

МИНИСТЕРСТВО ЗДРАВООХРАНЕНИЯ
РЕСПУБЛИКИ УЗБЕКИСТАН

НАУЧНО ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ ИНСТИТУТ ЭПИДЕМИОЛОГИИ,
МИКРОБИОЛОГИИ И ИНФЕКЦИОННЫХ ЗАБОЛЕВАНИЙ

На правах рукописи

УДК: 616.981.25-615.281:615.33.

САПАЕВА ФИРУЗА РУЗУМБАЕВНА

**РАСПРОСТРАНЕННОСТЬ ОКСАЦИЛЛИНРЕЗИСТЕНТНЫХ
СТАФИЛОКОККОВ В ГОСПИТАЛЬНОЙ СРЕДЕ И ВОЗДЕЙСТВИЕ
НА НИХ АНТИБИОТИКОВ, АНТИСЕПТИКОВ И
ДЕЗИНФЕКТАНТОВ**

03.00.07 - Микробиология

АФТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

Ташкент – 2010

Работа выполнена в Ургенчском филиале Ташкентской медицинской академии и Ташкентском институте усовершенствования врачей

Научный руководитель: доктор медицинских наук, профессор
ИСХАКОВА Халида Ильхамовна

Официальные оппоненты: доктор медицинских наук, профессор
ЭШБОЕВ Эгамберди Хусанович

доктор биологических наук, профессор
ШМЕЛЕВА Елена Александровна

Ведущая организация: **Самаркандский государственный
медицинский институт**

Защита состоится «___» _____ 2010 года в _____ часов на заседании Специализированного совета Д 087.11.01 при научно-исследовательском институте Эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний Министерства здравоохранения Республики Узбекистан (100133, г.Ташкент. ул. Решетова, 2).

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Научно-исследовательского института Эпидемиологии, микробиологии и инфекционных заболеваний Министерства здравоохранения Республики Узбекистан.

Автореферат разослан «_____» _____ 2010 г.

Ученый секретарь
Специализированного совета,
доктор медицинских наук

АХМЕДОВА
Халида Юлдашевна

ВВЕДЕНИЕ

Актуальность работы. Госпитальные инфекции это наиболее частый тип осложнений, развивающихся у госпитализированных пациентов (Козлов Р.С., 2000; Яковлев С.В., 2005; Семина Н.А. и соавт., 2006; Акимкин В.Г. и соавт., 2008; Garcia M. et al., 2006; Zhanel G et al., 2008).

На протяжении многих лет одним из основных возбудителей внутрибольничных инфекций является *S.aureus*, о чем свидетельствуют многочисленные публикации в разных странах мира (Сидоренко С.В., 2003; Самсон А.А. и соавт., 2010; Hsu L. et al., 2005; Trijp M. et al., 2007; Balkhy H. et al., 2007; Huang Y. et al., 2008).

Кроме *S.aureus*, все более значительную роль в госпитальной патологии начинают приобретать коагулазоотрицательные виды (КОС): *S.epidermidis*, *S.lugdunensis* и другие (Исхакова Х.И. и соавт., 2002; Белобородов В.Б., 2003; Tew T. et al., 2008; Tan T. et al., 2008). Не менее важное значение в развитии этих инфекций придается условно-патогенным энтеробактериям (УПЭ), синегнойной палочке и другим представителям неферментирующих грамотрицательных бактерий (Маматкулов И.Х. и соавт., 1997; Шевченко О.К. и соавт., 2007; Баженов Л.Г. и соавт., 2009; Ортенберг Э.А. с соавт., 2009; Хасанова Г.Ф. с соавт., 2010; Aboufaycal H et al., 2007; Galas M. et al., 2008; Giske C et al., 2008; Millar M et al., 2008).

Степень изученности проблемы. Устойчивость госпитальных стафилококков распространена чрезвычайно широко и чаще всего обусловлена появлением в хромосоме гена *mec A*, а маркером его наличия (или резистентности ко всем беталактамным антибиотикам) является устойчивость к метициллину/оксациллину (Белобородов В.Б. и соавт., 2003; Страчунский Л.С. и соавт., 2007; Tiemersma E. et al., 2004) - такие штаммы называют MRSA (*S.aureus*) и MRSE (КОС). В госпитальных условиях MRSA-инфекции чаще всего поражают пациентов реанимационных, ожоговых, сердечно-сосудистых отделений, отделений хирургии легких (Шуб Г.М. и соавт., 2008; Сабирова Е.В. и соавт., 2009; Матвеева А.С. и соавт., 2010; Fluit A.C. et al, 2001; Wannet W et al., 2004; Shorr A. et al., 2006.) и количество этих инфекций возрастает с каждым годом (Cooper B. et al., 2004; Klevens R. et al., 2006; Ossowski K. Et all., 2006; Grum N. et al., 2006; Johnson J. et al., 2007).

Опасность MRSA и MRSE штаммов в том, что, помимо резистентности к пенициллинам, цефалоспорином и карбапенемам, эти возбудители часто имеют ассоциированную устойчивость к аминогликозидам, фторхинолонам и антибиотикам других групп (Руднов Б.А., 2005; Tiemersma E. et al., 2004; Tenover F. et al., 2008; Kosowska-Shick K. et al., 2008) и лечение инфекций, обусловленных подобными штаммами, представляет серьезные проблемы (Сидоренко С.В., 2004, Никулин А.А. и соавт., 2009; Jacoby G et al., 2005; Soriano A. et al., 2008). Устойчивые к оксациллину *S.aureus* намного чаще, чем чувствительные, выступают причиной летальных исходов при

нозокомиальных инфекциях (Ibering, 1998; Bader M. et al., 2006; Mazen S. et al., 2006; Clein E. et al., 2007).

В распространении инфекций в госпитальной среде важными факторами являются объекты окружающей среды и руки медицинского персонала (Акимкин В.Г. и соавт., 2008; Haag R. et al., 2006; Warren D. et al., 2006, Ulger F. et al., 2008). Большое значение придаётся также носоглоточному носительству *S.aureus* среди медперсонала (Warren D. et al., 2006; Al-Rawahi G et al., 2008; Robiscek A. et al., 2008; Ibrahim S. et al., 2009; Bode N. et al., 2010).

Ряд работ отечественных ученых посвящен проблеме внутрибольничных и внебольничных MRSA и MRSE (Баженов Л.Г., 2005; Нуралиев Н.А. и соавт, 2008), являющихся изолятами от больных с госпитальной инфекцией. В то же время, эпидемиологическая значимость микробной обсеменённости инструментария, оборудования, других объектов окружающей среды ЛПУ, рук персонала и назального носительства *S.aureus*, диктует необходимость их глубокого изучения не только в клиническом материале от госпитализированных больных, но и в окружающей среде ЛПУ (операционные, перевязочные, палаты и др.) и в носоглотке медицинского персонала.

Связь диссертационной работы с тематическими планами НИР. Тема диссертационной работы входит в план научно-исследовательских работ Ургенчского филиала Ташкентской медицинской академии.

Цель исследования: Установить частоту распространения *S.aureus* и его оксациллинрезистентных вариантов (MRSA) в окружающей среде и у персонала клиник различного профиля, а также определить влияние на них антибиотиков, антисептиков и дезинфектантов.

Задачи исследования:

1. Провести ретроспективный анализ результатов 5-летних санитарно-бактериологических исследований в ряде ЛПУ г. Ургенча

2. Среди выделенных стафилококков определить удельный вес MRSA, выявляемых в объектах окружающей среды ЛПУ (в смывах из различных объектов, и в воздухе больничных помещений).

3. Установить уровень носительства *S.aureus* и его оксациллинрезистентных вариантов во внутрибольничной среде - в носоглотке медицинского персонала ЛПУ и у здоровых лиц вне госпитальной среды.

4. Охарактеризовать по физиолого-биохимическим свойствам стафилококки, определяемые у персонала клиник и сопоставить по этим свойствам MRSA и MSSA.

5. Определить воздействие ряда современных антибиотиков, антисептиков и дезинфектантов на MRSA и MSSA, выявляемых у носоглоточных носителей среди персонала ЛПУ. Адаптировать к практике методику определения наиболее опасных госпитальных штаммов стафилококков по оксациллин - и ванкомицинрезистентности.

Объект и предмет исследования. Объектом служили ЛПУ, расположенные в г. Ургенче Хорезмской области. Проведен ретроспективный анализ санитарно-бактериологических исследований объектов окружающей среды, носоглоточного носительства *S.aureus* медицинским персоналом и здоровыми лицами вне больничной среды, обсемененности воздушной среды стационаров, эффективности стерилизации. Изучали биологические свойства 159 госпитальных штаммов *S.aureus*.

