

УДК: 616-006.6:576.851.252:616.992.28

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ СТАФІЛОКОКА, ДРІЖДЖОПОДІБНИХ ГРИБІВ РОДУ CANDIDA ВИДІЛЕНИХ З ОРГАНІЗМУ ОНКОЛОГІЧНИХ ПАЦІЄНТІВ

Фоміна Н. С., Фомін О. О.

Вінницький національний медичний університет
ім. М.І.Пирогова (м. Вінниця, вул. Пирогова, 56,
Україна, 21000)
Fomina.ns@mail.ru

Онкологічні пацієнти є групою ризику щодо розвитку інфекційних ускладнень. Слизова оболонка ротової порожнини є першою, котра реагує на проведення хіміотерапії розвитком бактеріальних та грибкових стоматитів. В процесі лікування інфекційних захворювань ротової порожнини у даної категорії пацієнтів лікарі керуються переважно емпіричним призначення антибактеріальних препаратів [1, 2]. Ослаблений організм хворого нерідко не в стані впоратись з інтенсивним навантаженням лікарськими засобами, в тому числі і протимікробними, що породжує розвиток непереносимості до лікарських засобів і погіршує перебіг основного захворювання [3].

Впровадження антибіотиків широкого спектру дії привело до різкого збільшення кількості внутрішньолікарняних інфекцій, викликані опортуністичними мікроорганізмами. Цефалоспоринові антибіотики III покоління протягом останніх років складають основу етіотропного лікування інфекційних ускладнень [5]. Однак, ефективність лікування даними протимікробними препаратами різко знизилась в зв'язку зі швидким розповсюдженням стійкості мікроорганізмів до них. Резистентність збудників гнійно-запальних ускладнень до антимікробних препаратів є фактором, який обмежує ефективність антимікробної терапії. Інфекції, викликані резистентними штамми, характеризуються довготривалим перебігом, подовжують госпіталізацію хворих в стаціонарах, погіршують прогноз для таких пацієнтів та збільшують витрати на лікування [6]. В умовах широкого розповсюдження полірезистентних штамів мікроорганізмів знизилась ефективність та доцільність призначення антибіотиків при місцевих вогнищах інфекції, що обумовлює необхідність внесення коректив в стратегію і тактику профілактики та лікування інфекційних ускладнень у пацієнтів.

Позитивним вважається застосування сучасних антисептичних лікарських засобів для санації вогнищ інфекції, які володіють високими антимікробними властивостями, та до яких клінічні штами мікроорганізмів зберігають високий рівень чутливості [7].

Враховуючи вищевикладене, актуальним є дослідження чутливості клінічних штамів мікроорганізмів до антибіотиків та антисептиків, дослідження формування резистентності мікроорганізмів до антисептичних препаратів для забезпечення контролю за ефективністю лікувальної та профілактичної дії останніх.

Мета. Вивчення та порівняння властивостей мікроорганізмів, що колонізують слизову оболонку ротової порожнини у пацієнтів з онкологічною патологією та у здорових осіб, встановлення чутливості виділених штамів до антисептичних лікарських препаратів декасану, септефрилу, горостену, мірамістину, вивчити формування стійкості виділених клінічних штамів мікроорганізмів до даних антисептиків.

Матеріали та методи

Було обстежено 85 пацієнтів з інфекційними ураженнями ротової порожнини, що виникли на тлі вторинного імунодефіциту. Здорові особи (n=30) склали контрольну групу. Вивчення мікробної контaminaції слизової оболонки ротової порожнини проводили шляхом посіву матеріалу із зіву на щільні поживні середовища. Стафілококи ідентифікували за допомогою СТАФІгеста-16 (PLIVA – Lachema a. s. Брно, Чеська республіка). Виділені штами грибів роду Candida ідентифікували за морфологічними, культуральними властивостями, оцінювали здатність утворення ростових трубок після культивування на середовищі з сироваткою, враховували властивості щодо ферментації цукрів. Чутливість виділених культур мікроорганізмів до антисептиків декасану, горостену, септефрилу, мірамістину проводили методом послідовних серійних розведень у рідкому поживному середовищі. Формування резистентності до досліджуваних антисептичних препаратів вивчали у клінічних штамів *S. aureus*, *C. albicans* на м'ясо-пептонному бульйоні, в рідкому середовищі Сабуро [8].

Результати та обговорення

Результати виділеної мікрофлори від обстежених пацієнтів представлені на табл. 1.

