

АНОТАЦІЯ

Буркот В. М. Характеристика впливу чинників оточуючого середовища на біологічну активність грамнегативних неферментуючих бактерій. – Кваліфікаційна наукова праця на правах рукопису.

Дисертація на здобуття ступеня доктора філософії з галузі знань 09 «Біологія» за спеціальністю 091 «Біологія». – Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова МОЗ України, Вінниця, 2021.

До групи грамнегативних неферментуючих бактерій (ГНБ) на сьогодні належать понад 30 біологічних видів, серед яких є небезпечні збудники захворювань людей, питома вага яких у етіологічній структурі опортуністичних інфекцій в останні роки невпинно зростає. Останні десятиріччя ознаменувались збільшенням кількості захворювань, спричинених представниками родів *Pseudomonas* та *Acinetobacter*. Тому Всесвітня організація охорони здоров'я віднесла *P. aeruginosa* та *A.baumannii* до групи «пріоритетних патогенів», які несуть найбільшу загрозу для здоров'я людини. Дослідження біологічних властивостей цих видів мікроорганізмів сприятимуть розробці методів боротьби з ними.

У дисертаційній роботі досліджено біологічні властивості штамів псевдомонад і ацінетобактерій, виділених від пацієнтів з опіковими і мінно-вибуховими ранами. Всього в процесі досліджень було виділено, ідентифіковано і досліджено властивості 81 штаму НФГНБ. У експериментальних дослідженнях використовували 75 штамів мікроорганізмів, а саме: 35 штамів *Acinetobacter baumannii* та 40 штамів *Pseudomonas aeruginosa*.

Досліджено морфологічні, тинкторіальні, культуральні та біохімічні ознаки виділених культур бактерій, їх чутливість до широкого спектру сучасних антибіотиків. Вивчено вплив складу поживного середовища, рН середовища, температури культивування, підвищеного осмотичного тиску та зниженого атмосферного тиску на біоплівкоутворюючу здатність клінічних ізолятів *A.baumannii* та *P.aeruginosa*.

Проведено визначення первинної структури нуклеотидних послідовностей генетичного матеріалу та ідентифіковано гени резистентності до антибіотиків. Методом пасажування мікроорганізмів у м'ясо-пептонному бульйоні з наростаючими концентраціями антибіотиків визначено швидкість формування стійкості у штучних умовах штамами-носіями різних генетичних детермінант резистентності.

Результати досліджень здатності до плівкоутворення виділеними штамами *P.aeruginosa* та *A. baumannii* продемонстрували суттєві міжвидові та міжштамові відмінності. Псевдомонади виявляли достовірно вищу здатність до плівкоутворення, у порівнянні з ацінетобактеріями. Представники обох видів неферментуючих бактерій найбільш активно утворювали біоплівки при наявності у середовищі білків сироватки крові.

Дослідження інтенсивності плівкоутворення при різних температурах культивування дозволило виявити різницю оптимальних умов для розвитку цього процесу у *P. aeruginosa* та *A. baumannii*. Найвищий рівень інтенсивності плівкоутворення *P. aeruginosa* виявляли при температурі 27°C. У *A. baumannii* плівкоутворення було найбільш інтенсивним при температурі культивування 32°C. Дослідження впливу рН середовища культивування на плівкоутворюючу активність неферментуючих бактерій показало, що ацінетобактерії і псевдомонади різко зменшують здатність утворювати плівки в кислому середовищі. Експериментально доведено зростання плівкоутворювальної активності неферментуючих бактерій в умовах зниженого атмосферного тиску.

Відповідно до стандартів EUCAST до немультirezистентних (nMDR) належало 8,6 % виділених штамів *A. baumannii*. Переважна більшість (71,4 %) досліджених ацінетобактерій належало до групи мультирезистентних (MDR). У *P. aeruginosa* MDR-штамів було менше за рахунок зсуву на користь групи штамів з розширеною резистентністю (XDR), відносна кількість яких становила 42,5 %. Серед ацінетобактерій показник належності до XDR-штамів дорівнював 20%.