Методы исследования. В процессе выполнения научной работы были использованы бактериологические, бактериоскопические, эпидемиологические, статистические методы исследования.

Основные положения, выносимые на защиту:

1. Источником наиболее опасных в эпидемиологическом плане оксациллинрезистентных стафилококков (MRSA) в госпитальных условиях являются носоглоточные носители среди медицинского персонала. Во внебольничных условиях у здоровых лиц носоглоточное носительство *S.aureus* и его оксациллинрезистентных вариантов встречается редко.

2. Госпитальные носительские штаммы MRSA в отличие от MSSA обладают выраженной устойчивостью к антибиотикам разных групп, чаще продуцируют ферменты патогенности и атипичны по культурально-биохимическим свойствам.

3. Новые отечественные дезинфектанты АБК- ЭКСТРА и ЭКСТРА ДЕЗ обладают выраженным бактерицидным эффектом на госпитальные штаммы MRSA и MSSA при минимальной концентрации и экспозиции, в отличие от хлорамина, действующего только при высоких концентрациях. 0,5% гипохлорид натрия эффективен против MRSA и MSSA.

Научная новизна. Впервые в регионе определено, что *S.aureus*, относящиеся к MRSA не имеют распространения в объектах окружающей среды и в воздухе ЛПУ различного профиля.

Установлены уровни носоглоточного носительства MRSA медицинским персоналом ЛПУ, достоверно превышающими уровни носоглоточного носительства лиц контрольной группы (вне госпитальной среды).

Выявлено, что носоглоточные изоляты *S.aureus*, относящиеся к MRSA, в отличие от MSSA, обладают значительно большей устойчивостью к антибиотикам разных групп, чаще продуцируют факторы патогенности и являются атипичными по многим фенотипическим свойствам.

Научная и практическая значимость результатов исследования. Для рутинной практики разработан скрининг метод для определения резистентности госпитальных штаммов *S.aureus* к антибиотикам, который позволяет: во-первых - простым и быстрым (6-18 часов) методом выявлять наиболее важные механизмы устойчивости стафилококка к бета-лактамам антибиотикам; во вторых – определить самые эффективные антимикробные препараты для выявленных MRSA.

Результаты о наиболее важном источнике MRSA в госпитальной среде (носоглоточные носители среди персонала клиник) и устойчивости MRSA к антисептикам и дезинфектантам могут оказать существенную помощь при эпидемиологическом надзоре за внутрибольничными инфекциями в ЛПУ и лечь в основу изменений и дополнений к нормативной документации по санитарно-микробиологическому контролю стационаров хирургического профиля.

Выявленные особенности культуральных, биохимических свойств и резистентности к антибиотикам имеют практическое значение для полноценной бактериологической диагностики MRSA.

Реализация результатов. Разработаны методические указания «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам диско-диффузионным методом» №012-3/ 0093, утвержденные МЗ РУз в 2007 году. Методические указания внедрены в практику работы бактериологических лабораторий ЦГСЭН МЗ РУз, а также в учебный процесс Ургенчского филиала Ташкентской медицинской академии.

Апробация работы. Основные положения диссертации доложены и обсуждены на конференции молодых ученых ТаШИУВ (Ташкент, 2008), на IV съезде микробиологов Узбекистана (Ташкент, 2008), на межкафедральной научной конференции кафедры микробиологии и эпидемиологии Ургенчского филиала Ташкентской медицинской академии (Ургенч, 2008, 2009, 2010), заседании научного семинара при специализированном совете НИИЭМИЗ МЗ РУз (Ташкент, 2010).

Опубликованность результатов. По материалам диссертационной работы опубликовано 9 научных работ, в том числе 3 журнальные статьи, 1 методические указания.

Структура и объем диссертации. Диссертация изложена на 120 страницах компьютерного набора и состоит из 6 глав (обзор литературы, материалы и методы исследования, 4 глав результатов собственных исследований, заключения, выводов, практических рекомендаций и указателя использованной литературы, включающего в себя 170 источников, из которых 127 на иностранных языках.

Автор выражает искреннюю признательность за представление возможности выполнения данной работы и за оказанную всестороннюю помощь при работе над диссертацией д.м.н., профессору Нуралиеву Неккадаму Абдуллаевичу.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ ДИССЕРТАЦИИ

Материалы исследования. Работа выполнялась в течение 2002-2006 гг. в бактериологической лаборатории Хорезмской областной и Ургенчской городской ЦГСЭН, ряд специальных исследований проводился на кафедре микробиологии и эпидемиологии Ургенчского филиала ТМА и на кафедре микробиологии ТаШИУВ.

Ретроспективный анализ результатов санитарно-бактериологических исследований проводили в следующих ЛПУ г. Ургенча Хорезмской области: областной перинатальный центр (ПЦ), Областной многопрофильный медицинский центр (ОММЦ), Областной многопрофильный детский медицинский центр (ОМДМЦ), отделение патологии новорожденных областного перинатального центра (ОПН), городская инфекционная больница (ГИБ), аптеки города, пункты централизованной стерилизационной (ПЦС), другие ЛПУ (поликлиники, специализированные медицинские центры и другие). Были проанализированы: смывы с объектов окружающей среды - 35 634 анализа; обсемененность воздушной среды стационаров - 4 606; определение эффективности стерилизации - 2 295; определение носоглоточного носительства *S.aureus* медицинским персоналом ЛПУ - 17 496; определение носоглоточного носительства у контрольной группы - здоровые лица, находящиеся вне ЛПУ женщины (беременные) - 11 333 и здоровые мужчины – 64 анализа.

Специальные исследования на принадлежность стафилококков к MRSA-вариантам проводились нами в течение 2004-2006гг. и все выделенные штаммы *S.aureus* были изучены на оксациллинрезистентность - 33 штамма из 7592 смывов с объектов окружающей среды; 12 из 1380-ти проб воздуха ЛПУ; 321 из 9531 анализов носоглотки медперсонала и 102 штамма *S.aureus* из носоглотки здоровых лиц.

S.aureus, подтвержденные на принадлежность к MRSA (44 от медперсонала, 4 от здоровых лиц и 1 из внешней среды), были изучены по расширенному набору культуральных, биохимических признаков, факторам патогенности и резистентности к большому кругу антибиотиков. Эти же свойства были изучены у 110-ти штаммов (выборка из носительских штаммов) *S.aureus*, чувствительных к оксациллину – MSSA. Кроме того, с помощью диско-диффузионного и скринингового методов была определена оксациллинрезистентность 576 штаммов КОС (*S.epidermidis*, *S.haemolyticus* и другие), выделенных из носоглотки медицинского персонала в 2004-2006гг.

На 30-ти штаммах MRSA и MSSA была проверена эффективность дезинфекционных средств отечественного производства ООО AGRO BIO KIMYO (Ташкент, 2008) - АБК-ЭКСТРА и ЭКСТРА ДЕЗ в сравнении с эффективностью различных концентраций (0,5%-5%) хлорамина. В опытах с искусственным заражением MRSA (10 штаммов) и MSSA (10 штаммов) рук волонтеров была изучена эффективность гигиенической обработки рук медперсонала 0,5% гипохлоридом натрия (нейтральный анолит) в сопоставлении с 0,1% хлоргексидином и 70% этанолом. АБК-ЭКСТРА, ЭКСТРА ДЕЗ и нейтральный анолит были любезно представлены нам сотрудниками НИЭМИЗ МЗ РУз.

Методы исследования. Санитарно-бактериологические исследования проводились в соответствии с нормативными документами МЗ РУз и включали в себя: определение общего содержания микробов – общее микробное число (ОМЧ) и *S. aureus* в 1 м³ воздуха; контроль стерильности

хирургического инструментария, перевязочного и шовного материала, белья и других; контроль эффективности обработки рук хирургов, операционного поля; определение микробной обсемененности объектов внешней среды ЛПУ и рук персонала методом смывов. При интерпретации результатов смывов к «нестандартным» пробам относятся образцы, из которых получен рост: условно-патогенных энтеробактерий (УПЭ), *S.aureus*, *P.aeruginosa*. При интерпретации результатов исследований воздуха к нестандартным относятся пробы, в которых превышаются показатели, предусмотренные нормативными документами по: ОМЧ, по количеству выросших *S.aureus*. При выявлении носоглоточного носительства патогенного стафилококка к носителям относили лиц, у которых рост *S.aureus* составлял 10^3 КОЕ/тампон и выше.

Выделенные культуры *S.aureus*, бактерий семейства Enterobacteriaceae и НГОБ, подозрительных на *P.aeruginosa* идентифицировали по морфологическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим признакам (Берги, 1997; Меджидов М.М. и соавт., 1998; Покровский В.Н. и соавт., 1999; Bergeys, 1984; 1986; 2002-2004; Manual of Clinical Microbiology, 2000).

