячена 90-річчю акад. А.Я. Циганенко. Харків.

139. Палій Г. К., Палій Д. В., Дудар А. О., Павлюк С. В., Кулик А. В. (2019). Дослідження формування резистентності стафілококів до антисептичних лікарських засобів, Перший національний форум імунологів, алергологів, мікробіологів, паразитологів. Харків.

140. Назарчук О. А., Багнюк Н. А., Бабіна Ю. М. , Дудар А. О. (2021). Протимікробна активність антисептичних засобів щодо провідних збудників інфекційних ускладнень у післяопераційному періоді. *International scientific and practical conference medicine and health care in modern society: topical issues and current aspects*. Lublin Republic of Poland.

141. Thi Thu HaoVana, ZuweraYidanaab, Peter M.Smookera, Peter J.Coloec. (2020). Antibiotic use in food animals worldwide, with a focus on Africa: Pluses and minuses. *Journal of Global Antimicrobial Resistance*. 20, 170-177.

142. Pires D., MEA de Kraker, Tartari E., Abbas M., Pittet D. (2017). Fight antibiotic resistance—it's in your hands?': call from the World Health Organization for 5th May 2017 *Clin Infect Dis*. 64, 1780-1783, 10.1093/cid/cix226 ;

143. Legese Chelkeba, Tsegaye Melaku. (2021). Epidemiology of staphylococci species and their antimicrobial-resistance among patients with wound infection in Ethiopia: a systematic review and meta-analysis. *Journal of Global Antimicrobial Resistance* Available online. 11.

144. Аслам Б., Ван В., Аршад М. И., Хуршид М., Музаммил С., Расул М. Х. (2018). Устойчивость к антибиотикам: краткое изложение глобального кризиса. *Инфекция и лекарственная устойчивость*. 1, 1645.

145. Дехнич А. В. (2003). Выявление резистентности к метициллину и другим  $\beta$ -лактамным антибиотикам методом скрининга. *Современные методы клинической микробиологии*. 1, 63-68.

146. Howden В. Р; Дэвис Дж. К.; Джонсон Р.Р, Стинеар Т. П; Грейсон, М. Л. (2010). Снижение чувствительности к ванкомицину у *Staphylococcus aureus*, включая промежуточные штаммы ванкомицина и гетерогенные промежуточные штаммы ванкомицина: механизмы устойчивости, лабораторное обнаружение и клинические последствия. *Clin. Microbiol.* 23, 99–139.

147. Sujatha S., Прахарадж И. (2012). Устойчивость к гликопептидам у грамположительных кокков: обзор. *Междисциплинарная перспектива Infect Dis.* 781-679

148. Malachowa, N., ДеЛео, Ф. Р. (2017). Устойчивость к ванкомицину у *Staphylococcus aureus*. *Yale J. Biol. Med.* 90, 269–281.

149. Фаррелл, Фламм Р. К., Sader Н. S., Джонс Р. Н. (2014). Активность цефтобипрола против метициллин-устойчивых штаммов *Staphylococcus aureus* с пониженной чувствительностью к даптомицину, линезолиду или ванкомицину, а также штаммов с определенными типами SCCmec. *Int. J. Antimicrob.* 43, 323–327.

150. Martin, J. H., Norris, R., Barras, M., Roberts, J., Morris, R., Doogue, M., & Jones, G. R. (2010). Therapeutic monitoring of vancomycin in adult patients: a consensus review of the American Society of Health-System Pharmacists, the

Infectious Diseases Society of America, and the Society Of Infectious Diseases Pharmacists. *The Clinical biochemist. Reviews*, 31(1), 21–24.

151. Мокієнко А. В. (2014). Біоплівки шпитальних екосистем: від антагонізму до синергізму. *Вісн. НАН України*. 7, 34-44.

152. Галкін М. Б., Іваниця В. О., Галкін Б. М., Філіпова Т. О. (2016). Матрикс біоплівки – хімічний склад, структура, властивості. *Мікробіологія і біотехнологія*. 4, 6-27.