Крім того, серед псевдомонад 5 % штамів належало до панрезистентних (PDR), тоді як серед *A. baumannii* таких варіантів не виявлено.

Проведене мультилокуснесиквенс-типування дозволило виявити серед виділених штамів неферментуючих бактерій варіанти, що належали до міжнародних клонів високого епідемічного ризику. Так, 40 % досліджених штамів *A. baumannii* належали до сіквенс-типу ST78 за схемою Pasteur. Серед досліджених штамів *P. aeruginosa* було виявлено представників двох глобальних клонів високого ризику, а саме: ST235 (4 штами) та ST1047 (3 штами). Всього у досліджених госпітальних штамів ацінетобактерій встановлено наявність 14, а у псевдомонад – 22 генетичних детермінант продукції різних бета-лактамаз. Окремі штами псевдомонад виявились носіями генів, відповідальних за синтез метало-бета-лактамаз *blaIMP-34* та *blaVIM-2*. Було встановлено, що стійкість до антибіотиків аміноглікозидного ряду у бактерій обох видів обумовлена наявністю генів аміноглікозид-ацетилтрансфераз (*aac*), аміноглікозид-аденілтрансфераз (*ant*, *aad*) та аміноглікозид-фосфотрансфераз (*aph*). Нами виявлено 18 варіантів таких генетичних детермінант у псевдомонад, і 11 – у ацінетобактерій.

Встановлено, що, навіть у штамів *P. aeruginosa* та *A. baumannii*, які не мають генів синтезу руйнівних для аміноглікозидів ферментів, при культивуванні у середовищах з наростаючими концентраціями антибіотика формування стійкості до амікацину відбувається швидше, ніж формування стійкості до меропенему. Доведено, що у псевдомонад у штучних умовах адаптація до високих концентрацій левофлоксацину відбувається швидше, ніж до концентрацій амікацину.

Ключові слова: неферментуючі грамнегативні бактерії, інфекційні ускладнення, біоплівки, антибіотики, антибіотикорезистентність.

Список публікацій здобувача за темою дисертації.

Наукові праці, в яких опубліковані основні наукові результати дисертації:

1. Протимікробна дія антисептичних препаратів, антибіотиків на збудники запальних захворювань / В. Г. Палій, В. В. Сухляк, Д. В. Палій, О. О. Гончар,

А. В. Крижановська, Б. М. Береза, В. М. Буркот, П. О. Кравчук, Н.В. Задерей // *Biomedical and Biosocial Anthropology*. – 2014. – № 22. – С. 44-47. *(дисертанткою проведено пошук літературних джерел, визначення чутливості мікроорганізмів до антисептиків та антибіотиків).*

2. Вивчення властивостей мікрофлори опікової поверхні у пацієнтів з опіками / В. І. Нагайчук, О. А. Назарчук, В. Г. Палій, Є. Ф. Макац, В. М. Буркот // *Biomedical and Biosocial Anthropology*. – Вінниця, 2014. – № 22. – С. 194-199. *(особистий внесок дисертантки – визначення біологічних властивостей мікробіоти та підготовка статті до друку).*

3. До характеристики сучасних інфекційних ускладнень у хворих з опіками / В. І. Нагайчук, О. А. Назарчук, І. Г. Палій, В. М. Буркот, О. О. Гончар // *Український медичний часопис*. – № 5 (103). - 2014. – С. 123-126. *(дисертантка особисто провела пошук та аналіз літературних джерел за темою роботи, проведено бактеріологічні дослідження).*

4. Оцінка антибактеріальних та протигрибкових властивостей сучасних антисептиків / Г. К. Палій, О. А. Назарчук, В. В. Бобир, О. О. Гончар, Т. Л. Гридін, Д. В. Палій, І. В. Коваленко, В. М. Буркот // *Мікробіологія і біотехнологія*. – Одеса, 2015. – № 4(32). – С. 67-74. *(дисертантка визначала антибактеріальні та протигрибкові властивості антисептиків).*