Для определения антибиотикорезистентности использовали диско-диффузионный метод с учетом Международных рекомендаций Института клинических и лабораторных стандартов (Clinical and Laboratory Standards Institution - CLSI, 2007 и МУК 4.2., 1890 2004). Во всех случаях в качестве питательной среды применяли среду Мюллер-Хинтона (HIMEDIA, Индия); в работу брали коммерческие диски с антибиотиками (HIMEDIA, Индия и Россия). Для стандартизации суспензии исследуемого микроорганизма ежемесячно готовили стандарт мутности 0,5 по Мак-Фарланду с концентрацией $1,5 \times 10^8$ КОЕ/мл. Каждая новая партия питательной среды контролировалась с помощью тест-культур: *S.aureus* ATCC 29923, *E.coli* ATCC 25922, *P.aeruginosa* ATCC 27853.

Скрининг на агаре для выявления MRSA. Скринирование стафилококков на принадлежность к MRSA или к MRSE проводили на агаре Мюллер-Хинтона с добавлением 4% NaCl и раствора оксациллина 6 мкг/мл. Испытуемую культуру (предварительно отстандартизованную до $1,5 \times 10^6$ КОЕ/мл) наносили тампоном на поверхность агара. После суточной инкубации при 35°C 24 часа при появлении видимого роста более 1 колонии штамм считается устойчивым к оксацилину, при отсутствии роста чувствительным. Контроль роста – испытуемую культуру наносили на агар Мюллер-Хинтона с 4% NaCl без оксациллина.

Определение антимикробного эффекта антисептиков и дезинфектантов. Эффективность антисептиков и дезинфектантов определяли методом Вашкова В.И. (1977) с использованием батистовых тест-объектов, пропитанных 2-х млрд взвесью исследуемых MRSA и MSSA штаммов. В качестве контроля применяли тест-объекты с эталонными штаммами *S.aureus* ATCC 29923. Учет микробного роста производился ежедневно, в течение 7-ми суток. Отсутствие роста в течение всего периода

наблюдения расценивалось как бактерицидное действие; появление микробного роста в течение 3-6-ти дней инкубации – как бактериостатическое.

Статистическая обработка материала. При сопоставлении двух альтернативных показателей достоверность различия определяли с помощью критерия χ^2 (Урбах, 1964). Значимость различий между сравниваемыми группами определяется по критическому значению найденного χ^2 и числу степеней свободы. При $\chi^2=3,84$ и меньше разница недостоверна, при $\chi^2=3,84-6,63$ разница значима с достоверностью до 95% ($p<0,05$), при $\chi^2>6,63$ и более разница значима с достоверностью до 99% ($p<0,01$).

Результаты собственных исследований и их обсуждение

Ретроспективный анализ санитарно-бактериологических исследований внешней среды ЛПУ и носоглоточного носительства медперсоналом *S.aureus*

Ретроспективный анализ санитарно-бактериологических исследований внешней среды различных ЛПУ за 5 лет показал, что в смывах с объектов внешней среды нестандартные пробы по УПЭ были выявлены в 4,6% (из 23397 анализов – 1088). Наибольшее неблагополучие по этому показателю обнаружилось в инфекционной больнице, где удельный вес УПЭ в разные годы составлял от 11,6% до 15,2; самые низкие показатели были в перинатальном центре – от 0,7% до 1,7%. Было также установлено, что среди УПЭ в окружающей среде клиник доминировали всего три рода – цитробактеры (47%), клебсиеллы (25%) и энтеробактеры (19%), которые составили 91% от всех УПЭ. Подозрительные на *P. aeruginosa* неферментирующие грамотрицательные бактерии обнаруживались редко (из общего количества анализов – в 30 случаях), но при дальнейшем изучении их принадлежность к синегнойной палочке не подтвердилась.

Высеваемость *S.aureus* из окружающей среды ЛПУ была достоверно ($p<0,01$) ниже, чем УПЭ – по пятилетним наблюдениям из 12237 анализов патогенный стафилококк был обнаружен в 64-х образцах (0,52%) - от 0,01% в перинатальном центре до 3,5% в инфекционной клинике. При анализе этих данных в разные годы можно отметить некоторую тенденцию к возрастанию обнаружения *S.aureus* в смывах – так, в течение 2002-2003 г. этот показатель был равен 0,3% - 0,3% - 0,12%, в дальнейшем – 0,5% - 0,7%. Редкостью был и микробный рост при исследовании материалов на стерильность – из выполненных анализов нестерильные пробы составили 1,1%.

Анализ показателей воздушной среды стационаров показал, что пробы воздуха на общую микробную обсемененность не соответствовали нормативам в 7,6%, варьируя в различные годы наблюдения от 3,0% до 13,5%. *S.aureus* в воздухе высеивался в 0,6% - 2,1% исследованных проб, при этом в двух основных подразделениях - ПЦ и хирургия областной

больницы, - выявлена достоверная разница с более частым обнаружением стафилококков в воздухе хирургии.

Результаты исследования носоглоточного носительства S.aureus

Всего за 2002-2006г на носоглоточное носительство S.aureus было проведено 17496 исследований у персонала ЛПУ, положительный результат обнаружен в 649 (3,7%) случаях с колебаниями в разных ЛПУ от 1,8% до 5,1%. Наиболее высокий процент носоглоточных носителей S.aureus был выявлен у сотрудников «других» ЛПУ – 5,1%, в перинатальном центре - 3,7% и в ОМДМЦ – 3,5%. В динамике наблюдения существенных различий в уровне выявляемости носителей золотистого стафилококка в большинстве обследованных подразделений не было.

Для сравнения, в качестве контроля был проведен ретроспективный анализ обследования носоглотки на S.aureus здоровых женщин (беременные, впервые обращающиеся в женскую консультацию) и исследование носоглотки 64-х здоровых лиц мужского пола в возрасте 18-50-ти лет. У мужчин обследование проводилось в течение 2006 г. и положительный результат был получен у одного из них (1,5%). Результаты определения назального носительства у здоровых беременных женщин в сопоставлении с аналогичными результатами у медперсонала приведены в таблице 1.

Как иллюстрирует таблица 1. имеются существенные различия между двумя этими группами, выражающиеся в более низких (в 2,3-1,8 раз) показателях носительства S.aureus у здоровых женщин в сравнении с медперсоналом. Практически во все годы наблюдения (кроме 2005 г.) эта разница была достоверна в 99%-95% ($p < 0,01-0,05$).

Таблица 1

Сравнительные параметры по носоглоточному носительству S.aureus медицинским персоналом и беременными женщинами

Год исследования	Медицинский персонал		Здоровые беременные женщины		Достоверность различий*
	Обследовано	Выделены S.aureus, %	Обследовано	Выделены S.aureus, %	
2002	4070	4,8	3251	1,6	$p < 0,01$
2003	3895	3,4	1753	1,7	$p < 0,05$
2004	3518	3,2	2884	1,4	$p < 0,01$
2005	2717	3,6	1500	2,0	$p > 0,05$
2006	3296	3,3	1945	1,6	$p < 0,01$
Всего	17496	3,7	11333	1,6	$p < 0,01$

* - достоверность различий между уровнями носительства S.aureus медицинским персоналом и здоровыми беременными женщинами

Таким образом, в госпитальной среде формирование носоглоточного носительства золотистого стафилококка происходит значительно чаще, чем во внегоспитальных условиях, что подтверждает необходимость постоянного слежения в ЛПУ за уровнем носительства с целью принятия

необходимых мер по предупреждению распространения стафилококковых инфекций.

**Оксациллинрезистентность стафилококков (*S.aureus* и КОС)
выделяемых из объектов окружающей среды ЛПУ, из носоглотки
персонала и лиц контрольной группы**

Одной из главных задач настоящего исследования было определить насколько часто *S.aureus*, выявляемые во внешней среде ЛПУ и у носителей, относятся к эпидемически опасным MRSA – штаммам. Поскольку в 2002-2003гг. не всегда в полной мере могли выполняться все условия по определению MRSA – в работу включили только результаты 2004-2006 гг. Кроме того, при анализе полученных результатов, были исключены данные по инфекционной клинике и по ПЦС из-за очень малого объема исследований. Культуры *S.aureus*, отнесенные к MRSA были устойчивы к оксациллину в диско-диффузионном методе (ДДМ - зоны задержки роста отсутствовали или были в пределах 13 мм) и в скрининговом методе на плотной среде.

За 2004-2006 гг было проведено 7592 анализа смывов с объектов окружающей среды, золотистые стафилококки обнаружались в 33-х пробах, из них только один штамм (3,0%) принадлежал к MRSA. В воздухе ЛПУ из 1380-ти проб стафилококк был выделен в 12 пробах, но ни один из этих штаммов не был устойчив к оксациллину.

