

ФБУН «Нижегородский научно-исследовательский институт
эпидемиологии и микробиологии им. академика
И.Н.Блохиной» Роспотребнадзора, Нижний Новгород

ХАРАКТЕРИСТИКА КОАГУЛАЗОНЕГАТИВНЫХ СТАФИЛОКОККОВ, ЦИРКУЛИРУЮЩИХ В СТАЦИОНАРАХ РАЗЛИЧНОГО ПРОФИЛЯ

Борискина Е.В., Беляева Е.В., Ермолина Г.Б., Шкуркина И.С.,
Кряжев Д.В.

2019г.

Целью данной работы явилось изучение биологических характеристик штаммов коагулазонегативных стафилококков (CoNS), циркулирующих в стационарах г. Нижнего Новгорода в 2016-2018 гг.

Задачи:

- определить чувствительность штаммов к антимикробным препаратам (антибиотикам и бактериофагам)
- выявить способность выделенных микроорганизмов к образованию биопленок
- определить у исследованных микроорганизмов факторы патогенности и персистенции: лизоцимную, гемолитическую активность

Объектом исследования были CoNS, выделенные из раневого отделяемого пациентов ожогового и хирургического отделений стационара №1 (82 штамма) и от детей периода новорожденности с воспалительными поражениями кожи - пациентов стационара №2 (248 штаммов) г. Н. Новгорода в 2016–2018 гг.

Идентификация штаммов была проведена в лаборатории микробиома человека и средств его коррекции методом времяпролетной MALDI-TOF масс-спектрометрии на масс-спектрометре Autoflex speed (Bruker Daltonics, Германия) с использованием программного обеспечения MALDI Biotyper 3.0.

О достоверности идентификации судили по значению коэффициента совпадения Score values - 2,000 – 3,000 – идентификация до вида, 1,999-1,700 – идентификация до рода и значению категорий – А – достоверная идентификация до вида, В - достоверная идентификация до рода, С – недостоверный результат.

Все исследованные штаммы были идентифицированы методом MALDI-TOF масс-спектрометрии до вида с показателем Score больше 2,0, категория А.

Тестированные антибиотики

- макролиды (кларитромицин, азитромицин),
- пенициллины (оксациллин, амоксициллин),
- цефалоспорины II поколения (цефокситин),
- цефалоспорины III поколения (цефтриаксон, цефотаксим, цефоперазон),
- цефалоспорины IV поколения (цефепим),
- карбапенемы (имипенем и меропенем),
- аминогликозиды (амикацин),
- гликопептиды (ванкомицин),
- линкозамиды (линкомицин)

Тестированные бактериофаги производства НПО «Микроген»

- секстафаг (г. Пермь),
- пиобактериофаг поливалентный (г. Уфа),
- интести–бактериофаг (г. Нижний Новгород),
- пиобактериофаг комплексный (г. Нижний Новгород),
- стафилококковый бактериофаг (г. Нижний Новгород)

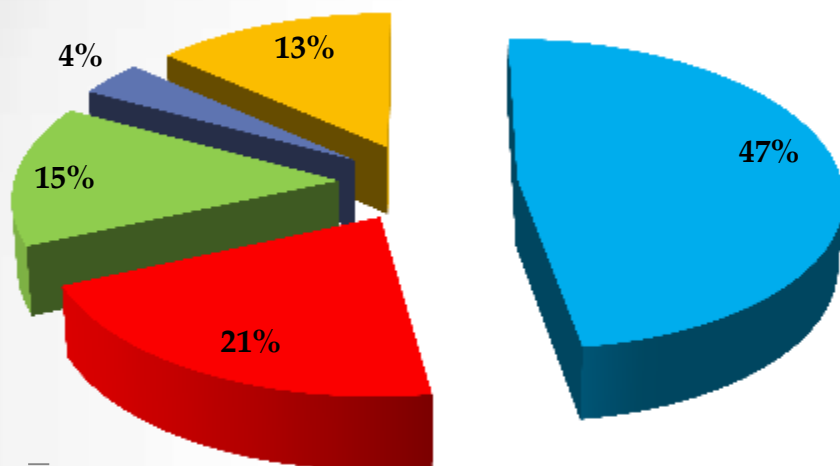
По результатам штаммы CoNS разделены на две группы:

чувствительные – интенсивность лизиса «++++», «+++», «++»
и устойчивые – отсутствие лизиса и слабочувствительные «+».

