

УДК 615.33 : 577.112

ГЕТЕРОГЕННІСТЬ ЗА КРИТЕРІЯМИ КУЛЬТУРАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТА БІОХІМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ МІКРОБІВ РОДУ STAPHYLOCOCCUS, ВИЛУЧЕНИХ ВІД ХВОРИХ НА ПНЕВМОНІЇ ДІТЕЙ В ПЕРІОД З 2003 ПО 2008 РР.

Шатіло Ю.В.

**Житомирська обласна клінічна дитяча лікарня,
м. Житомир**

Вступ

Грампозитивні коки (17 група бактерій згідно з Означником бактерій Берджі, 1994) являють собою чи не найбільш детально охарактеризованих та широко представлених в природі мікроорганізмів, об'єднаних за критеріями і ознаками, в значній мірі умовними і з неоднозначною трактовкою. Навіть самі упорядники та автори останніх видань вказаного означника, який використовують більшість бактеріологів в світі для ідентифікації та диференціації мікроорганізмів, підтверджують, що 17 група бактерій об'єднана в роди більше для зручності застосування, ніж за чітко визначеними і загальноприйнятими таксономічними властивостями. Для об'єднання грампозитивних коків в одну групу фактично використано дві (в значній мірі фенотипічні) ознаки - сферичну форму клітин та позитивне відношення до фарбування за Грамом. Мікроби цієї групи не утворюють ендоспори, нерухомі або малорухомі, вельми відрізняються за типом дихання (від облігатних аеробів до облігатних анаеробів), нерівнозначні за ферментативною активністю (перш за все каталазою).

Слід акцентувати, що сферична форма грампозитивних коків зустрічається не завжди, науковці і практики описали напівсферичні, овальні, односторонньо випуклі та дещо витягнуті ізоляти бактерій 17 групи [1-3]. Більш того, навіть в популяції однієї мікробної культури коків в процесі росту та накопичення цей показник по формі клітин вельми варіабельний [4]. Щодо фарбування за методом Грама, то чіткість та інформативність цієї властивості теж в ряді випадків сумнівна, постільки залежить від самих різних факторів і не завжди проявляється однозначно, що нерідко вводить в оману навіть достатньо досвічених бактеріологів.

Грампозитивні коки широко, фактично убіквітано, розповсюджені в природі, вегетують і здатні накопичуватись в ґрунті, воді і, навіть, у повітрі, вилучаються постійно від рослин, тварин і людей, холоднокровних (риби, краби тощо), членистоногих. Аерококи, ентєрококи, лейконостоки, стоматококи нерідко викликають захворювання у людей і тварин, а стафілококи та стрептококи, пептококи і пептострептококи відносяться до чи не найбільш поширених клінічно значимих на сьогодні збудників гнійно-запальних хвороб [5].

Короткий екскурс щодо характеристики 17 групи бактерій загалом виконано з метою підкреслити труднощі для фахівців при ідентифікації та диференціації родової приналежності ізолятів бактерій, та ще: більше - при ідентифікації в межах роду, видової, субпопуляційної та штамової диференціації.

Навіть враховуючи викладене, ми все ж таки вимушені дотримуватись загального підступу щодо ієрархії бактерій, наданої в Bergey's Manual of Determinative Bacteriology, IX видання, 1994-1998, але при цьому визнаємо за доцільне користуватись і іншими раціональними таксономічними класифікаціями, перш за все розподілом грампозитивних аеробних і факультативно анаеробних коків на родини Мігсососсасеае та Стрептососсасеае, а анаеробних неспороутворюючих мікробів на роди (Bacteroides, Prevotella, Porphyromonas, Fusobacterium, Mobilunus, Vellionella, Peptostreptococcus і Peptococcus).

Матеріали та методи дослідження

Всього вилучено 177 ізолятів стафілококів, з них в монокультурі лише 32. Первинну ідентифікацію їх та приналежність до роду Staphylococcus проводили з застосуванням пластини ПБСД НПО "Діагностичні системи" (Н. Новгород, Росія). Схема бактеріологічного дослідження та кольорові диференціюючі біохімічні показники пластин ілюструє рис. 1. Використану систему, безсумнівно, є сенс застосовувати в практичній бактеріології, та, на наш погляд, більш раціонально при масових дослідженнях на забруднення стафілококами об'єктів зовнішнього середовища (харчових продуктів, ґрунту, води, повітря тощо), з метою санітарно-гігієнічної оцінки, тобто в тих випадках, де мікроби накопичуються в достатньо великій кількості в монокультурі (наприклад, стафілококове обсіменіння кондитерських виробів), там, де при достатньо великому масиві об'єктів дослідження потрібен терміновий результат (для епідеміологів, перш за все).