Таблиця 1. Характеристика видового складу мікроорганізмів, виділених від обстежених пацієнтів

| Мікроорганізми | Хворі лімфобластним лейкозом (n=85) | | Контрольна група (n=30) | | Показник достовірності, p |
|---------------------------|-------------------------------------|------|-------------------------|----|---------------------------|
| | абс | % | абс | % | |
| <i>S. aureus</i> | 26 | 43,3 | - | - | - |
| <i>S. epidermidis</i> | 21 | 35 | 9 | 30 | p>0,05 |
| <i>S. haemolyticus</i> | - | - | 3 | 10 | p>0,05 |
| <i>Streptococcus spp.</i> | 39 | 65 | 24 | 80 | p<0,05 |

| | | | | | |
|-------------------------|----|------|---|------|--------|
| <i>Pseudomonas spp.</i> | 3 | 5 | - | - | p>0,05 |
| <i>Klebsiella spp.</i> | 4 | 6,6 | - | - | p>0,05 |
| <i>E.coli</i> | 6 | 10 | - | - | p>0,05 |
| <i>E. faecalis</i> | 5 | 8,3 | 2 | 6,6 | p>0,05 |
| <i>Candida spp.</i> | 25 | 41,6 | 4 | 13,3 | p<0,05 |
| <i>Aspergillus spp.</i> | 1 | 1,6 | - | - | - |

Примітка: p – показник достовірності відмінностей між групою хворих лімфобластним лейкозом та контролем

Основу мікробного пейзажу ротової порожнини в контрольній групі людей склали стрептококи. Дані мікроорганізми зустрічали у 80 % випадків.

У хворих лімфобластним лейкозом дані мікроорганізми були виявлені у 65 % обстежених. Друге місце серед мікрофлори ротової порожнини в контрольній групі посідали стафілококи, які виділяли у 40 % обстежених. Біохімічні властивості стафілококів у 30 % випадків були ідентифіковані як епідермальні стафілококи; у 10 % випадків – гемолітичні стафілококи. В контрольній групі стафілококи виділяли вдвічі менше, ніж стрептококи. У хворих лімфобластним лейкозом кількість виділених стафілококів перевищувала кількість стрептококів в 1,2 рази і склала 78,3 %. Серед стафілококів переважали золотисті (p<0,05), що склало 43,3 % випадків. Збільшення кількості епідермальних стафілококів зареєстрували в 35 % випадків.

Однією з характерних ознак дисбіозу ротової порожнини є наявність дріжджоподібних грибів роду *Candida*. При обстеженні контрольної групи *S.albicans* були виділені у 13,3 % осіб. Обстеження пацієнтів дослідної групи показало достовірно вищий показник виділення грибів роду *Candida* який становив 41,6 % (p<0,05). Виділення такої кількості грибів свідчить про дисбіотичні зміни ротової порожнини, які виникали внаслідок зниження імунітету. Підтвердженням цього є виділення у пацієнтів з лімфобластним лейкозом у 1,6 % випадків грибів роду *Aspergillus* які були відсутні в контрольній групі.

При обстеженні контрольної групи грамнегативних мікроорганізмів не було виявлено. В дослідній групі грамнегативні бактерії виділяли у 21,6 % обстежених.

Аналізуючи отримані результати щодо чутливості стафілококів до антибактеріальних препаратів встановлено, що до жодної дослідної групи антибіотиків штами стафілококів не виявили 100 % чутливості. Високим був рівень чутливості стафілококів до препаратів фторхінолонового ряду. Так, ципрофлоксацин, пефлоксацин, левофлоксацин були ефективними щодо 73,3 % стафілококів, гатіфлоксацин - у відношенні 76,6 % штамів.

Щодо ампіциліну та амоксициліну клінічні штами стафілококу виявили чутливість у 56,7 % та 43,3 % відповідно. До оксациліну чутливість становила 63,3 %. Встановлено низьку чутливість стафілококу до захищеного антибіотика цефалоспоринового ряду цефеперазону. Так, даний препарат був ефективний менше, ніж у половини досліджуваних штамів (43,3 %). Антибіотик, що призначали пацієнтам з імунodefіцитами був цефтріаксон. До даного препарату виявили чутливість 50 % досліджуваних ізолятів. Кожний третій штама був резистентним до даного антибіотику.