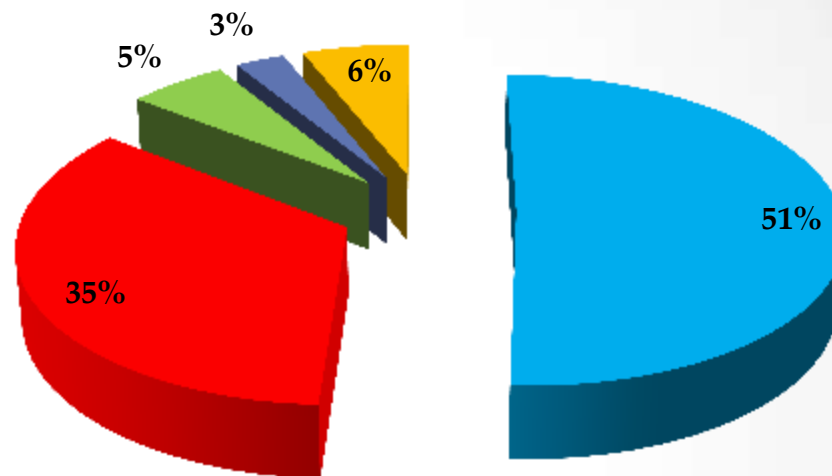
- Гемолитическую активность (ГА) бактерий оценивали по диаметру зон лизиса на кровяном агаре.
- Лизоцимную активность (ЛА) определяли по диаметру зон лизиса индикаторной культуры *Micrococcus luteus* вокруг исследуемых колоний.
- Способность к пленкообразованию исследуемых штаммов оценивали по прилипанию клеток к лункам пластикового планшета и интенсивности их окрашивания генцианвиолетом, которая измерялась в единицах оптической плотности (ОП) при длине волны 540 нм. Удельное пленкообразование (УПО) оценивали как отношение разницы ОП₅₄₀ опытных образцов и ОП₅₄₀ контрольных к ОП₅₄₀ клеточной суспензии.

Статистическую обработку полученных результатов проводили с использованием программ «Microsoft Excel» методами параметрической и непараметрической статистики по критериям Стьюдента. Различия между независимыми группами данных считались достоверными при $p < 0,05$.