## ДОДАТКИ

Додаток А

**НАУКОВІ ПРАЦІ, В ЯКИХ ОПУБЛІКОВАНІ ОСНОВНІ НАУКОВІ РЕЗУЛЬТАТИ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Вивчення дії антимікробних препаратів на адгезивні властивості бактерій / Д. В. Палій, О. В. Яцула, А. О. Дудар, І. В. Коваленко // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Вип. 2, Том. 3 (130). – С. 174-177.
2. Обґрунтування ефективності комбінованого лікування бактеріальної виразки рогівки з використанням амніотичної оболонки / В. Г. Палій, С. В. Присяжна, О. Ю. Тарамбула, А. О. Дудар // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2016. – № 26. – С. 176-179.
3. Біологічна характеристика антимікробного засобу для ерадикації *Helicobacter pylori* / А. О. Новицький, В. В. Власенко, І. Г. Власенко, О. А. Назарчук, І. В. Коваленко, О. С. Барило, А. О. Дудар // Biomedical and biosocial anthropology. – 2016. – № 27. – С. 76-81.
4. Антимікробні властивості антибіотиків, декаметоксину® та фторхінолонів / А. О. Дудар, Г. К. Палій, А. В. Кулик, С. В. Павлюк, Д. В. Палій // Biomedical and biosocial anthropology. – 2017. – № 29. – С. 58-62.
5. Протимікробні, фізико-хімічні властивості азотвмісних препаратів, похідних ментолу, хіноліну та фенолу / В. Г. Палій, І. Г. Палій, А. О. Дудар, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2018. – Т. 22, № 2. – С. 267-271.
6. Характеристика резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів / Г. К. Палій, С. В. Павлюк, А. О. Дудар, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2018. – Т. 22, № 3. – С. 417-421.
7. The research of antibacterial properties of decamethoxin, decasan, horosten / H.K. Palii, A.O. Dudar, S.V. Pavliuk, O.A. Nazarchuk, D.V. Palii,

A.V. Kulyk // Journal of Education, Health and Sport. – 2019. – Vol. 9, № 10. – P. 94-102.

8. Дослідження впливу комбінованого застосування антисептика декаметоксину і фторхінолонів на клінічні штами *S.aureus* / О.А. Назарчук, С.В. Павлюк, Г.Г. Назарчук, В.М. Мруг, А.О. Дудар, Л.К. Сорокоумова // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2020. – Т. 24, №1. – С.80-83.

9. The prospects of finding new treatments for acne / A.V. Kryzhanovska, Y. Sidko., V.M. Shkarupa, A. O. Dudar, S.M. Gorbatyuk // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2020. – № 40. – С. 42-48.

10. Обґрунтування застосування антисептичних препаратів в системі профілактичних і лікувальних заходів (огляд літератури) / Г. К. Палій, С. В. Павлюк, Д. В. Палій, О. А. Назарчук, К. В. Агафонов, А. О. Дудар // Буковинський медичний вісник. – 2018. – Т. 22, № 4. – С. 138-146.

11. До оптимізації використання антисептиків, фторхінолонів для лікування та профілактики у пацієнтів з гнійно-запальними процесами / А. О. Дудар, Н. В. Задерей, О. В. Яцула, С. В. Павлюк // Ліки – людині. Сучасні проблеми фармакотерапії і призначення лікарських засобів : І Міжнар. наук.-практ. конф., 30-31 берез. 2017 р. : матеріали конф. – Харків : НФУ, 2017. – С. 106-107.

12. Протимікробна активність антисептичних засобів щодо провідних збудників інфекційних ускладнень у післяопераційному періоді/ О.А. Назарчук, Н.А. Багнюк, Ю.М. Бабіна, А.О. Дудар // International scientific and practical conference medicine and health care in modern society: topical issues and current aspects, 26-27 February 2021, Lublin Republic of Poland. – P. 227-230.

**НАУКОВІ ПРАЦІ, ЯКІ ЗАСВІДЧУЮТЬ АПРОБАЦІЮ****МАТЕРІАЛІВ ДИСЕРТАЦІЇ**

13. The research of the influence of antiseptics on microorganisms / D. Paliy, N. Zaderey, I. Kovalenko, O. Yatsula, A. Dudar // International scientific conference «Molecular microbiology and biotechnology», June 21st - 23rd. □ Odessa, Ukraine, 2016.