В практичній клінічній бактеріології просто означення приналежності ізолятів до роду Staphylococcus (що дозволяє використання ПБСД) явно недостатньо. В принципі, навіть початкуючий бактеріолог з малим досвідом, але елементарними навичками роботи з мікроскопом та фарбування по Граму по трьом ознакам (Гр⁺, сферична форма, розташування в препараті у вигляді грону винограду) з достатньо високою долею вірогідності (70-80%), як і вище названа система, доведе, що має справу зі стафілококами. Більш того, висівом матеріалу на відповідне щільне живильне середовище означить масивність обсіменіння в КУО/мл або см³. На цьому в багатьох випадках так званий "аналіз" закінчується, формується його результат. Але для клініциста вказаної інформації замало. Йому потрібна детальна характеристика ізоляту, означення потенції патогенності, чутливості до протимікробних засобів, специфічних фагів (при підозрі на нозокоміальну інфекцію) тощо.

По цьому, нами застосована класична, десятиріччями апробована методика ідентифікації та внутрівидової диференціації стафілококів, вивчення їх біологічних властивостей, ознак патогенності і вірулентності, чутливості до антибіотиків, антисептиків і дезінфектантів, а також до фагів.

Результати та обговорення

З більше як 50 властивостей стафілококів, рекомендованих Означником бактерій Берджі, 1994, табл.17.15, С. 553-559, для ідентифікації роду та

внутрішньородової диференціації, більше третини фактично недоступні для вивчення в практичній лабораторії (відсутність реактивів, обладнання тощо), та й необхідності нагальної в цьому немає, постільки багато ознак з позначкою "±" вносять деякі сумніви щодо вірогідності результатів досліджень.

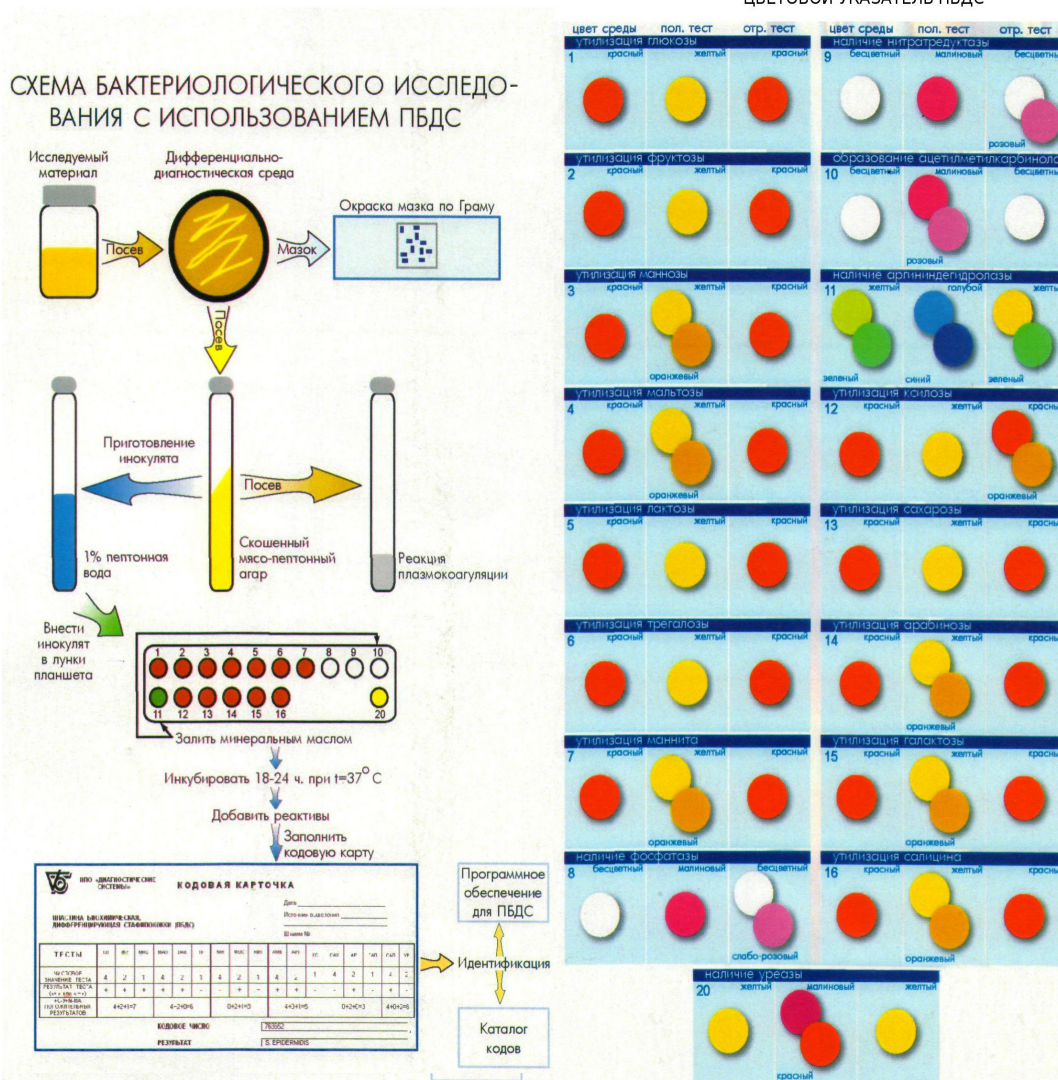


Рис. 1. Схема ідентифікації стафілококів з використанням біохімічних пластин.