Стационар 1



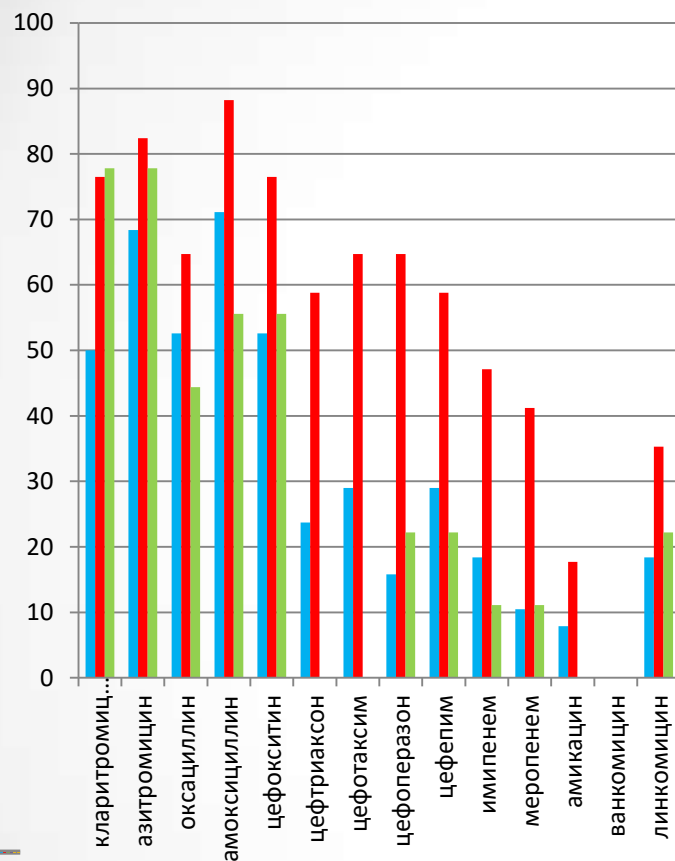
Стационар 2



- *S. epidermidis*
- *S. haemolyticus*
- *S. hominis*
- *S. lugdunensis*
- прочие стационар 1 (*S. capitis*, *S. cohnii*, *S. sciuri*, *S. warneri*, *S. caprae*, *S. nepalensis*, *S. simulans*)
- прочие стационар 2 (*S. simulans*, *S. warneri*, *S. hyicus*, *S. capitis*, *S. saccharolyticus*)

Рис. 1. Видовой состав CoNS в стационарах разного профиля

Стационар 1



■ S. epidermidis

■ S. haemolyticus

■ S. hominis

Стационар 2

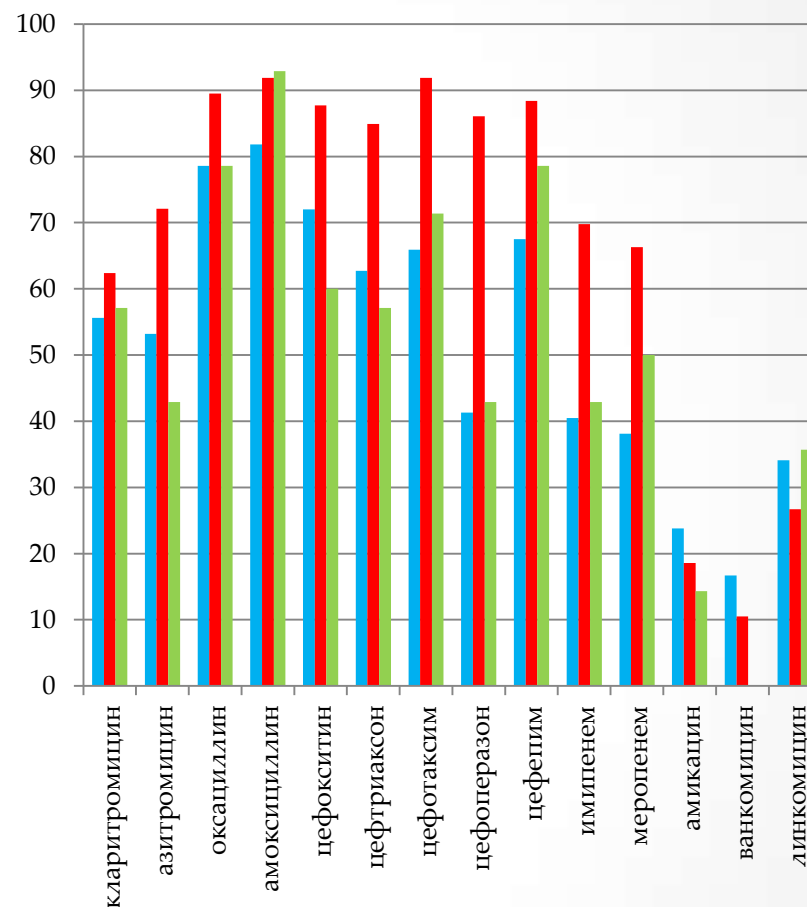
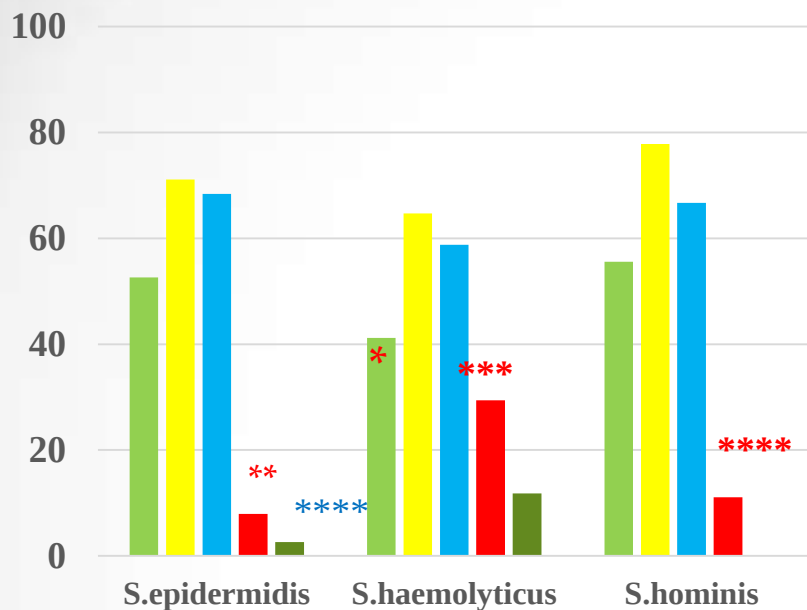
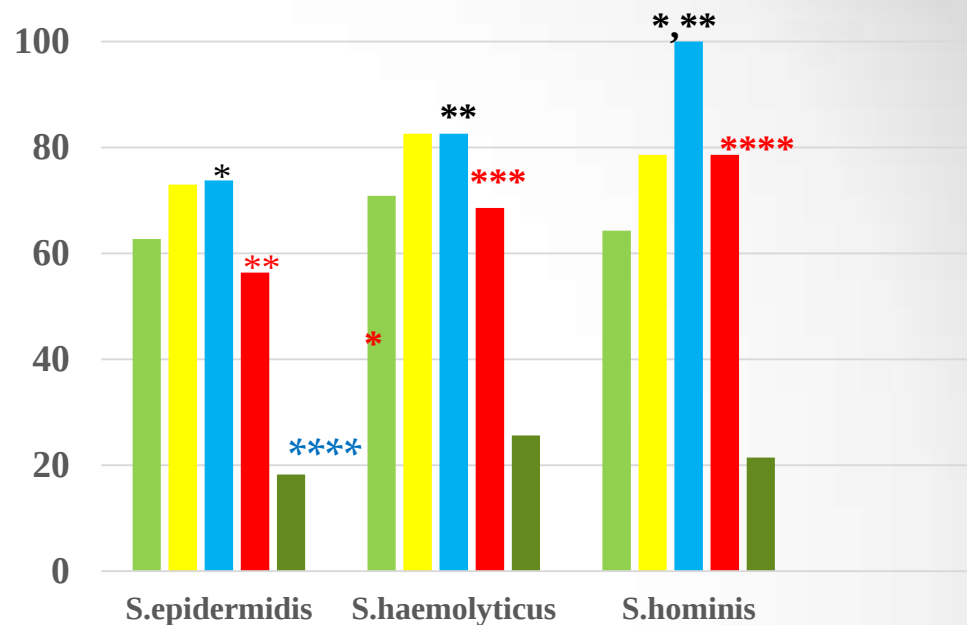