14. Новітні підходи до вивчення, використання антисептичних препаратів / В. Г. Палій, А. О. Дудар, Д. В. Палій, С. В. Павлюк, О. В. Яцула // Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека : наук.-практ. конф., присвячена щорічним «Читанням» пам'яті акад. Л. В. Громашевського та 120-річчю ДУ «Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського Національної академії медичних наук України», 12-13 жовт. 2016 р. : матеріали конф. – Київ, 2016. – С. 89-90.

15. Дослідження чутливості клінічних штамів *Helicobacter pylori* до антибактеріальних препаратів / Д. В. Котков, А. О. Дудар // Матеріали XIV Міжнародної наук.-практ. конф. студентів та молодих вчених «Перший крок в науку – 2017» □ Вінниця, 26-28 квітня, 2017. – С. 47.

16. Вивчення дії антимікробних препаратів на збудників гнійно-запальних процесів очей / Г. К. Палій, А. О. Дудар, Н. В. Задерей, О. В. Яцула, С. В. Павлюк // Довкілля і здоров'я : наук.-практ. конф., 25 берез. 2017 р. : матеріали конф. – Тернопіль : Укрмедкнига, 2017. – С. 200-201.

17. Комбінована антибактеріальна дія антисептиків, антибіотиків та її роль в етіотропному лікуванні пацієнтів / А. О. Дудар, Д. В. Палій, С. В. Павлюк, Н. В. Задерей, О. В. Яцула, А. В. Кулик // Перспективи розвитку медичної науки і освіти : Всеукр. наук.-метод. конф., що присвячена 25-річчю Медичного інституту Сумського Державного Університету, 16-17 листоп. 2017р. : тези доп. – Суми : СДУ, 2017. – С. 14.

18. Протимікробні, фізико-хімічні властивості та формування в мікроорганізмів резистентності до лікарських препаратів на основі чотирьохвалентного азоту / Г. К. Палій, О. А. Назарчук, Д. В. Палій, С. В. Павлюк, О. В. Яцула, Н. В. Задерей, А. О. Дудар, А. В. Кулик // Сучасні проблеми антибіотикотерапії та формування антибіотикорезистентності : наук.-практ. конф. з міжнар. участю, 29 січ. 2018 р. : матеріали конф. – Чернівці : БДМУ, 2018. – С. 130-132.

19. Дослідження резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів / Г. К. Палій, С. В. Павлюк, А. О. Дудар, Д. В. Палій, А. В. Кулик // European Biomedical Young Scientist Conference NMAPE : наук.-практ. конф. з міжнар. участю (до 100-річчя заснування НМАПО ім. П. Л. Шупика МОЗ України), 19-21 квітня 2018 р. : матеріали конф. – Київ, 2018. – С. 86-88.

20. Дослідження механізму дії протимікробних засобів на стафілококи / Г. К. Палій, А. О. Дудар, Д. В. Палій, С. В. Павлюк, А. В. Кулик // Довкілля і здоров'я: наук.-практ. конф., 27-28 квіт. 2018 р. – Тернопіль, 2018. – С. 130-131.

21. Антистафілококові властивості антисептичних лікарських засобів з декаметоксином® / Д. В. Палій, С. В. Павлюк, А. О. Дудар, А. В. Кулик // «Актуальні питання сучасної мікробіології та імунології» присвячена 90-річчю акад. А.Я. Циганенко. – м. Харків, 2019. – С. 77-79.

22. Дослідження формування резистентності стафілококів до антисептичних лікарських засобів / Г. К. Палій, Д. В. Палій, А. О. Дудар, С. В. Павлюк, А. В. Кулик // «Перший національний форум імунологів, алергологів, мікробіологів, паразитологів». – Харків, 2019. – С. 87-88.