Более высокие показатели выявляемости MRSA были среди изолятов из носоглотки медицинского персонала ЛПУ. В ОПН и в аптеках MRSA не обнаружены. Уровень выявления MRSA у носоглоточных носителей других отделений колебался весьма незначительно. Всего за три года при исследовании носоглотки медперсонала из 9531 анализа в 321-м были выделены *S.aureus*, из них 44 (13,7%) относились к MRSA-вариантам (табл. 2).

Далее, было важно выяснить каков уровень носоглоточного носительства *S.aureus* у лиц, находящихся вне больничной обстановки. Сравнение носительства *S.aureus* у медперсонала с группой здоровых беременных женщин за три года наблюдения показало, что среди последних удельный вес оксациллинрезистентных вариантов среди *S.aureus* во много раз ниже – в 2004 г. из 40 *S.aureus* к MRSA относилось 2 (5,0%), в 2005 г. – из 30 – 1 (3,3%), в 2006 г. из 32 – 1 (3,1%), в среднем за 3 года из 102 *S.aureus* – изолятов из носоглотки здоровых беременных женщин к MRSA было отнесено 4 штамма, т.е. - 3,9%. Следовательно, у здоровых лиц (беременные женщины), находящихся вне лечебных учреждений, отмечается не только более низкий уровень носительства золотистого стафилококка, но и значительно более редкая принадлежность этих штаммов к MRSA ($p < 0,01$). На рис. 1 наглядно продемонстрирована статистически значимая разница между двумя этими группами лиц ($p < 0,01$) и представленные выше результаты по удельному весу MRSA в смывах.

Таблица 2

Удельный вес MRSA среди S.aureus, выделенных при исследовании носоглотки медицинского персонала

Подразделение	2004		2005		2006		За 2004-2006	
	Кол-во анализов S.aureus	Из них MRSA	Кол-во анализов S.aureus	Из них MRSA	Кол-во анализов S.aureus	Из них MRSA	Кол-во анализов S.aureus	Из них MRSA
ПЦ	<u>531</u> 16	2 (12,5)	<u>450</u> 18	2 (11,1)	<u>500</u> 18	2 (11,1)	<u>1481</u> 52	6 (11,5)
Хирургические отделения ОММЦ	<u>1112</u> 26	4 (15,4)	<u>950</u> 22	3 (13,6)	<u>1050</u> 29	4 (13,8)	<u>3112</u> 77	11 (14,3)
ОМДМЦ	<u>491</u> 12	2 (16,6)	<u>340</u> 13	1 (7,8)	<u>520</u> 21	3 (14,3)	<u>1351</u> 46	6 (13,0)
ОПН	<u>52</u> -	-	<u>35</u> -	-	<u>67</u> 1	-	<u>154</u> 1	-
Другие ЛПУ	<u>1247</u> 57	9 (15,8)	<u>870</u> 44	6 (13,6)	<u>1100</u> 40	6 (15,0)	<u>3217</u> 141	21 (14,9)
Аптеки	<u>85</u> 1	-	<u>72</u> 2	-	<u>59</u> 1	-	<u>216</u> 4	-
По всем отделениям	<u>3518</u> 112	17 (15,2)	<u>2717</u> 99	12 (12,1)	<u>3996</u> 110	15 (13,6)	<u>9531</u> 321	44(13,7)

Примечание: в скобках – процент MRSA от выделенных S.aureus;
Знаменатель - штаммы S.aureus – абсолютные цифры

Следующей задачей было определить насколько распространены оксациллинрезистентные варианты среди других видов стафилококков. *S.epidermidis*, *S.haemolyticus* и другие КОС, выделенные от больных с нозокомиальными инфекциями, нередко резистентны к оксациллину и относятся к MRSE - не менее опасным, чем MRSA (Chu V. et al., 2008).

Вместе с тем, данные литературы о частоте обнаружения MRSE в смывах из объектов внешней среды ЛПУ и в носоглотке медицинского персонала немногочисленны и противоречивы (Волков И.И., 1999; Jamalliddin T. et al., 2008).

В связи с этим, нами проведены специальные исследования носоглотки медицинского персонала по выявлению КОС и удельному весу среди них MRSE. Исследования проводили в 3-х подразделениях: в перинатальном центре, хирургическом отделении ОММЦ и в ОМДМЦ; анализ на группу КОС выполнялся параллельно с анализом на носительство *S.aureus*.

По принятым в мире стандартам (CLSI, 2007 и МУК 4.2., 1890 2004) к MRSE относили штаммы, у которых зона задержки роста к оксациллину в ДДМ была менее 18 мм.

Поскольку многие представители КОС могут входить в состав нормальной микрофлоры носовых путей, их высеваемость была в несколько раз выше, чем *S.aureus*.

Так, всего за 2004-2006 г. в 3-х изученных отделениях из носоглотки медицинского персонала из 5844-х анализов было выделено 576 штаммов КОС (9,8%), среди них к MRSE-вариантам относилось только 16 штаммов – 2,6%.

Сопоставление удельного веса MRSA среди *S.aureus* и MRSE среди КОС показывает значительную и статистически достоверную разницу ($p < 0,01$) между этими показателями.

Редкость обнаружения MRSE среди КОС в носоглотке медперсонала свидетельствует об их низкой эпидемиологической значимости. По-видимому, это характерно для нашего региона, так как в других работах обнаружен достаточно высокий процент MRSE как в носоглотке персонала, так и в смывах с объектов внешней среды (Волков И.И., 1999) и даются рекомендации определять в указанных выше объектах, наряду MRSA, и оксациллинрезистентные КОС.

Полученные данные убедительно подтверждают, что к эпидемически опасным штаммам носоглотки медперсонала относятся резистентные к классу бета-лактамов антибиотики *S.aureus*, в то время как среди КОС подобные штаммы обнаруживаются редко.

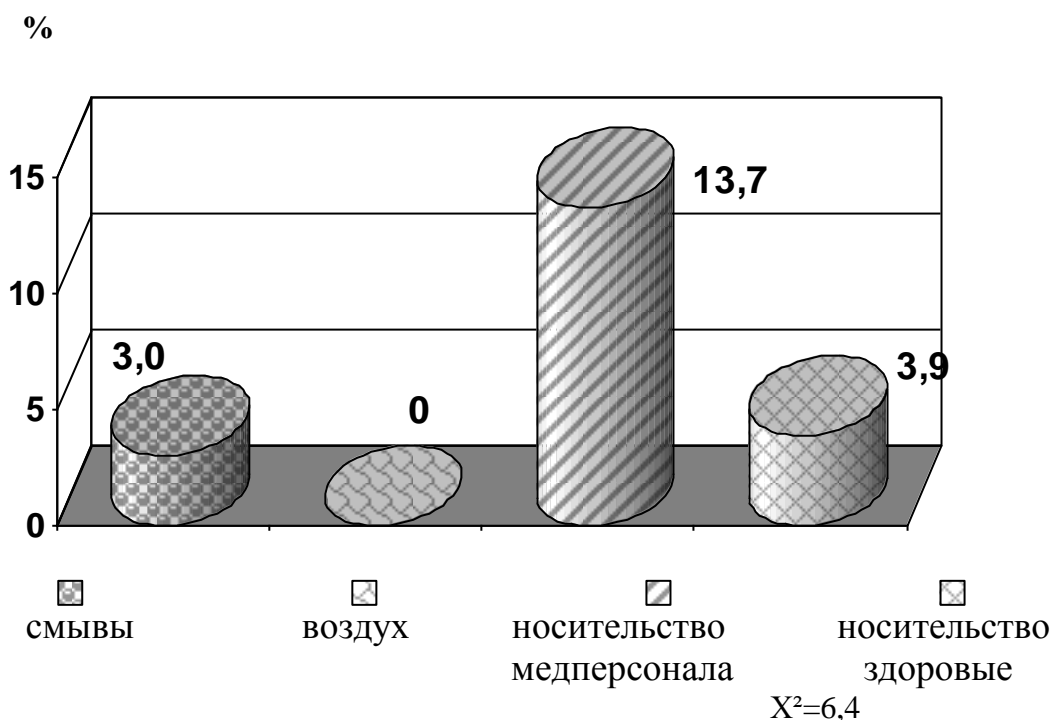


Рис.1. Удельный вес MRSA среди S.aureus, выделенных в окружающей среде ЛПУ и носителей за 2004-2006 гг.