Рис. 2. Антибиотикорезистентность культур коагулазонегативных стафилококков, выделенных в стационарах г.Н.Новгорода (%)

Стационар 1



Стационар 2



- секстафаг
- пиобактериофаг поливалентный
- интести бактериофаг
- пиобактериофаг комплексный
- стафилококковый

Рис.3. Резистентность к бактериофагам выделенных штаммов стафилококков (%)

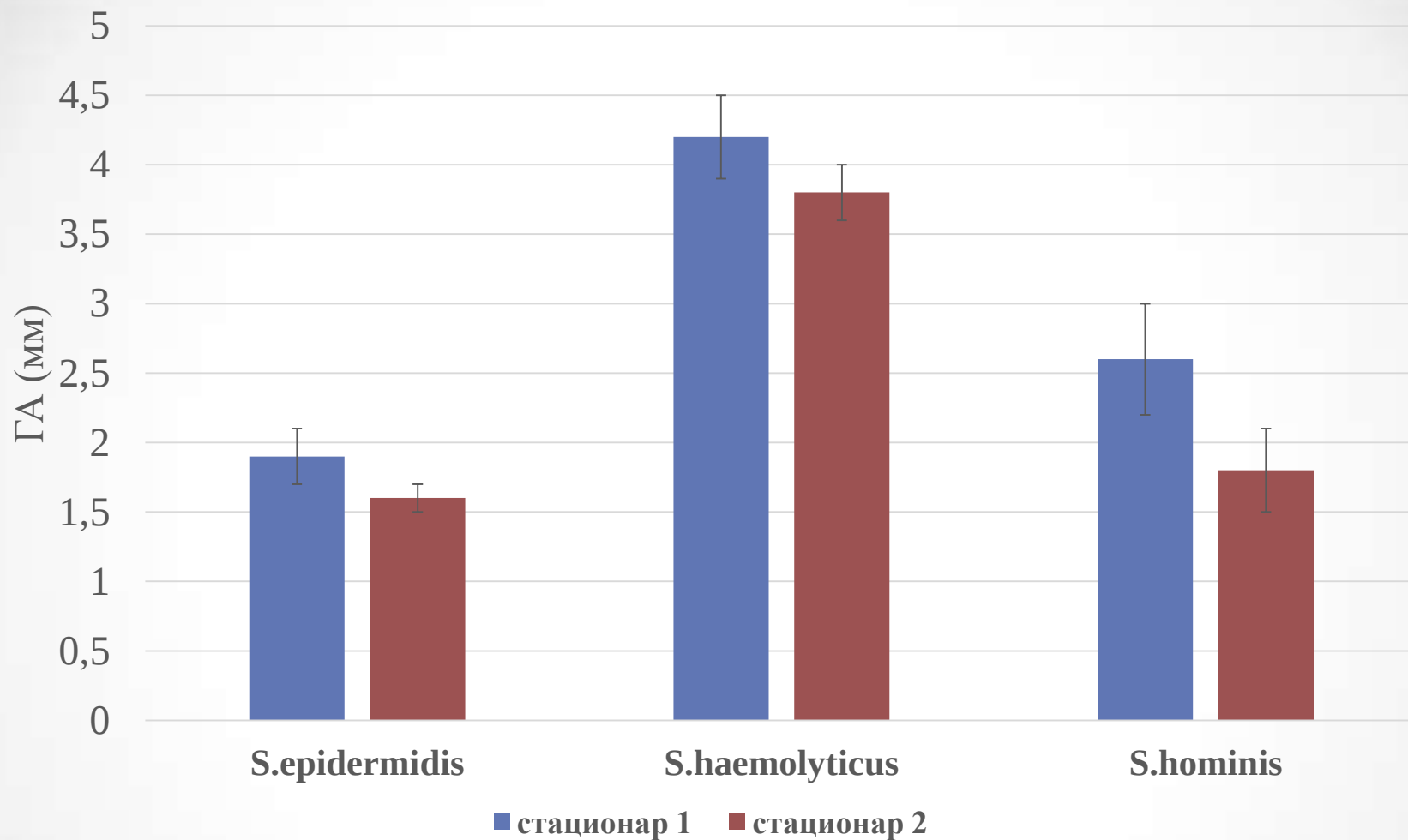


Рис. 4. Гемолитическая активность (ГА) коагулазонегативных стафилококков в стационарах разного профиля