Нами обрано 26 базових властивостей і за ними 154 ізолятів віднесено до видів (в ряді випадків до підвидів): *S. aureus*-37, *S. epidermidis* -19, *S. hominis*-17, *S. capitis*(subsp. *urealyticus*)-26, *S. chromogenes*-16, *S. gallinarum*-8, *S. cohnii* (subsp. *urealyticus*)-9, *S. saprophyticus*-22 (табл.1).

23 ізоляти стафілококів не вдалося диференціювати до виду, перш за все, за причини широкої варіабельності біологічних ознак. До речі, слід відмітити, що запропонований укладачами Означника бактерій Берджі тест чутливості до новобіоцину вже явно застарілий, мало інформативний, з великим великим розбігом результатів (навіть в одній і тій же популяції чистої культури), по цьому нами в подальшому не використовувався. Підвидовий епітет "*urealyticus*" деякі науковці та практичні бактеріологи [G+] також не сприймають, трактують його за нелегітимний, рахують молодшим омонімом та орфографічним варіантом. Але

нами проявлена щодо цих ізолятів стафілококу підвищена зацікавленість за причини дослідження в подальшому можливого (і навіть більш ніж ймовірного) зв'язку мікробіоценозів двох екологічних ніш (біотопи бронхолегеневої системи і сечовидільного тракту) в етіопатогенезі гнійно-запальних захворювань, що превалюють в пульмонології та урології. Аналізуючи в деталях дані табл. 1, слід підкреслити високу гетерогенність стафілококів, що вегетують в дихальній системі хворих на пневмонії дітей, за критеріями культуральних властивостей та біохімічної активності. Так, клінічні штами *S. aureus* підвиду *subsp. aureus* (підвид *subsp. anaerobius* не враховувався за причини наявності в основному аеробних умов в бронхах), на відміну від класичної характеристики за Ознаками бактерій Берджі чітко відрізнялись (варіювали) за цілим рядом показників. А саме, превалююча їх кількість виявилась здатною

рости за анаеробних умов, створених за допомогою окислювача тіогліколяту та на живильних середовищах з кам'яною сіллю, майже 10 % ізолятів продукували цитохром С-оксидазу, в аеробних умовах розщеплювали до утворення газу D-ксилозу, L-арабінозу, D-фукозу, рафінозу і саліцин, використовували для росту $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Епідермальний стафілокок виявився солестійким в третині випадків, 4 штами з 19 давали колонії при 15°C і 45°C, 3 штами позитивно оцінено в тесті на оксидазу; клінічні ізоляти *S. epidermidis* (від 5 до 20 %) проявляли цукролітичну активність щодо D-ксилози, L-арабінози, D-фукози, рафінози і саліцину, що також суттєво відрізняє їх від класичних (за Означником бактерій Берджі). *S. hominis* в третині випадків проявляв наявність каротиноїдного пігменту, майже всі штами росли за аеробних і анаеробних умов, проявили чутливість до кам'яної солі, 2 ізоляти позитивно реагували на цитохром С, 5-редукували нітрати, 14 — утворювали молочну кислоту з L(+) - ізомером, *S. saprophyticus* проявляв загалом значно меншу гетерогенність, одержані нами дані в основному співпадали з класичним описанням (за виключенням прояву у 20 % ізолятів редуруючих властивостей). Клінічні ізоляти *S. gallinarum* відрізнялись від класичного варіанту здатністю росту при 15 °C і 45 °C, солечутливістю; половина штамів в якості джерела азоту використовувала $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$.

Детально охарактеризовано види *S. capitis* та *S. cohnii* уреалітичних підвидів. *S. capitis* культивувався достатньо добре за аеробних і штучно сконструйованих умов, проявив високу стійкість до кам'яної солі, в більшості випадків розвивався при 45° C, при 15 °C протягом трьох діб культивування жоден із ізолятів не проявився. Половина штамів *S. capitis* виявилася здатною редукувати нітрати та утворювати ацетон. *S. cohnii* відрізнявся від класичного проявом в третині випадків оксидазної активності, наявності каротиноїдного пігменту, здатністю редукувати нітрати. В подальшому ми маємо намір ще більш детально охарактеризувати уреалітичні стафілококи, вилучені з різних екологічних ніш.