Отримані дані щодо чутливості дріжджоподібних грибів роду *Candida* до протигрибкових препаратів можна стверджувати про наростаючу резистентність до протигрибкових препаратів. Так, до флуконазолу резистентність була встановлена у половини дослідних штамів (50 %). Чутливими досліджуваними штамами грибів *Candida* були до кетоконазолу, клотримазолу (70 % виділених штамів)

Визначення чутливості виділених штамів мікроорганізмів до досліджуваних антисептичних лікарських препаратів показали високу чутливість клінічних штамів стафілококів до горостену та декасану. Так, МБЦК горостену® до стафілококів була 2,9 – 5,8 мкг/мл, декасану - 4,45 - 9,8 мкг/мл. Нижчу чутливість стафілококи виявили до мірамістину МБЦК якого становила 7,38 – 15,6 мкг/мл, та септефрилу - 25,3±1,8 мкг/мл. Чутливість дріжджоподібних грибів роду *Candida* до антисептиків була наступною. МФЦК горостену склала 6,4±0,3 мкг/мл, декасану – 17,1±1,7 мкг/мл, септефрилу – 21±3,48 мкг/мл. Мірамістин виявив помірну ефективність на дані ізоляти, яка становила 20,1±1,8 мкг/мл.

Стафілококи мутують, що призводить до появи полірезистентних штамів. Доцільним є дослідження формування резистентних варіантів клінічних штамів мікроорганізмів (*S. aureus* 14, *S. aureus* 57; *C. albicans* 14, *C. albicans* 49) до декасану, мірамістину, горостену, септефрилу.

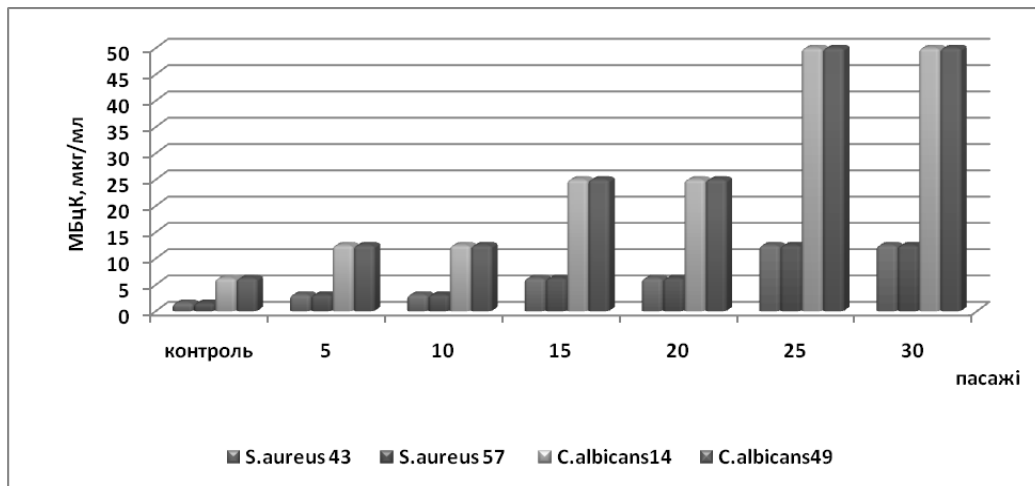


Рис. 1. Динаміка формування стійкості до декасану у штамів *C.albicans*, *S.aureus*.

Так, у клінічних штамів стафілокока після 10 пасажу чутливість погіршилась вдвічі, після 15-20 пасажів у 4 рази, після 25-30 пасажів - у 8 разів і становила 12,5 мкг/мл.

Формування стійкості до декасану у грибів роду *Candida* мало наступні показники. Після 10 пасажу резистентність штамів зросла в 2 рази

(12,5 мкг/мл), після 20 пасажу - у 4 рази (25 мкг/мл), після 30 пасажу - у 8 разів. Фунгіцидна концентрація після 30 пасажу становила 50 мкг/мл. Необхідно зазначити, що концентрація діючого лікарського препарату перевищувала концентрацію, до якої виникла стійкість у штамів в процесі пасування.