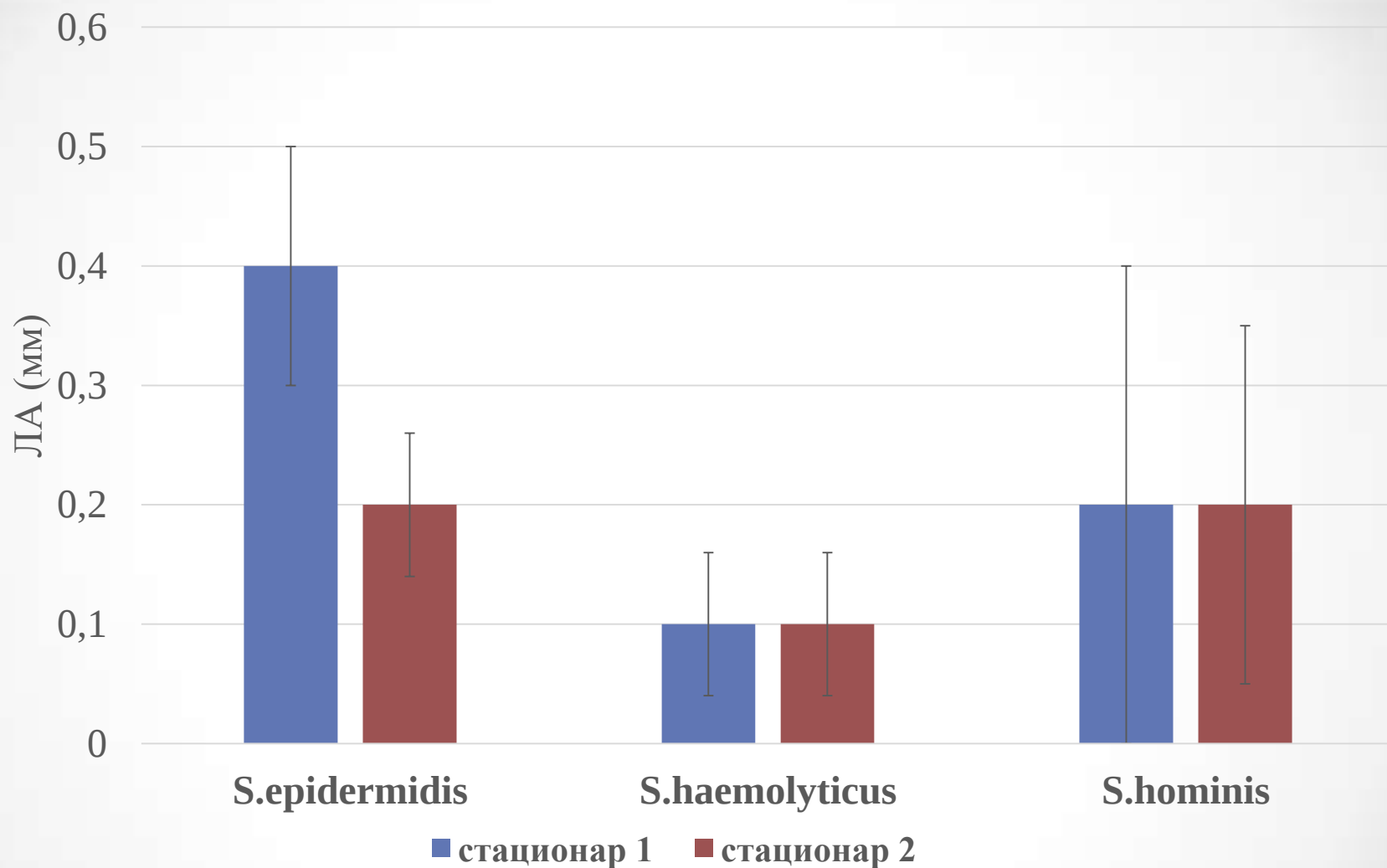
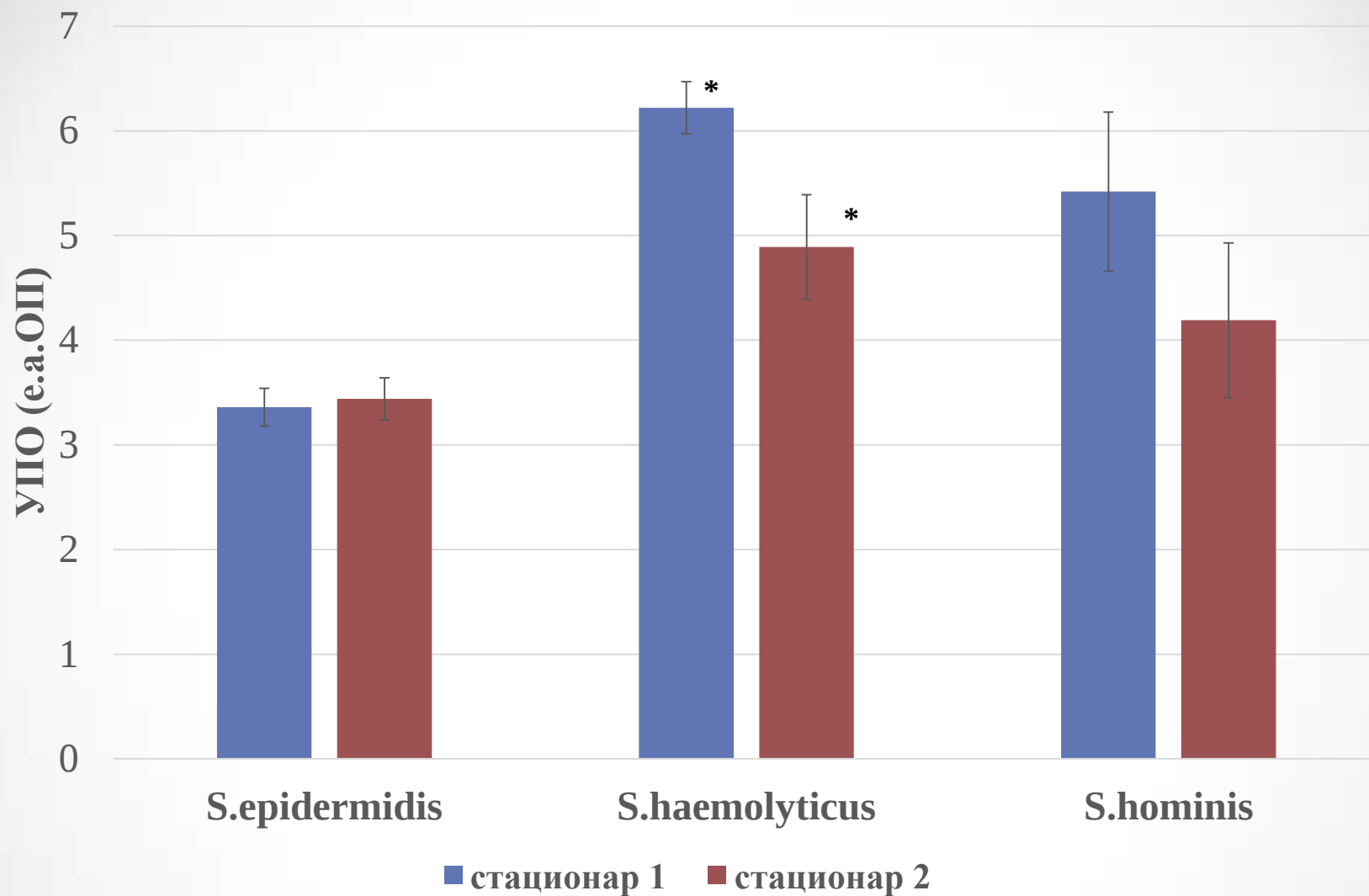