Таким чином, досліджені стафілококи різних родів, вегетуючі в бронхо-легеневій системі хворих на пневмонію дітей, проявляють виражену гетерогенність за критеріями культуральних властивостей і біохімічної активності. Вказане слід враховувати клінічним бактеріологам при означенні та характеристиці збудників гнійно-запальних процесів у пацієнтів з захворюваннями дихальної системи.

Список літератури

1. Палій В.Г. Мікробіологічне обґрунтування застосування антисептиків четвертинного амонію в медицині: Автореф. дис. ...докт. мед. наук. -Харків, Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України, 2006.-48с.
2. Адарченко А.А., Красильников А.П., Собещук О.П. Сравнительное исследование активности антибиотиков в отношении *Staphylococcus aureus* //Антибиотики и химиотерапия. - 1991. - Т. 36, № 2. - С. 21-24.
3. Маянский А.Н. Микробиология для врачей (очерки патогенетической микробиологии). - Нижний Новгород: НГМА, 1999. - 395 с.

4. Kovacs K., Paterson D.L., Yu V.L. Antimicrobial Therapy for *Pseudomonas aeruginosa*: Therapeutic Issues; Resistance; Pneumonia; Endocarditis; and Infections of the GL Tract, Bone and Joint, and Urinary* Tract // Infect. Med. -1998. - Т. 15, № 2. - С.385 - 394.

5. Большакова Г.М. Роль умовно патогенних мікроорганізмів в розвитку запальних процесів слинних залоз: Дис. ...канд. мед. наук: 03.00.07;-Захищена 21.03.2007; Затв. 14.06.2007.- Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України. - Харків, 2007.-187 с.

УДК 615.015.2:579

ГЕТЕРОГЕННІСТЬ ЗА КРИТЕРІЯМИ КУЛЬТУРАЛЬНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ ТА БІОХІМІЧНОЇ АКТИВНОСТІ МІКРОБІВ РОДУ STAPHYLOCOCCUS, ВИДІЛЕНИХ ВІД ХВОРИХ НА ПНЕВМОНІЇ ДІТЕЙ В ПЕРІОД З 2003 ПО 2008 РР. Шатило Ю.В.

Наведено характеристику біологічних властивостей бактерій роду *Staphylococcus*, виділених від хворих на пневмонію дітей. Означено гетерогенність ізолятів стафілококу за критеріями культуральних якостей та біохімічної активності.

Ключові слова : *Staphylococcus*, культуральні властивості, біохімічна активність, пневмонія.

УДК 615.015.2:579

ГЕТЕРОГЕННОСТЬ ПО КРИТЕРИЯМ КУЛЬТУРАЛЬНЫХ СВОЙСТВ И БИОХИМИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ МИКРОБОВ РОДА STAPHYLOCOCCUS, ВЫДЕЛЕННЫХ ОТ ДЕТЕЙ, БОЛЬНЫХ ПНЕВМОНИЕЙ В ПЕРИОД С 2003 ПО 2008 ГГ. Шатило Ю.В.

Приведена характеристика биологических свойств бактерий рода *Staphylococcus*, выделенных от детей, больных пневмонией. Отмечена гетерогенность изолятов стафилококка по критериям культуральных свойств и биохимической активности.

Ключевые слова: *Staphylococcus*, культуральные свойства, биохимическая активность, пневмония.

UDC 615.015.2:579

HETEROGENEITY BY CRITERIA OF CULTURAL PROPERTIES AND BIOCHEMICAL ACTIVITY OF MICROBES OF GENUS STAPHYLOCOCCUS RECEIVED FROM SICK BY PNEUMONIA CHILDREN A DURING THE PERIOD WITH 2003 FOR 2008 Shatilo Y.V.

The characteristic of biological properties of bacteria of genus *Staphylococcus* picked out from sick by pneumonia children is resulted. Heterogeneity of isolates of a staphylococcus by criteria of cultural properties and biochemical activity is noted.

Key words: *Staphylococcus*, cultural properties, biochemical activity, pneumonia

1	2	3	4	5	6	7	8	9
D-ксилози	5	3	2	4	5	-	-	-
L-арабінози	7	2	2	3	7	-	3	-
D-фукози	4	4	-	2	4	2	5	-
Рафінози	8	3	3	3	5	-	5	-
Саліцина	6	1	4	-	-	2	-	3
Сахарози	33	15	7	5	2	3	4	5
Мальтози	30	13	11	4	6	1	7	7
D-манітола	29	2	6	-	4	5	3	4
D-маннози	34	5	4	-	3	6	-	4
A-лактози	31	2	12	2	5	4	-	3
D-рібози	33	2	14	2	4	5	4	2
Ріст з використанням (NH ₄) ₂ SO ₄	6	-	-	-	4	3	5	-
Редукція нітрату	30	14	13	5	8	4	4	