Физиолого-биохимические свойства S.aureus, выявляемых из объектов окружающей среды и из носоглотки носителей среди медперсонала

Определение культуральных, биохимических свойств стафилококков и факторов патогенности проводилось по расширенному набору признаков, рекомендованных «Определителем бактерий» Берги (1997) у 49-ти MRSA штаммов (преобладали носоглоточные изоляты) и, выборочно, у 110 штаммов MSSA, выделенных от носителей и объектов окружающей среды.

Все 100,0% штаммов S.aureus росли на 10% NaCl агаре, на желточно-солевом агаре диаметр колоний был 5мм и более; каротиноидный золотистый пигмент образовывали в течение 2-х суток 78,6% S.aureus. По одному из ключевых признаков этого вида – ферментации маннита, - культуры были положительны в 84,3% случаев. Окисление различных сахаров (определяли на плотной питательной среде посевом бляшками) было выявлено у 84,3% - 99,4% штаммов; щелочная фосфатаза – у 96, 2%; чувствительность к новобиоцину у 98,7% и реакция Фогес-Проскауэра – у 82,4% S.aureus. Плазмокоагулирующей активностью и хлопьеобразующим фактором обладали все 159 изучаемых штаммов золотистого стафилококка; 86,8% гемолизировали человеческие эритроциты; 92,4% продуцировали гиалуронидазу (++++ и +++); 60,4% - фибринолизин и 54,1% - лецитиназу.

При сопоставлении культуральных и биохимических свойств 2-х групп S.aureus - MRSA и MSSA были получены следующие результаты. Диаметр колоний на ЖСА более 5мм в 1-е сутки роста был отмечен почти у всех MSSA (91,8%) и в 2 раза реже у MRSA – 40,8% ($p<0,001$).

Способность к росту при повышенной концентрации соли (10%) в первые сутки инкубации была более выражена у чувствительных к оксациллину штаммов, чем у MRSA – 71,8% в сравнении с 55,1%. Близкие к этим результаты получены и по продукции золотистого пигмента, на 1-е сутки роста пигмент продуцировали 38,2% MSSA и достоверно реже MRSA (20,4%; $p < 0,05$). Статистически достоверная разница о более частых атипичных реакциях MRSA была получена и в тестах окисления сахарозы и маннозы, образования щелочной фосфатазы ($p < 0,01$), положительной реакции Фогес-Проскауэра ($p < 0,01$).

При сопоставлении частоты встречаемости факторов патогенности у MRSA и MSSA штаммов выявилось, что MRSA в ряде тестов проявили более высокую активность. Так, в этой группе изолятов чаще, чем у MSSA продуцировалась лецитиназа (79,6% и 42,7%, $p < 0,01$), фибринолизин (75,5% и 53,6%, $p < 0,05$), гемолизин (100,0% и 80,9%, $p < 0,01$) и продукция гиалуронидазы на ++++ (81,6% и 51,8%, $p < 0,01$). В то же время, по срокам проявления плазмокоагулирующей активности MRSA уступали MSSA почти в два раза – в первые 6 часов этот фактор выявлялся лишь у 26,5% MRSA и у 50% MSSA ($p < 0,05$).

Известно (Берги, 1997), что среди всего многочисленного рода *Staphylococcus* гиалуронидаза положительна только у *S.aureus* и *S.hyicus* (этот вид встречается лишь у животных), а у *S.epidermidis* это свойство вариабельно. Учитывая дороговизну, дефицитность, а в ряде случаев – и полное отсутствие коммерческой кроличьей плазмы – можно рекомендовать для практики в качестве фактора патогенности определять у стафилококков тест на гиалуронидазу. Тест не требует значительных расходов, легко воспроизводится, реакция учитывается уже через 40 минут после постановки.

Устойчивость носоглоточных изолятов *S.aureus* к антибиотикам, антисептикам и дезинфектантам

При выборе антибиотиков для тестирования, исходили из данных МУК. 4.2.1890 - 04, в которых рекомендуемый перечень антибиотиков для *S.aureus* включает в себя препараты 1-го и 2-го ряда. Кроме этого изучали беталактамы антибиотики (ампициллин; амоксиклав, цефазолин; цефуроксим; цефтазидим, цефтриаксон.), линкосамиды (линкомицин, клиндамицин), ванкомицин и фузидин.

100% штаммов MRSA, также как MSSA, было чувствительно к ванкомицину. К представителям класса беталактамов оксациллинрезистентные *S.aureus* проявили чувствительность в пределах от 18,4% (ампициллин) до 62,5% (цефтазидим). Эта чувствительность, согласно Международным стандартам (CLSI, 2007; МУК 4.2., 1890 2004) должна рассматриваться как ложная, так как ген *mec A*, имеющийся у MRSA штаммов, сообщает им резистентность ко всем беталактамам. В литературе описаны *S.aureus* с наличием гена *mec A* (т.е. MRSA), но при культуральном исследовании проявляющие себя как оксациллинчувствительные (Ikonomidis A., 2008) и это явление требует дальнейших глубоких исследований. В отличие от этого,

эффективность бета-лактамовых антибиотиков в отношении MSSA была высокой и варьировала в пределах от 71,8% (цефозолин)) до 80,0% (цефуросим). Наиболее существенна была разница между двумя группами штаммов по резистентности к ампициллину – 81,6% у MRSA и 21,8% у MSSA ($p < 0,01$). Более чем в два раза выше были показатели устойчивости MRSA по таким антибиотикам как амоксиклав ((50% и 21,8%), цефуросим (40% и 17,9%), цефтриаксон (65,3% и 28,4%). Надо отметить высокую эффективность фузидина и клиндамицина в отношении обеих групп стафилококков – к первому было чувствительно 91,9% MRSA и 95% MSSA, ко второму – соответственно 85,7% и 88,6%. На рис 2. и рис 3. представлены результаты сопоставления резистентности MRSA и MSSA к антибиотикам других групп, рекомендуемых для лечения стафилококковых инфекций.

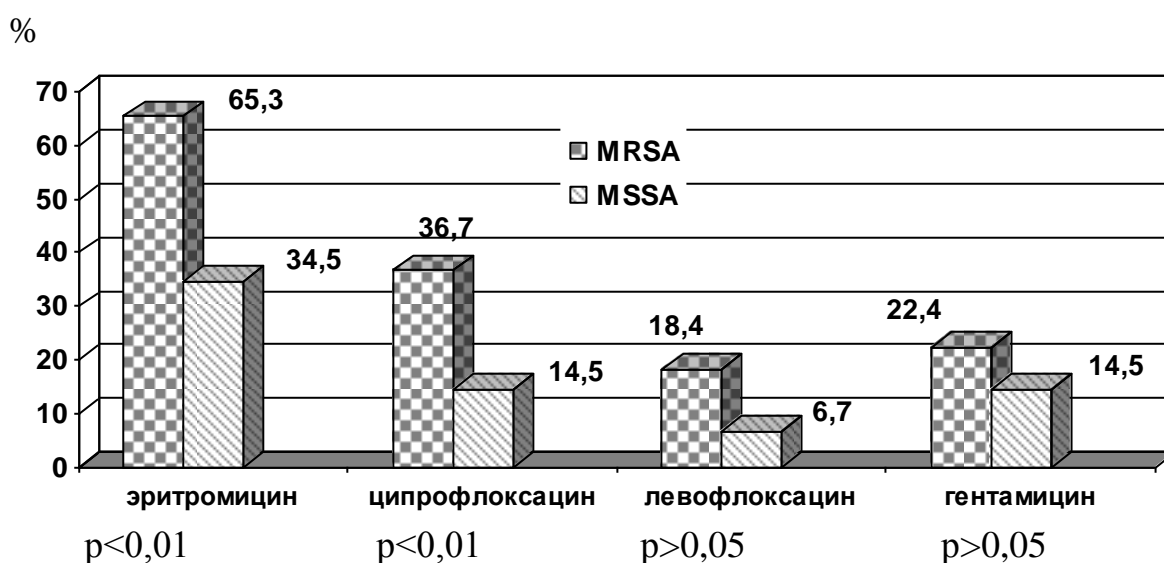


Рис.2. Устойчивость MRSA и MSSA к антибиотикам 1-го ряда

Как видно, среди препаратов 1-го ряда самым эффективным был левофлоксацин (18,4% и 6,7% устойчивых) и гентамицин (22,4% и 14,5%); из препаратов 2-го ряда – рифампицин (20,4% и 9,1%). Рис. 2 и рис. 3 иллюстрируют более высокую резистентность MRSA в сравнении с MSSA практически ко всем исследованным антибиотикам; статистически достоверная разница ($p < 0,05$ и $p < 0,01$) получена в отношении эритромицина, ципрофлоксацина, доксицилина и левомицетина. Полученные данные показывают, что носительские стафилококки, относящиеся к MRSA, помимо устойчивости к бета-лактамовым антибиотикам, имеют выраженную резистентность к антибиотикам других групп. Это соответствует данным литературы о высокой степени ассоциированной устойчивости MRSA к различным антибактериальным препаратам, не относящимся к классу бета-лактамов.