23. Швидкість формування стійкості метицилінрезистентних стафілококів до інших протимікробних засобів / А. О. Дудар, І. Ю. Сідько // Науково-практична міжнародна дистанційна конференція «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині», 26 березня 2021 року, м. Харків. – С. 61.



**ВІДОМОСТІ ПРО АПРОБАЦІЮ РЕЗУЛЬТАТІВ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Міжнародна науково-практична конференція “Актуальні питання стратегії, тактики застосування та дослідження антибіотиків, антисептиків, дезінфектантів присвяченої 150-річчю з дня народження Д. К. Заболотного” (Вінниця, 15-16 вересня 2016 р.) – усна доповідь, публікація статті.

2. Науково-практична конференція “Інфекційні хвороби сучасності. Біологічна безпека та біозахист”, присвяченої щорічним “Читанням” пам’яті академіка Л.В. Громашевського та 120-річчю ДУ “Інститут епідеміології та інфекційних хвороб Л.В, Громашевського НАМН України” (Київ, 12-13 жовтня 2016 р.) – усна доповідь, публікація тез.

3. XIV Міжнародна наукова конференція студентів та молодих вчених ВНМУ ім. М. І. Пирогова “Перший крок в науку – 2017” (Вінниця, 26-28 квітня 2017 р.). – усна доповідь , публікація тез.

4. Науково-практична конференція “Довкілля і здоров’я” (Тернопіль, 27-28 квітня 2017 р.) – публікація тез.

5. Науково-практична конференція з міжнародною участю «Сучасні проблеми антибіотикотерапії та формування антибіотикорезистентності», присвяченої 50-річчю професійної діяльності професора І. Й. Сидорчука (Чернівці, 29 січня 2018 р.) – усна доповідь, публікація тез.

6. Науково-практична конференція з міжнародною участю “European biomedical young scientists conference NMAPE” (до 100-річчя заснування Національної медичної академії післядипломної освіти імені П.Л. Шупика МОЗ України)” (Київ, 19-21 квітня 2018 р.) – публікація тез.

7. Науково-практична конференція з міжнародною участю “Перший національний форум імунологів, алергологів, мікробіологів, паразитологів” (Харків, 16-17 травня 2019 р.) – усна доповідь, публікація тез.

8. Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю “Актуальні питання сучасної мікробіології та імунології”, присвяченої 90-річчю акад. А.Я. Циганенка (Харків, 24-26 червня 2019 р.) – публікація тез.

9. Науково-практична конференція “Довкілля і здоров’я” (Тернопіль, 27 – 28 квітня 2018 р.). – публікація тез.

## АКТИ ВПРОВАДЖЕННЯ

«ЗАТВЕРДЖУЮ»  
Проректор з науково-педагогічної роботи  
Буковинського державного  
медичного університету МОЗ України  
к.мед.н. доцент І. В. Геруш  
«\_\_\_\_\_» \_\_\_\_\_ 2021 р.

## АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

результатів наукових досліджень

- Назва пропозиції:** «Особливості формування стійкості грампозитивної кокової мікрофлори до антибіотиків та антисептиків».
- Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; 21018 м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
- Розробник:** Дудар Аліна Олександрівна.
- Джерело інформації:**
  - Антимікробні властивості антибіотиків, декаметоксину<sup>®</sup>, фторхінолонів / А. О. Дудар, Г. К. Палій, С. В. Павлюк, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2017. – № 29. – С. 58-62.
  - Характеристика резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів / Г. К. Палій, С. В. Павлюк, А. О. Дудар, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Вісник ВНМУ ім. М. І. Пирогова, 2018 - № 3 (Т.22). – С. 417 - 421.
  - The research of antibacterial properties of decamethoxin, decasan, horosten / Н. К. Palii, D. V. Palii, А. О. Dudar, S. V. Pavliuk, O. A. Nazarchuk, A. V. Kulyk // Journal of Education, Health and Sport. – 2019. – Vol. 9, № 10. – P. 94-102.
  - Дослідження впливу комбінованого застосування антисептика декаметоксину і фторхінолонів на клінічні штами S.aureus / О.А.Назарчук, С.В.Павлюк, Г.Г.Назарчук, В.М.Мруг, А.О.Дудар, Л.К.Сорокоумова // Вісник ВНМУ. – 2020. – Т. 24, № 1. – С.80-83.
  - The prospects of finding new treatments for acne./ A.V. Kryzhanovska, Y.Sidko., V.M.Shkarupa, А.О.Дудар, S.M.Gorbatyuk // Biomedical and biosocial anthropology. – 2020. – № 40. – С. 42-48.
- Де введено.** Введено в навчальний процес на лекціях, практичних заняттях на кафедрі мікробіології та вірусології Буковинського державного медичного університету (протокол засідання № 42 від 7 червня 2021р.).
- Ефективність впровадження:** Актуалізація, практичне використання знань щодо особливостей формування антибіотикорезистентності в грампозитивних кокових мікроорганізмів та протимікробної ефективності сучасних антибіотиків, антисептиків.

