

АНОТАЦІЯ

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

Дисертація на здобуття наукового 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_Z*, 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 імпіпенему. 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 МБцК 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.

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 21st - 23rd. – 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. Шупика 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).*