Из этого следует, что, наряду с достаточно высоким уровнем назального носительства MRSA у медперсонала ЛПУ, эти штаммы проявляют

множественную лекарственную устойчивость и являются существенным негативным фактором во внутригоспитальной среде.

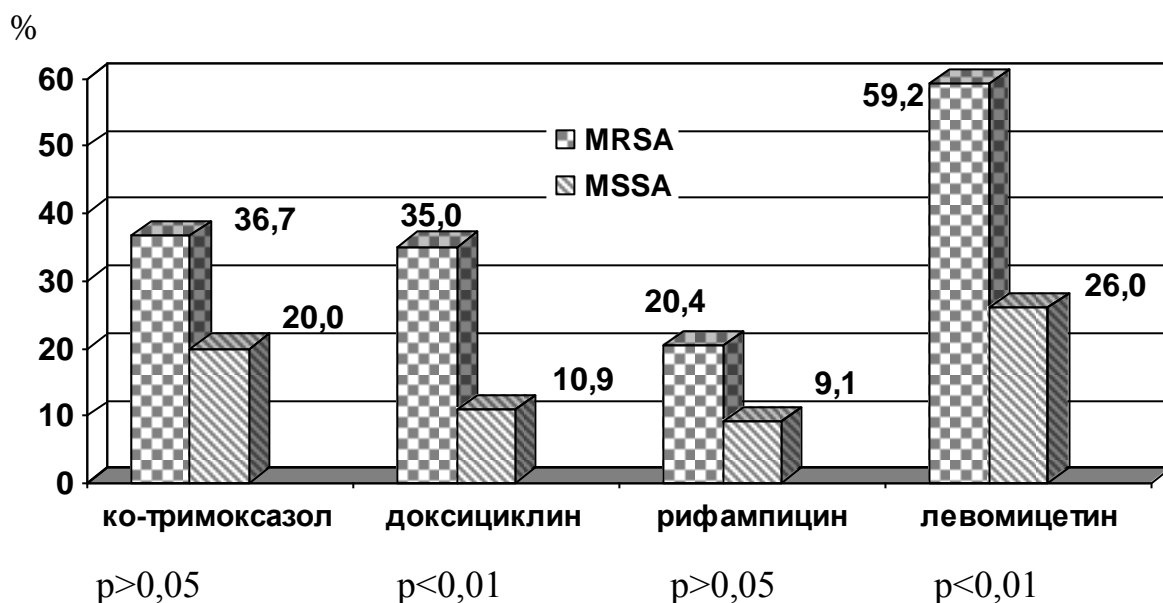


Рис.3. Устойчивость MRSA и MSSA к антибиотикам 2-го ряда

Скрининг-метод ускоренного определения чувствительности стафилококков к антибиотикам

Основой разработанного метода является сочетание известного метода глубинного посева исследуемой культуры и оптимального набора дисков с антибиотиками для определения MRSA и одновременного выявления чувствительности к наиболее активным препаратам против оксацилинрезистентных стафилококков. Исследуемая культура *S.aureus* вносится в остуженную до 45-50°C среду Мюллер-Хинтона в концентрации 200 млн. м.т./мл (2×10^8), на застывшую поверхность агара размещаются диски со следующими 8-ю антибиотиками: пенициллин, оксациллин, ванкомицин, цiproфлоксацин (или левофлоксацин), эритромицин, линкомицин (или клиндамицин), фузидин и рифампицин (два последних антибиотика включены в тестирование, так как в наших исследованиях были высокоактивны в отношении местных штаммов MRSA). После 6-8-ми часов инкубации при 37°C, производится предварительный учет результатов, зоны задержки роста микробов будут хорошо различимы в проходящем свете, так как стафилококки, относящиеся к факультативно-анаэробным микроорганизмам, дают более интенсивный и быстрый рост в глубине питательной среды.

При интерпретации полученных результатов могут быть следующие варианты: 1 вариант - культура чувствительна к пенициллину диаметр зоны подавления роста (ДЗПР>29 мм) и оксациллину (ДЗПР>13мм) – штамм чувствителен ко всем беталактамам антибиотикам. Рекомендуемые для лечения антибиотики – ампициллин, амоксициллин, амоксиклав; при тяжелых инфекциях – цефалоспорины или антибиотики других классов;

2 вариант - культура нечувствительна к пенициллину, но чувствительна оксациллину. Для лечения больных из класса беталактамных антибиотиков исключить ампициллин и амоксициллин.

3 вариант - культура нечувствительна к пенициллину и нечувствительна оксациллину. Исследуемый *S.aureus* относится к MRSA. Все беталактамные антибиотики при клиническом применении будут неэффективны. Самым лучшим препаратом для лечения MRSA - штаммов является ванкомицин (ДЗПР>15мм).

Определение воздействия дезинфектантов на MRSA и MSSA

Целью было определить воздействие дезинфекционных средств на *S.aureus*, относящихся к госпитальным MRSA и MSSA штаммам. Изучаемые стафилококки, как и при исследовании антибиотикорезистентности, являлись, в основном, изолятами из носоглотки персонала ЛПУ. Были проверены дезинфекционные средства отечественного производства ООО AGRO BIO KIMYO (Ташкент, 2008) АБК-ЭКСТРА и ЭКСТРА ДЕЗ.

Достоинствами обоих препаратов являются их широкая антимикробная активность (включая возбудителей туберкулеза и особо-опасных инфекций), антивирусная, антигрибковая активность, хорошие моющие и дезодорирующие свойства и отсутствие аллергизирующего и кумулятивного действия.

Как показали полученные результаты, оба дезинфекционные средства оказались высокоэффективными в отношении стафилококков. При этом, АБК-ЭКСТРА и ЭКСТРА ДЕЗ воздействовали одинаково успешно как на MRSA, так и на MSSA – штаммы.

Для изделий медицинского назначения по Инструкции необходимо использовать 2,0% раствор в течение 60'; в наших опытах ДС при этой концентрации были бактерицидны уже через 15'. Рекомендуемые режимы обработки поверхностей приборов, аппаратуры, мебели, предметов ухода за больными для исследуемых дезинфекционных средств составляют: 0,5% раствор в течение 1-го часа или 1% раствор при 30-ти минутах. Ни в одном случае мы не наблюдали бактериостатического эффекта – то есть рост отсутствовал в течение всех 7-ми суток наблюдения.

Совершенно иные результаты были получены в контрольных исследованиях хлорамина. Первые опыты по оценке воздействия этого раствора на стафилококки проводили с 1,0% и 0,5% растворами при экспозициях 5', 10' и 15'. Как оказалось, 5' экспозиция не влияла на стафилококки, не оказывая ни бактериостатического, ни бактерицидного эффекта. 10' и 15'-я выдержка тест-объектов при этой концентрации также была неэффективна за исключением одного штамма MRSA.

В связи с отсутствием эффективности 0,5% и 1,0% растворов, в дальнейших экспериментах мы использовали 3% и 5% концентрации хлорамина. Обработка 3% и 5% растворами хлорамина в течение 10' не вызывала гибели ни одного из 36-ти изученных штаммов стафилококка. 15' экспозиция была неэффективна в отношении более чем трети исследованных *S.aureus* как при 3%, так и при 5% концентрации хлорамина (36,1% - 33,3%).

5% раствор через 15' убивал 2,8% штаммов, бактериостатический эффект (задержка роста до 2-3-х суток) наблюдался в отношении 61,1% штаммов. Эта же концентрация при выдержке в 30' действовала бактерицидно у 32-ти (88,9%) штаммов, бактериостатически у 3-х (8,3%) и только в одном случае эффекта не наблюдалось. Более низкая концентрация дезинфектанта (3%) сказалась на соотношении бактерицидного и бактериостатического эффекта. Так, около половины *S.aureus* (44,4%) не дали роста при экспозиции в 15', у 22,2% штаммов рост задерживался на 2-4 дня. Эта же концентрация хлорамина при выдержке тест-объектов в течение 30' была бактерицидна для 91,7% стафилококков, на 8,3% штаммов она оказывала бактериостатический эффект.

Вместе с тем, при отдельном рассмотрении MRSA и MSSA прослеживается существенная разница, которая выражается в большей устойчивости MRSA к хлорамину. Особенно четко эта разница выявляется при экспозициях в 15' – устойчивость к воздействию 5% хлорамина отмечена для 45% штаммов MRSA и почти в два раза меньше для MSSA – 25%. При испытании 3% хлорамина после 15-минутного воздействия получено статистически достоверное подтверждение разницы в воздействии дезинфекционных средств на MRSA и MSSA штаммы: препарат был неэффективен у 55% штаммов MRSA и только у одного (6,2%) штамма MSSA ($p < 0,01$). Полное отсутствие роста MSSA (100%) наблюдалось при действии 3% раствора в течение 30'; рост MRSA отсутствовал у 85,0% штаммов.