Рис. 5. Лизоцимная активность (ЛА) коагулазонегативных стафилококков в стационарах разного профиля



* - разница достоверна при $p < 0,05$

Рис.6. Способность к пленкообразованию коагулазонегативных стафилококков в стационарах разного профиля

Выводы

1. Среди культур CoNS, циркулирующих в ожоговом, хирургическом отделениях (стационар №1) и отделении новорожденных с воспалительными поражениями кожи (стационар №2), доминировали *S.epidermidis*, *S.haemolyticus* и *S.hominis*.
2. Доля метициллинрезистентных штаммов *S.epidermidis* и *S.haemolyticus* в детском стационаре №2 была достоверно выше, чем в ожоговом и хирургическом отделениях стационара №1.
3. Наибольший процент устойчивых к антибиотикам штаммов наблюдался среди *S.haemolyticus* в обоих стационарах.
4. Доминирующие среди CoNS культуры *S.epidermidis*, *S.haemolyticus* и *S.hominis* в детском стационаре №2 чаще были устойчивы к бактериофагам, чем в стационаре №1. В обоих стационарах наибольшую чувствительность культуры CoNS проявляли к стафилококковому бактериофагу.
5. В проявлении гемолитической и лизоцимной активностей наблюдались лишь межвидовые различия CoNS в обоих стационарах.
6. Культуры *S.epidermidis* в обоих стационарах обладали более низкой степенью пленкообразования, чем *S.haemolyticus* и *S.hominis*. Наибольшей способностью к пленкообразованию обладали культуры *S.haemolyticus*. Доля таких штаммов в стационаре №2 была достоверно выше, чем в стационаре №1.
7. Культуры CoNS из детского стационара №2, особенно *S.haemolyticus*, чаще обладали свойствами, способствующими их персистированию, и представляли угрозу формирования госпитальных штаммов.

Спасибо за внимание