Голова комісії  
завідувач кафедри мікробіології та  
вірусології Буковинського державного  
медичного університету МОЗ України,  
доктор медичних наук, професор

С. Є. Дейнека

Відповідальний за впровадження ,  
професор кафедри мікробіології та вірусології  
доктор медичних наук, професор

І. Й. Сидорчук

«ЗАТВЕРДЖУЮ»



Проректор з науково-педагогічної  
роботи Вінницького національного  
медичного університету  
ім. М. І. Пирогова МОЗ України,  
професор Ю. Й. Гумінський  
« 25 » травня 2021 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

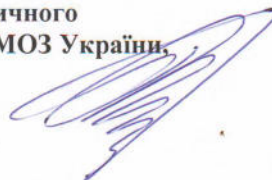
#### Результатів наукових досліджень

1. **Назва пропозиції:** «Особливості формування стійкості грампозитивної кокової мікрофлори до антибіотиків та антисептиків».
2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України; 21018 м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
3. **Розробник:** Дудар Аліна Олександрівна.
4. **Джерело інформації:**
  1. Антимікробні властивості антибіотиків, декаметоксину®, фторхінолонів / А. О. Дудар, Г. К. Палій, С. В. Павлюк, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2017. – № 29. – С. 58-62.
  2. Характеристика резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів / Г. К. Палій, С. В. Павлюк, А. О. Дудар, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Вісник ВНМУ ім. М. І. Пирогова, 2018 - № 3 (Т.22). – С. 417 - 421.
  3. The research of antibacterial properties of decamethoxin, decasan, horosten / H. K. Palii, D. V. Palii, A. O. Dudar, S. V. Pavliuk, O. A. Nazarchuk, A. V. Kulyk // Journal of Education, Health and Sport. – 2019. – Vol. 9, № 10. – P. 94-102.
  4. Дослідження впливу комбінованого застосування антисептика декаметоксину і фторхінолонів на клінічні штами S.aureus/ О.А.Назарчук, С.В.Павлюк, Г.Г.Назарчук, В.М.Мруг, А.О.Дудар, Л.К.Сорокоумова // Вісник ВНМУ. – 2020. – Т. 24, № 1. – С.80-83.
  5. The prospects of finding new treatments for acne./ A.V. Kryzhanovska, Y.Sidko., V.M.Shkarupa, A.O.Dudar, S.M.Gorbatyuk // Biomedical and biosocial anthropology. – 2020. – № 40. – С. 42-48.
5. **Де впроваджено.** Впроваджено в навчальний процес на лекціях, практичних заняттях на кафедрі мікробіології Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України (протокол засідання № 13 від 21.05 2021р.).
6. **Ефективність впровадження:** Актуалізація, практичне використання знань, щодо особливостей формування антибіотикорезистентності в грампозитивних кокових мікроорганізмів та протимікробної ефективності сучасних антибіотиків, антисептиків.