5. Дослідження дії декаметоксину та його лікарських форм на адгезію бактерій / О. О. Гончар, О. А. Назарчук, Д. В. Палій, І. В. Коваленко, О. В. Яцула, В. М. Буркот // *Світ медицини та біології*. – № 4 (54). – Полтава, 2015. – С. 109-112. *(дисертантка проводила дослідження адгезивних властивостей мікроорганізмів, аналіз та узагальнення одержаних результатів).*

6. Динаміка утворення біоплівки на поверхні ендотрахеальних інтубаційних трубок *Pseudomonas aeruginosa* та *Acinetobacter baumannii* / Ю. Ю. Трофіменко, В. М. Буркот, Є. Ф. Макац // *Biomedical and Biosocial Anthropology*. – Вінниця, 2016. – № 26. – С. 23-26. *(особистий внесок дисертантки – виділення та ідентифікація збудників, узагальнення одержаних результатів).*

7. Аналітичне прогнозування чутливості до фторхінолонів *Pseudomonas aeruginosa*, збудників інфекційних ускладнень / О. А. Назарчук, Д. В. Палій, Н. І. Осадчук, І. В. Коваленко, В. М. Буркот // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Вип. 1. - Т. 2 (127). – С. 105-109. *(дисертантка провела літературний пошук, брала участь у дослідженні та написанні статті)*.

8. Ефективність антибактеріальної дії антибіотиків, антисептика декаметоксину та псевдомонадного бактеріофагу на клінічні штами *Pseudomonas aeruginosa* / Г. К. Палій, І. М. Вовк, І. М. Коваленко, О. А. Назарчук, В. М. Буркот // Вісник Вінницького національного медичного університету. – 2016. – № 1, Ч. 1, Т. (20). – С. 16-21. *(дисертанткою проведено аналіз наукової літератури, дослідження властивостей декаметоксину та псевдомонадного бактеріофагу)*.

9. Біологічні властивості збудників ускладнень у хворих з опіками / В. М. Буркот // Вісник проблем біології і медицини. – 2016. – Вип. 2, Т. 3 (130). – С. 210-213.

10. Особливості формування резистентності до антибіотиків у грамнегативних неферментуючих бактерій / В. М. Кондратюк, З. М. Прокопчук, В. М. Буркот, І. М. Вовк // Вісник Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. - № 2. - Т. 22. – Вінниця, 2018. – С. 253-256. *(особистий внесок дисертантки – визначення чутливості збудників до антибіотиків, прогнозування антибіотикочутливості)*.

11. Чутливість біоплівкових та планктонних форм неферментуючих бактерій до дії антисептиків / Ю. Ю. Трофіменко, Є. Ф. Макац, О. К. Стукан, В. М. Буркот // Вісник Вінницького національного медичного університету ім. М. І. Пирогова. - № 2. - Т. 22. – Вінниця, 2018. – С. 293-296. *(особистий внесок дисертантки – визначення ефективності антимікробних засобів до неферментуючих бактерій)*.

12. Фенотипові і генотипові детермінанти антибіотикорезистентності грамнегативних бактерій – етіологічних чинників інфекційних ускладнень бойових ран / В. П. Ковальчук, В. М. Кондратюк, І. М. Коваленко, В. М. Буркот // Мікробіологічний журнал, 2019. - Т. 81. - № 1. – С. 61-71. *(особистий внесок*

дисертантики – визначення чутливості збудників до антибіотиків, прогнозування антибіотикочутливості, проведення мікробіологічного та молекулярно-генетичного дослідження детермінант резистентності в бактерій).