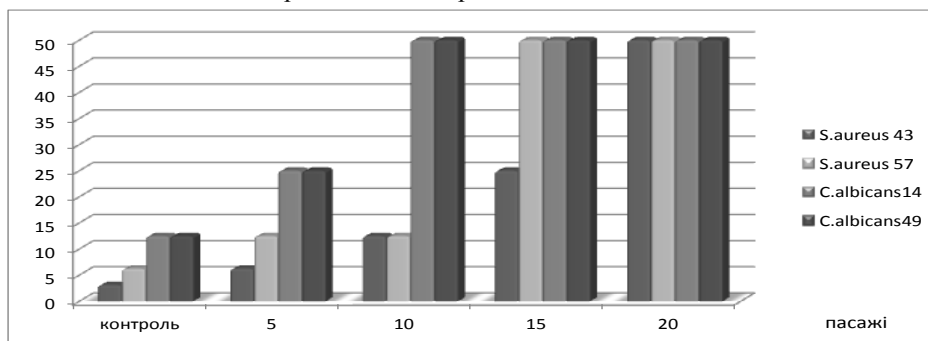


Рис. 2. Динаміка формування стійкості до мірамістину у штамів стафілокока та грибів *C.albicans*.

При високій чутливості клінічних штамів стафілокока в контролі, яка становила 3,12 мкг/мл та 6,25 мкг/мл відповідно для кожного з штамів, через 15 пасажів стійкість мікроорганізмів до мірамістину зросла в 8 разів, після 20 пасажу - в 16 разів. Після 25 пасажу мікроорганізми росли в присутності 100 мкг/мл. Гриби *C.albicans* в контролі виявили помірну чутливість до мірамістину. Так, МБЦК для даних штамів становила 12,5 мкг/мл. Після 5 пасажу фунгіцидна концентрація препарату зросла вдвічі. При пасуванні дріжджоподібних грибів після 10 - 20 пасажів стійкість підвищилась в 4 рази, після 25 пасажу стійкість штамів грибів *C. albicans 14*, *C. albicans 49* зросла в 32 рази, які росли в рідкому поживному середовищі з концентрацією мірамістину 100 мкг/мл. Отже, резистентність клінічних штамів до мірамістину можна характеризувати як високу.

Формування резистентності клінічних штамів стафілококів та дріжджоподібних грибів до горостену та септефрилу відбувалось повільно. Так, у 2 штамів стафілокока після 5 пасажу в присутності горостену

бактерицидна концентрація в порівнянні з контролем не змінилась і становила 0,45 мкг/мл і 0,9 мкг/мл. Після 10 - 15 пасажу стійкість стафілококів зросла вдвічі, після 20 пасажу стійкість мікроорганізмів зросла в 4 рази; після 25 - 30 пасажів - в 8 разів. До антисептичного препарату септефрил резистентність стафілококів почала формуватись після 10 пасажу. МБЦК погіршилась вдвічі в порівнянні з контролем. Після 15-20 пасажу стійкість стафілококів до септефрилу зросла в 4 рази, після 25-30 пасажів в 8 разів. Таким чином, після 30 пасажів культури стафілококів залишились високочутливими до препаратів горостен, септефрил.

Динаміка формування стійкості *C. albicans* в присутності горостену була повільною. Після 30 пасажів фунгіцидна концентрація зросла лише у 8 разів в порівнянні з контролем і становила 31,2 мкг/мл. Фунгіцидна концентрація септефрилу до *C.albicans* зросла після 20 пасажу у 8 разів, після 30 пасажу в 16 разів.

Висновки

1. У онкологічних хворих мікрофлора слизової оболонки порожнини рота представлена *S. aureus* (43,3%), *S. epidermidis* (35%), дріжджоподібними грибами роду *Candida* (41,6%).
2. Виділені штами стафілококів проявляють високу резистентність до антибіотиків оксацилін, цефтріаксон, цефалерзон. Дріжджоподібні гриби роду *Candida* виявляють стійкість до протигрибкового препарату флуконазол. Антисептичні лікарські препарати декасан, мірамистин, горостен, септефрил показують високу антимікробну дію щодо клінічних штамів мікроорганізмів.
3. Стійкість штамів стафілококів до мірамістину зросла у 32 рази після 25 пасажів. Стійкість штамів стафілококу до лікарських антисептичних препаратів декасан, горостен, септефрил відбувається повільно. Так бактерицидні концентрації останніх зросли у 8 разів щодо контролю.
4. Дріжджоподібні гриби роду *Candida* швидко сформували резистентність до антисептика мірамістину – через 30 пасажів концентрація препарату зросла в 32 рази, в порівнянні з контролем. Фунгіцидна концентрація препарату септефрил зросла у 16 разів, антисептиків декасан та горостен – у 8 разів.