Відповідальний за впровадження: к.мед.н., доцент

 I. M. Vovk

Голова комісії  
завідувач кафедри мікробіології  
Вінницького національного медичного  
університету ім. М. І. Пирогова МОЗ України,  
д.мед.н., професор



В.П. Ковальчук




**«ЗАТВЕРДЖУЮ»**  
 Проректор  
 з наукової роботи  
 Дніпровського державного  
 медичного університету  
 професор  О.О. Гудар'ян  
 « 31 травня » 2021р

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

#### Результатів наукових досліджень

1. **Назва пропозиції:** «Особливості формування стійкості грампозитивної кокової мікрофлори до антибіотиків та антисептиків».
2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; 21018 м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
3. **Розробник:** Дудар Аліна Олександрівна.
4. **Джерело інформації:**
  1. Антимікробні властивості антибіотиків, декаметоксину®, фторхінолонів / **А. О. Дудар**, Г. К. Палій, С. В. Павлюк, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2017. – № 29. – С. 58-62.
  2. Характеристика резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів / Г. К. Палій, С. В. Павлюк, **А. О. Дудар**, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Вісник ВНМУ ім. М. І. Пирогова, 2018 - № 3 (Т.22). – С. 417 - 421.
  3. The research of antibacterial properties of decamethoxin, decasan, horosten / Н. К. Palii, D. V. Palii, **A. O. Dudar**, S. V. Pavliuk, O. A. Nazarchuk, A. V. Kulyk // Journal of Education, Health and Sport. – 2019. – Vol. 9, № 10. – P. 94-102.
  4. Дослідження впливу комбінованого застосування антисептика декаметоксину і фторхінолонів на клінічні штами S.aureus/ О.А.Назарчук, С.В.Павлюк, Г.Г.Назарчук, В.М.Мруг, **А.О.Дудар**, Л.К.Сорокоумова // Вісник ВНМУ. – 2020. – Т. 24, № 1. – С.80-83.
  5. The prospects of finding new treatments for acne./ A.V. Kryzhanovska, Y.Sidko., V.M.Shkarupa, **A.O.Dudar**, S.M.Gorbatyuk // Biomedical and biosocial anthropology. – 2020. – № 40. – С. 42-48.
5. **Де введено.** Введено в навчальний процес на лекціях, практичних заняттях на кафедрі мікробіології, вірусології, імунології та епідеміології Дніпровського державного медичного університету (протокол засідання № 13 від 28.05 2021 р.).
6. **Ефективність впровадження:** Актуалізація, практичне використання знань, щодо особливостей формування антибіотикорезистентності в грампозитивних кокових мікроорганізмів та протимікробної ефективності сучасних антибіотиків, антисептиків.

**Зуваження та пропозиції:** немає.

Голова комісії:

 проф. Степанський Д.О.

Члени комісії:

 проф. Кременчуцький Г.М.

 доц. Шарун О.В.

протокол № 13 від 28.05 2021 р.

«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з науково-педагогічної роботи  
Тернопільського національного медичного  
університету

імені І. Я. Горбачевського МОЗ України

д.мед.н., професор А. Г. Шульгай

«\_\_\_\_\_» 2021 р.

#### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

##### Результатів наукових досліджень

1. **Назва пропозиції:** «Особливості формування стійкості грампозитивної кокової мікрофлори до антибіотиків та антисептиків».
2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; 21018 м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
3. **Розробник:** Дудар Аліна Олександрівна.
4. **Джерело інформації:**
  1. Антимікробні властивості антибіотиків, декаметоксину®, фторхінолонів / А. О. Дудар, Г. К. Палій, С. В. Павлюк, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2017. – № 29. – С. 58-62.
  2. Характеристика резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів / Г. К. Палій, С. В. Павлюк, А. О. Дудар, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Вісник ВНМУ ім. М. І. Пирогова, 2018 - № 3 (Т.22). – С. 417 - 421.
  3. The research of antibacterial properties of decamethoxin, decasan, horosten / H. K. Palii, D. V. Palii, A. O. Dudar, S. V. Pavliuk, O. A. Nazarchuk, A. V. Kulyk // Journal of Education, Health and Sport. – 2019. – Vol. 9, № 10. – P. 94-102.
  4. Дослідження впливу комбінованого застосування антисептика декаметоксину і фторхінолонів на клінічні штами S.aureus / О.А.Назарчук, С.В.Павлюк, Г.Г.Назарчук, В.М.Мруг, А.О.Дудар, Л.К.Сорокоумова // Вісник ВНМУ. – 2020. – Т. 24, № 1. – С.80-83.
  5. The prospects of finding new treatments for acne./ A.V. Kryzhanovska, Y.Sidko., V.M.Shkarupa, A.O.Dudar, S.M.Gorbatyuk // Biomedical and biosocial anthropology. – 2020. – № 40. – С. 42-48.
5. **Де впроваджено.** Впроваджено в навчальний процес на лекціях, практичних заняттях на кафедрі мікробіології, вірусології, імунології та епідеміології Тернопільського національного медичного університету імені І.Я. Горбачевського МОЗ України (протокол засідання № 17 від 23 червня 2021р.).
6. **Ефективність впровадження:** Актуалізація, практичне використання знань, щодо особливостей формування антибіотикорезистентності в грампозитивних кокових мікроорганізмів та протимікробної ефективності сучасних антибіотиків, антисептиків.