Следующим этапом работы было определить влияние на госпитальные штаммы *S.aureus* широко используемого в практике метода гигиенической обработки рук медперсонала 0,5% раствором гипосульфита натрия. В опыт были взяты 10 штаммов *S.aureus*, устойчивых к пенициллинам и цефалоспорином (MRSA) и 10 штаммов, чувствительных к этим препаратам (MSSA), включая контрольный эталонный штамм *S.aureus* (ATCC 29923).

Обработка рук раствором гипосульфита натрия в течение 2' дала негативные результаты во всех опытах (MRSA и MSSA). В прямом посеве на ЖСА стафилококки выросли или в виде единичных колоний, или в виде умеренного роста. Бульон 6,5% NaCl был разной степени мутности, но при высеве из него на ЖСА наблюдался интенсивный рост характерных колоний *S.aureus* с лецитиназой и пигментом. При увеличении экспозиции обработки рук до 5' стафилококки не дали роста ни в прямом посеве на ЖСА, ни после подращивания в солевом бульоне. Для сравнения была испытана обработка рук 0,1% раствором хлоргексидина и 70° этанолом. 0,1% раствор хлоргексидина действовал аналогично нейтральному анолиту и обеспечивал отсутствие роста стафилококков при 5-ти минутной экспозиции, в то время как обработка рук 70° этанолом не дала эффекта.

Таким образом, новые отечественные дезинфектанты АБК - ЭКСТРА и ЭКСТРА ДЕЗ обладают выраженным бактерицидным эффектом на штаммы стафилококков, являющиеся изолятами из внутрибольничных (MRSA) и внебольничных источников (MSSA), причем эффект обнаруживается в два раза быстрее (через 15 мин.), чем указано в инструкции по применению и в минимальных (0,5%) концентрациях. В отличие от этого, хлорамин был

совершенно неэффективен против MRSA и MSSA в тех режимах, которые рекомендуются отечественными научно-техническими документами - при концентрации 0,5% и 1% и времени воздействия от 5-ти до 15-ти минут. Кроме того, было установлено, что гигиеническая обработка кожи рук медперсонала 0,5% раствором гипосульфита и 0,1% хлоргексидином эффективна в отношении MRSA и MSSA только при четком соблюдении экспозиции, т.е. погружением в раствор на 5'.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Выводы:

1. Проведенный 5-летний ретроспективный анализ санитарно-бактериологических исследований разных ЛПУ г. Ургенча показал, что в смывах с объектов окружающей среды *S.aureus* обнаруживается в 0,5%, УПЭ в 4,6%, среди последних доминируют цитробактеры, клебсиеллы, энтеробактеры.

2. Несоответствие существующим нормативам нашей республики установлено: при исследовании материала на стерильность в 1,1%; воздушной среды (ОМЧ) в 7,6% случаев.

3. Установлены существенные различия между частотой носоглоточного носительства *S.aureus* медицинским персоналом ЛПУ и лицами контрольной группы (здоровые женщины и здоровые мужчины-добровольцы) – 3,7% и 1,6% соответственно, $p < 0,01$.

4. Выявлено, что среди *S.aureus*, выделенных из носоглотки медицинского персонала ЛПУ к оксациллинрезистентным вариантам (MRSA) относились 13,7% штаммов, аналогичные изоляты от контрольной группы лиц составили 2,6% ($p < 0,01$).

5. В специальных исследованиях по 3-м разным подразделениям ЛПУ (хирургические отделения ОММЦ, перинатальный центр, ОМДМЦ) показано, что в носоглотке медицинского персонала КОС (преимущественно *S.epidermidis*) обнаруживаются в 9,8%, среди них оксациллинрезистентные варианты (MRSE) выявляются лишь в 2,9% случаев.

6. Установлено, что *S.aureus*, изолированные из носоглотки персонала и объектов окружающей среды ЛПУ, значительно различаются между собой по многим фенотипическим признакам в зависимости от принадлежности к MRSA или к MSSA – первые чаще обладали факторами патогенности и были атипичны по ряду культуральных и биохимических признаков.

7. MRSA, выделенные из носоглотки медицинского персонала достоверно чаще, чем MSSA обладают множественной устойчивостью не только к бета-лактамам антибиотикам, но и к антибиотикам других групп

8. Новые отечественные дезинфектанты АБК-ЭКСТРА и ЭКСТРА ДЕЗ обладают выраженным бактерицидным эффектом на штаммы MRSA и MSSA при минимальной концентрации и экспозиции (0,5%, 15 минут), в отличие от хлорамина, действующего только при высоких (3% и 5%) концентрациях.

9. Использованный 0,5% гипохлорид натрия (нейтральный анолит) эффективен против MRSA и MSSA при гигиенической обработке рук медперсонала в течение не менее 5 минут.

Практические рекомендации:

1. При изучении физиолого-биохимических свойств *S.aureus* в практических лабораториях использовать определение гиалуронидазной активности, что может быть заменой теста на плазмокоагуляцию (при невозможности его выполнения).

2. У *S.aureus*, выделенных от носоглоточных носителей среди медперсонала, определять оксациллинрезистентность; к носителям MRSA госпитальные эпидемиологи должны применять наиболее жесткие ограничительные меры

3. Определение антибиотикограмм госпитальных штаммов *S.aureus* проводить методом скрининга с включением 8-ми антибиотиков, из которых обязательными являются пенициллин и оксациллин.

СПИСОК ОПУБЛИКОВАННЫХ РАБОТ

1. Нуралиев Н.А., Самандарова Б.С., Эшчанова Ф.Р. Аёллар кўкрак сутида ажратилган микробларнинг турли антибиотикларга сезгирлик кўрсаткичлари// Инфекция, иммунитет ва фармакология. - Тошкент, 2006. - №1. – Б.67-70.
2. Исхакова Х.И., Эшчанова Ф.Р. Результаты микробиологического мониторинга внешней среды лечебно-профилактических учреждений г.Ургенча и распространенность метициллинрезистентных стафилококков// Журнал теоретической и клинической медицины. - Ташкент, 2009. - №1. –С.70-73.
3. Исхакова Х.И., Эшчанова Ф.Р., Худойбергганов Р.Т., Шадманова Н.А. Про частоту выявления *S.aureus* і його метицилінрезистентних варіантів у носоглотці медперсоналу, в об'єктах довілля і повітрі лікувально-профілактичних установ //Вісник наукових досліджень. – Тернополь, Украина, 2009. - №2. – С.34-36.
4. Шарифов М.Р., Эшчанова Ф.Р., Отахонов Б.Р., Маткурбанова М.А. Жаррохлик инфекцияларида ажратилган микроорганизмларнинг антибиотикларга сезгирлик кўрсаткичлари //ТТА Урганч филиали ёш олимларининг илмий ишлар тўплами. - Урганч. - 2006. – Б.92-98.
5. Эшчанова Ф.Р. Сопоставление биологических свойств MRSA (метициллинрезистентных) и MRSE (метициллинчувствительных) *S.aureus* внутрибольничного происхождения / Мат. IV съезда микробиологов Узбекистана. – Ташкент, 2008. – С.214-215.
6. Исхакова Х.И., Эшчанова Ф.Р. Результаты исследования смывов с объектов окружающей среды клиник хирургического профиля// Мат. IV съезда микробиологов Узбекистана. – Ташкент, 2008. – С.215-216.

7. Эшчанова Ф.Р. Частота носоглоточного носительства *S.aureus* среди персонала лечебно-профилактических учреждений хирургического профиля// Мат. конференции молодых ученых: Сб. тез. – Ташкент, 2008. – С.106-107.
8. Исхакова Х.И., Эшчанова Ф.Р., Шадманова Н.А., Вахидова Х.М. Оксациллинрезистентность коагулазоотрицательных стафилококков (КОС), выделенных из носоглотки медперсонала// Акт. пробл. диагностики, лечения и профилактики инфекционных и паразитарных заболеваний: Мат. V-Междунар. научно-практ.конф. - Ташкент, 2009. – С.132.
9. Исхакова Х.И., Маткаримов Б.Д., Юлдашева Х., Турсунова Д.А., Эшчанова Ф.Р., Вохидова Х.М. Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам диско-диффузным методом// Методические указания. – Ташкент. – 2007. – 40 с.