13. Дослідження ефективності використання антисептичних композицій на основі декаметоксину для обробки ендотрахеальних трубок з метою попередження розвитку вентилятор-асоційованої пневмонії у пацієнтів відділення інтенсивної терапії / Ю. Ю. Трофіменко, О. І. Жорняк, Н. С. Фоміна, В. М. Буркот, А. В. Кулик, П. В. Жорняк // Вісник ВНМУ, 2020. - Т. 24. - № 1. – С. 17-19. *(дисертантика проводила дослідження ефективності протимікробних засобів, брала участь в оформленні статті).*

14. Мікробіологічне обґрунтування антимікробного лікування експериментального псевдомонадного кератиту / І. М. Вовк, Н. В. Кривецька, В. М. Буркот, А. О. Дудар, А. В. Кулик // Вісник ВНМУ, 2020. - Т. 24. - № 1. – С. 114-117. *(дисертантика провела пошук літературних джерел та визначала чутливість мікроорганізмів до антисептиків та антибіотиків).*

15. Biofilm forming activity of non-fermenting gram-negative bacteria / Valentyn P. Kovalchuk, Oleksandr A. Nazarchuk, Vita M. Burkot, Nadiia S. Fomina, Zoia M. Prokopchuk, Oleksandr Dobrovanov // Wiadomości Lekarskie, Volume LXXIV, Issue 2, February 2021. – P. 252-256. *(дисертантика проводила експериментальне відтворення біоплівки, аналіз результатів, участь у написанні статті).*

16. Пат. u201404865 Україна, А61 L 15/12, А 61 L 15/03. Спосіб профілактики та лікування інфекційних ускладнень у хворих з глибокими опіками / Нагайчук В. І., Палій В. Г., Назарчук О. А., Палій Д. В., Гончар О. О., В. М. Буркот; заявник і власник патенту Вінницький національний медичний університет ім. М.І. Пирогова. – № 93662; заявл. 07.05.2014; Опубл. 10.10.2014; Бюл. № 19. – 7 с. *(особистий внесок дисертантики – провела мікробіологічний моніторинг антибіотикорезистентності бактерій).*

17. Патент на корисну модель № 119030, Україна, МПК (2017.01) С12N 1/00. Діско-дифузійний спосіб визначення механізму резистентності до β -лактамних антибіотиків у стафілококів / Кондратюк В. М., Ковальчук В. П., Палій

Г. К., Кондратюк О. П., Буркот В. М.; заявник та патентовласник Вінницький національний медичний університет ім. М. І. Пирогова. –и 201702080; заявл. 06.03.2017; опубл. 11.09.2017, Бюл. № 17. *(особистий внесок дисертантки – визначення чутливості мікроорганізмів до антибіотиків).*

18. Буркот В. М. Спосіб профілактики та лікування інфекційних ускладнень у хворих з глибокими опіками / В. І. Нагайчук, О. А. Назарчук, В. Г. Палій, Д. В. Палій, О. О. Гончар, І. В. Коваленко, В. М. Буркот, О. В. Колісник // Реєстр галузевих нововведень. – 2016. – Вип. 2, Т. 1. – Реєстр. № 222/2/15. – С. 184-185. *(особистий внесок дисертантки – провела дослідження протимікробної активності антисептиків, антибіотиків).*

Наукові праці, які засвідчують апробацію матеріалів дисертації:

19. Характеристика мікробіоценозу ран у хворих з опіками / В. І. Нагайчук, О. А. Назарчук, В. Г. Палій, Є. Ф. Макац, В. М. Буркот // Довкілля і здоров'я: мат. наук.-практ. конф., 25 квітня 2014 р. – Тернопіль, 2014. – С. 93-95. *(дисертантка визначила біологічні властивості збудників у хворих з опіками, провела аналіз, підготувала тези до друку).*

20. Дослідження ефективності антисептичних засобів щодо збудників інфекційних ускладнень в хворих з критичними станами / О. А. Назарчук, Д. В. Палій, В. М. Буркот // Матеріали XIII Міжнародної наукової конференції студентів та молодих вчених «Перший крок в науку-2016». - 7-8 квітня 2016. - Вінниця. – С. 44. *(особистий внесок здобувача – визначення чутливості збудників до антисептиків, провела аналіз даних).*