References

1. Matlan VL. Prevention and treatment of infectious complications in patients with hematologic [Text] / VL Matlan // Ukrainian Journal of Hematology and Transfusion. - 2006. - № 1 (6). - Pp. 5 - 12.
2. Davydov MI. Nosocomial infections in cancer patients [Text] / M. Davydov, NV Dmitrieva // Supportive care in oncology. - 2006. - № 1. - С 2 - 7.
3. Paly GK Antiseptic drug dekasane: Strategy and Tactics application for the prevention and treatment of inflammatory diseases [Text] / GK Paly // Ukrainian Journal of chemotherapy. - 2004. - № 1 - 2. - S. 83 - 85.
4. Richards J. M. Nosocomial Infections in Pediatric Intensive Care Units in the United States and the National Nosocomial Infections Surveillance System [Текст] / J. M. Richards, J. R. Edwards, D. H. Culver, P. R. Gaynes // Pediatrics. - 1999. - Vol. 103. - P. 39
5. Outpatient Oral Antibiotics for Febrile Neutropenic Cancer Patients Using a Score Predictive for Complications [Текст] / J. Klastersky, M. Paesmans, A. Georgala [et al.] // Journal of clinical oncology. - 2006. - Vol. 24. - № 25. - P. 4129 - 4134.
6. Justification antiseptic drug dekasane effectiveness in treating patients with purulent-inflammatory diseases [Text] / GK Paly, V. Kovalchuk, NM Derkach [et al.] // Ukrainian Journal of chemotherapy. - 2010. - № 1-2 (23). - S. 78 - 82.
7. Antimicrobial drug dekasane: Strategy and Tactics application for the prevention and treatment of inflammatory diseases [Text] / VG Pale, V. Moroz, MD Zheliba [et al.] // Vinnitsa National Medical Journal. Univ. - 2004. - Т. 8, № 2. - S. 449 - 451.

8. Studying the specific activity of antimicrobial drugs [text]: [method. recom.] / L. Volyanskiy, VP Shirobokov, SV Biryukova [et al.]. - K., 2004. - 38 p.

УДК: 616-006.6:576.851.252:616.992.28

БІОЛОГІЧНІ ВЛАСТИВОСТІ СТАФІЛОКОКА, ДРІЖДЖОПОДІБНИХ ГРИБІВ РОДУ CANDIDA ВИДІЛЕНИХ З ОРГАНІЗМУ ОНКОЛОГІЧНИХ ПАЦІЄНТІВ

Фоміна Н. С., Фомін О. О.

В статті приведені результати спектру мікроорганізмів, що є збудниками інфекційних ускладнень ротової порожнини у пацієнтів з онкологічною патологією. Показана чутливість виділених клінічних штамів мікроорганізмів до антибіотиків, протигрибковим препаратам, антисептичним лікарським препаратам декасану, мірамістину, горостену, септефрилу. Приведені результати формування стійкості клінічних штамів стафілококів та дріжджоподібних грибів роду *Candida* до антисептиків декасану, мірамістину, септефрилу, горостену.

УДК: 616-006.6:576.851.252:616.992.28

БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА СТАФИЛОКОКА И ДРОЖЖЕПОДОБНЫХ ГРИБОВ РОДА CANDIDA, ВЫДЕЛЕННЫХ ИЗ ОРГАНИЗМА ОНКОЛОГИЧЕСКИХ ПАЦИЕНТОВ

Фомина Н. С., Фомин О. О.

В статье приведены результаты спектра микроорганизмов, которые являются возбудителями инфекционных осложнений ротовой полости у пациентов с онкологической патологией. Показана чувствительность выделенных клинических штаммов микроорганизмов к антибиотикам, противогрибковым препаратам, антисептическим лекарственным препаратам декасан, мирамистин, горостен, септефрил. Приведены результаты формирования стойкости клинических штаммов стафилококков и дрожжеподобных грибов рода *Candida* к антисептикам декасану, мирамистину, септефрилу, горостену.

UDK: 616-006.6:576.851.252:616.992.28

BIOLOGICAL PROPERTIES OF STAPHYLOCOCCUS AND YEAST-LIKE FUNGI OF THE GENUS CANDIDA, ISOLATED FROM ONCOLOGICAL PATIENTS

Fomina N. S., Fomin O. O.

The results of the spectrum of microorganisms, which are the causative agents of infectious complications of the oral cavity in patients with oncological pathology are presented in the article. The sensitivity of isolated clinical strains of microorganisms to antibiotics, antifungal, antiseptic dekasane, miramistin, gorosten, septefril is shown. The results of antiseptic resistance formation to staphylococci and *Candida* to dekasane, miramistin, septefril, gorosten are described.