Тиббиёт фанлари номзоди илмий даражасига талабгор Сапаева Фируза Рузумбаевнанинг 03.00.07 - Микробиология ихтисослиги бўйича биология фанлари номзоди илмий даражасини олиш учун “Оксациллинга турғун стафилококкларнинг касалхона шароитида тарқалиши ва уларга антибиотик, антисептик ва дезинфектантларнинг таъсири” мавзусидаги диссертац

РЕЗЮМЕСИ

Таянч сўзлар: Госпитал муҳит, ДПМ санитар-бактериологик тахлили, стафилококклар, бурун-ҳалқум ташувчилиги, оксациллинга турғунлик, антибиотиклар, дезинфекцияловчи воситалар.

Тақдирот объектлари: Атроф –муҳит, даволаш-профилактика муассалари (ДПМ) (ҳавоси, суртмалар, ходимлар бурун-ҳалқуми, атроф –муҳити микроорганизмлари).

Ишнинг мақсади: *S.aureus* ва унинг оксациллинга турғун вариантларини (MRSA) учраш даражасини атроф-муҳит, касалхонанинг турли йўналиши ходимларида аниқлаш, ҳамда уларга антибиотикларнинг, антисептикларнинг ва дезинфектантларнинг таъсирини белгилаш.

Тақдирот методлари: Бактериологик, бактериоскопик, эпидемиологик, статистик.

Олинган натижалар ва уларнинг янгилиги: Урганч шаҳри саккиз ДПМ санитар – бактериологик текшируви 2002-2006 йиллар орасидаги ретроспектив тахлили ўтказилди. Суртмаларда шартли-патоген энтеробактериялар (цитробактерлар, энтеробактерлар, клебсиеллалар) *S. aureus*га нисбатан кўпроқ ажратиб олинганлиги аниқланди. Ходимлар орасида *S. aureus* бурун-ҳалқум ташувчилари ва уларнинг оксациллинга турғун штаммлари контрол соғлом шахслар гуруҳига нисбатан сони сезиларли кўп даражада. *S. aureus* (MRSA) оксациллинга турғунлари оксациллинга сезувчан (MSSA) ларига нисбатан қуйидаги хусусиятлар хос: кўп антибиотикларга турғунлиги юқори, хосилавий ва биокимёвий хусусиятлари бўйича атипик, патогенлик ферментлари ишлаб чиқаради.

Амалий аҳамияти. *S. aureus* нинг оптимал бўлган антибитикларга турғунлигини аниқловчи тезлаштирилган (6-8 соат) скрининг усул ишлаб чиқилди. MRSAларнинг патогенлик факторларни ўрганиш натижасида алтернатив усул сифатида плазмани коагуляция қилиш активлигини текшириш (плазмани етишмаслиги ёки йўқлиги вақтида) *S. aureus*нинг гиалурунидаза хосил қилишини аниқлаш тавсия этилади.

Тадбиқ этиш даражаси ва иқтисодий самарадорлиги: “Микроорганизмларнинг сезувчанлигини диск-диффузия усули билан аниқлаш” (Тошкент, 2007) номли услубий кўрсатма ишлаб чиқилган. ушбу кўрсатмалар Ўзбекистон республикаси ДСЭН бактериологик лабораториялар ва Тошкент тиббиёт академияси Урганч филиали ўқув ишлари жараёнида қўлланилмоқда. Ишлаб чиқилган янги қўлланма асосида микробиологик тестлар қўйиш лабораторияларнинг кундалик амалий фаолияти харажатларини деярли 4 маротаба (125 сўм, 550 сўмга нисбатан) камайтиради, аниқ мақсад билан антимиқроб даволаш, даволаниш кунларини камайишига олиб келади.

Қўлланиш соҳаси: Биология ва тиббиёт, бактериологик лабораториялар.

РЕЗЮМЕ

диссертации Сапаевой Фирузы Рузумбаевны на тему «Распространенность оксациллинрезистентных стафилококков в госпитальной среде и воздействие на них антибиотиков и дезинфектантов» на соискание ученой степени кандидата биологических наук по специальности 03.00.07- Микробиология

Ключевые слова: Госпитальная среда, санитарно-бактериологический анализ в ЛПУ, стафилококки, носоглоточное носительство, оксациллинрезистентность, антибиотики, дезинфицирующие средства.

Объект исследования: Окружающая среда, лечебно-профилактические учреждения (ЛПУ) (воздух, смывы, носоглотка медперсонала, микроорганизмы окружающей среды).

Цель работы: Установить частоту распространения *S.aureus* и его оксациллинрезистентных вариантов (MRSA) в окружающей среде и у персонала клиник различного профиля, а также определить влияние на них антибиотиков, антисептиков и дезинфектантов.

Методы исследования: Бактериологические, бактериоскопические, эпидемиологические, статистические.

Полученные результаты и их новизна. Проведен ретроспективный анализ санитарно-бактериологических исследований восьми ЛПУ г. Ургенча за 2002-2006гг. Установлено более частое обнаружение в смывах условно-патогенных энтеробактерий (цитробактеры, энтеробактеры, клебсиеллы), чем *S. aureus*. Носоглоточное носительство *S. aureus* и его оксациллинрезистентных вариантов существенно выше у медперсонала в сравнении с контрольной группой здоровых лиц. Для оксациллинрезистентных *S. aureus* (MRSA) в отличие от оксациллинчувствительных (MSSA) характерен: высокий уровень резистентности ко многим антибиотикам, нетипичность по биохимическим и культуральным свойствам, продукция ферментов патогенности.

Практическая значимость. Разработан скрининг метод ускоренного (6-8 часов) определения резистентности *S. aureus* к оптимальному набору антибиотиков. На основе изучения факторов патогенности MRSA рекомендуется в качестве альтернативы плазмакоагулирующей активности (при отсутствии или дефиците кроличьей плазмы) использовать определение гиалуронидазы *S. aureus*.

Степень внедрения и экономическая эффективность: Разработаны методические указания «Определение чувствительности микроорганизмов к антимикробным препаратам диско-диффузионным методом» (Ташкент, 2007). которые внедрены в практику работы бактериологических лабораторий ЦГСЭН МЗ РУз, а также в учебный процесс Ургенчского филиала Ташкентской медицинской академии. Использование разработанной новой методики при выполнении микробиологических тестов в рутинной практике уменьшают затраты почти в 4 раза (125 сум в сравнении с 550 сум); целенаправленная антибиотикотерапия сокращает сроки лечения в стационарах.

Область применения: Биология и медицина: бактериологические лаборатории.

RESUME

Thesis of Sapaeva Firuza Ruzumbaevna on the scientific degree competition of the philosophy in medical sciences on specialty 03.00.07 - Microbiology, subject: "Prevalence resistance of oxacillin of staphylococcus in hospital ambience and influence on them antibiotics, antiseptics and disinfectants"

Key words: Hospital ambience, sanitary-bacteriological analysis in medical – preventive establishment (MPE), staphylococcus, nasopharyngeal carriage, resistance of oxacillin, antibiotics, disinfectants.

Subjects of research: Ambient environment of hospital, (the air, washuts, nasopharynx of medical staff, microorganisms of surrounding ambience).

Purpose of work: To determine the frequency of the spreading S.aureus and its resistance of oxacillin variant (MRSA) in surrounding ambience and in personnel of the clinics of the different profile, as well as to detect effect upon them antibiotics, antiseptics and disinfectants.

Methods of research: Bacteriological, bacterioscopic, epidemiological, statistical.

The results obtained and their novelty: Retrospective sanitary-bacteriological studies made an analysis 8 of Urgench city of MPE for 2002-2006. OPE (Citrobacter, Enterobacter, Klebsiella) more frequent than S aureus was determined. Nasopharyngeal carriage of medical staff of S aureus and its resistance of oxacillin variant (MRSA) more in comparison with than checking group of healthy persons. Oxacillin- resistance S aureus (MRSA) has high level multiply resistance, atypical biochemical and cultural property, product ferment of pathogenicity than Oxacillin-sensitive (MSSA).

Practical value: Develop of speed fast screening method (6-8 hours) of the determination resistance S aureus to optimum set antibiotic. On base of the study factor to pathogen city MRSA is recommended as alternatives test of hyaluronidase (in the absence of or deficit rabbit plasmas) use, instead of coagulase test.

Degree of embed and economic effectivity: Designed methodical instructions "Determination of sensitivity microorganism to antibacterial drugs by disco-diffusion method» (Tashkent, 2007). The Methodical instructions are introduced in practical performance of the work bacteriological laboratories of CSSSES of MPH RUz, as well as in training Urgench branch of Tashkent medical academy. Offered schemes of the studies are more cheaply, nearly 4 times (125 sums in comparison with 550 sums), goal-antibiotic therapy will be quick recovery of the patient that shortens the days in permanent of hospital.

Fied of application: Biology and medicine: bacteriological laboratories.