21. The research of the qualities in non-enzymatic bacteria, isolated from patients with infectious complications / O. A. Nazarchuk, V. I. Nahaichuk, Yu. J. Saldan, I. V. Kovalenko, V. M. Burkot // II International Scientific Conference Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21st century. - April 14 – 15, 2016, Kyiv. - P. 79 – 80. *(дисертантка визначила біологічні властивості збудників у хворих з опіками, провела аналіз, підготувала тези до друку).*

22. Чутливість до антибіотиків грам негативних неферментуючих бактерій, які спричиняють розвиток вентилятор-асоційованої пневмонії /

Ю. Ю. Трофіменко, В. М. Буркот // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми антибіотикотерапії та формування антибіотикорезистентності» 29 січня 2018 р. – Чернівці, 2018. – С. 54-55. *(особистий внесок дисертантки – визначення чутливості збудників до антибіотиків та написання тез).*

23. Плівкоутворення акінетобактерій в присутності антибіотиків / В. П. Ковальчук, В. М. Кондратюк, З. М. Прокопчук, В. М. Буркот // Матеріали науково-практичної конференції з міжнародною участю «Сучасні проблеми антибіотикотерапії та формування антибіотикорезистентності» 29 січня 2018 р. – Чернівці, 2018. – С. 95-96. *(дисертантка проводила експериментальне відтворення біоплівки, визначення чутливості ацинетобактерій до антибіотиків, аналіз та написання тез).*

24. Characteristics of adaptive properties of nonfermenting bacteria / V. P. Kovalchuk, Z. M. Prokopchuk, V. M. Burkot // III International Scientific Conference «Microbiology and Immunology – the development outlook in the 21st century». Abstracts book. April 19-20, 2018, Kyiv. – P. 60-61. *(особистий внесок дисертантки – дослідження чутливості мікроорганізмів, узагальнення результатів та оформлення тез).*

25. Швидкість формування антибіотикорезистентності грамнегативними неферментуючими бактеріями / В. М. Буркот, Н. С. Фоміна, О. А. Назарчук, Ю. Ю. Трофіменко // Інфекційні хвороби сучасності: етіологія, епідеміологія, діагностика, лікування, профілактика, біологічна безпека: конференція присвячена пам'яті академіка Л. В. Громашевського та 25-річчю Національної академії медичних наук України, 11-12 жовтня 2018 р., Київ. – С. 40-41. *(дисертантка провела пошук літературних джерел та проведення мікробіологічного та молекулярно-генетичного дослідження детермінант резистентності в бактерій, визначала чутливість мікроорганізмів до антисептиків й антибіотиків, написання тез).*

26. Вплив чинників оточуючого середовища на плівкоутворюючу активність бактерій / В. П. Ковальчук, В. М. Буркот, І. Ю. Сідько,

Ю. Ю. Трофіменко // Всеукраїнська науково-практична конференція з міжнародною участю присвячена 90-річчю А. Я. Циганенко «Актуальні питання сучасної мікробіології та імунології» (Харків, 2019). – С. 40-42. *(дисертантка проводила експериментальне відтворення біоплівки за різних хімічних чинників, аналіз та написання тез).*

27. Порівняльне вивчення антимікробної активності сучасних дезінфектантів / В. П. Ковальчук, З. М. Прокопчук, І. М. Вовк, Н. С. Фоміна, І. М. Коваленко, В. М. Буркот // Науково-практична конференція «Мікробіологічні читання пам'яті професора Юрія Леонідовича Волянського», 12 лютого 2020 року, Харків. – С. 62-63. *(особистий внесок дисертантки – дослідження ефективності сучасних дезінфектантів, оформлення тез).*

28. Антибіотикорезистентність клінічних штамів грамнегативних неферментуючих бактерій / В. М. Буркот, Н. А. Багнюк, Б. І. Левченко, Я. П. Грицун // Науково-практична міжнародна дистанційна конференція «Мікробіологічні та імунологічні дослідження в сучасній медицині», 26 березня 2021 року, Харків, 2021. – С. 57-59. *(дисертантка проводила мікробіологічний моніторинг рівня фенотипової антибіотикорезистентності бактерій, написання тез).*