Відповідальний за впровадження:  
Завідувач кафедри мікробіології, вірусології  
та імунології Тернопільського  
національного медичного університету  
імені І.Я. Горбачевського МОЗ України  
доктор медичних наук, професор

 С.І. Климнюк





«ЗАТВЕРДЖУЮ»

Проректор з наукової роботи  
Харківського національного  
медичного університету  
В.В.М'ясоєдов  
«27 квітня» 2021 р.

### АКТ ВПРОВАДЖЕННЯ

1. **Назва пропозиції:** «Особливості формування стійкості грампозитивної кокової мікрофлори до антибіотиків та антисептиків».
2. **Установа-розробник:** Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова МОЗ України; 21018 м. Вінниця, вул. Пирогова, 56.
3. **Розробник:** Дудар Аліна Олександрівна.
4. **Джерело інформації:**
  1. Антимікробні властивості антибіотиків, декаметоксину<sup>®</sup>, фторхінолонів / А. О. Дудар, Г. К. Палій, С. В. Павлюк, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Biomedical and Biosocial Anthropology. – 2017. – № 29. – С. 58-62.
  2. Характеристика резистентності мікроорганізмів до антимікробних препаратів / Г. К. Палій, С. В. Павлюк, А. О. Дудар, Д. В. Палій, А. В. Кулик // Вісник ВНМУ ім. М. І. Пирогова, 2018 - № 3 (Т.22). – С. 417 - 421.
  3. The research of antibacterial properties of decamethoxin, decasan, horosten / Н. К. Palii, D. V. Palii, А. О. Dudar, S. V. Pavliuk, O. A. Nazarchuk, A. V. Kulyk // Journal of Education, Health and Sport. – 2019. – Vol. 9, № 10. – P. 94-102.
  4. Дослідження впливу комбінованого застосування антисептика декаметоксину і фторхінолонів на клінічні штами S.aureus/ О.А.Назарчук, С.В.Павлюк, Г.Г.Назарчук, В.М.Мруг, А.О.Дудар, Л.К.Сорокоумова // Вісник ВНМУ. – 2020. – Т. 24, № 1. – С.80-83.
  5. The prospects of finding new treatments for acne./ A.V. Kryzhanovska, Y.Sidko., V.M.Shkarupa, А.О.Dudar, S.M.Gorbatyuk // Biomedical and biosocial anthropology. – 2020. – № 40. – С. 42-48.
5. **Де впроваджено.** Впроваджено в навчальний процес на кафедрі мікробіології вірусології та імунології ім. проф. Д.П. Гриньова Харківського національного медичного університету МОЗ України (протокол засідання № 7 від 27.04 2021р.).
6. **Ефективність впровадження:** Актуалізація, практичне використання знань, щодо особливостей формування антибіотикорезистентності в грампозитивних кокових мікроорганізмів та протимікробної ефективності сучасних антибіотиків, антисептиків.

Відповідальний за впровадження  
завідувачка кафедри мікробіології,  
вірусології та імунології  
ім. проф. Д.П. Гриньова  
Харківського національного  
медичного університету,  
д.мед.н., професор

М.М. Мішина