საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის
სახელობის ქართული უნივერსიტეტი

ხელნაწერის უფლებით

ინფორმატიკის, მათემატიკისა და საბუნებისმეტყველო
მეცნიერებათა სკოლა (ფაკულტეტი)

საგანმანათლებლო პროგრამა - ბიოტექნოლოგია

ხათუნა ფოჩხუა

ქ. თბილისში გამოყოფილი S.aureus–ის ანტიბიოტიკორეზისტენტობა (2008–2012 წლები)

ბიოლოგიის დოქტორის აკადემიური ხარისხის
მოსაპოვებლად წარმოდგენილი ნაშრომის

სადისერტაციო მაცნე

მიმართულება - 05 საბუნებისმეტყველო მეცნიერებები
დარგი/სპეციალობა - 0504 ბიოლოგია/სიცოცხლის
შემსწავლელი მეცნიერებანი

თბილისი
2015

სადისერტაციო ნაშრომი შესრულებულია საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტის ინფორმატიკის, მათემატიკისა და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა სკოლის (ფაკულტეტის) საბუნებისმეტყველო მიმართულებაზე და თბილისის სახელმწიფო სამედიცინო უნივერსიტეტ'ში

სამეცნიერო ხელმძღვანელები: **1.** **კლარა ხეცურიანი**

ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,
პროფესორი

2. შორენა ხეცურიანი
მედიცინის აკადემიური დოქტორი

ოფიციალური ოპონენტები: **1. ზურაბ ლომთათიძე**
ბიოლოგიის მეცნიერებათა დოქტორი,
პროფესორი

2. ირინა დგებუაძე
ბიოლოგიის აკადემიური დოქტორი,
პროფესორი

დისერტაციის დაცვა შედგება 2015 წლის „___27._07_.15_“___15_____საათზე, საქართველოს საპარტიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტის ინფორმატიკის, მათემატიკისა და საბუნებისმეტყველო მეცნიერებათა სკოლის (ფაკულტეტის) სადისერტაციო კომისიის სხდომაზე

მისამართი: 0162, თბილისი, ილია ჭავჭავაძის ქ. № 53ᵃ, აკადემიკოს ილია ვეკუას სახელობის აუდიტორია
დისერტაციის გაცნობა შეიძლება საქართველოს საპატრიარქოს წმიდა ანდრია პირველწოდებულის სახელობის ქართული უნივერსიტეტის სამეცნიერო ბიბლიოთეკაში.

სადისერტაციო მაცნე დაიგზავნა 2015 წლის „ _27.06_“

სადისერტაციო საბჭოს სწავლული მდივანი,
ფიზიკა–მათემატიკის
აკადემიური დოქტორი, პროფესორი გიორგი მაქაცარია

სარჩევი

1. ნაშრომის ზოგადი დახასიათება 4
1.1. თემის აქტუალობა 4
1.2. კვლევის ძირითადი მიზანი და ამოცანები 5
1.3. ნაშრომის მეცნიერული სიახლე და ძირითადი შედეგები 6
1.4. კვლევის თეორიული და მეთოდოლოგიური საფუძვლები 6
1.5. ნაშრომის თეორიული ღირებულება 7
1.6. ნაშრომის პრაქტიკული მნიშვნელობა 7
1.7. ნაშრომის სტრუქტურა და მოცულობა 7
2. ნაშრომის ძირითადი შინაარსი 8
2.1. შესავალი 8
2.2. თავების ანოტაცია 8
2.3. დასკვნები 23
3. დისერტაციის თემასთან დაკავშირებული პუბლიკაციების ნუსხა 24

1. ნაშრომის ზოგადი დახასიათება

1.1. თემის აქტუალობა

რეზისტენტული მიკროორგანიზმებით გამოწვეული ინფექციები ნაკლებად ექვემდებარება მკურნალობას, ხშირია დაავადების გახანგრძლივება, მაღალია სიკვდილიანობის დონე და სამედიცინო მომსახურების ხარჯები. საკითხს ართულებს ისიც, რომ რეზისტენტობის გავრცელების მიზეზები ძირითადად მულტიფაქტორულია და ბოლომდე დადგენილი არ არის. აღნიშნულის გამო, ჯანდაცვის საერთაშორისო ორგანიზაციის რეკომენდაციით, აუცილებელია მსოფლიოს ყველა რეგიონში ანტიბიოტიკორეზისტენტობის სისტემატური და კოორდინირებული მონიტორინგი.

რეზისტენტული მიკროორგანიზმებით გამოწვეულ დაავადებებს შორის მნიშვნელოვანია *S. aureus*-ით გამოწვეული ინფექციები. განსაკუთრებით დიდია მათი როლი ჰოსპიტალური ინფექციების განვითარებაში. ქირურგიული და მშობიარობის შემდგომი გართულებები აბსოლუტური უმრავლესობით უშუალოდ დაკავშირებულია ამ მიკროორგანიზმთან. მიუხედავად იმისა, რომ გრამუარყოფითი მიკროორგანიზმები ჩირქოვანი ინფექციების ერთ-ერთი უმთავრესი ეტიოლოგიური ფაქტორია, სტაფილოკოკები თავიანთი ხვედრითი წილით დღეისთვის ერთ-ერთ მნიშვნელოვან ჰოსპიტალურ პათოგენებად რჩებიან. ცნობილია, რომ სტაფილოკოკური ჰოსპიტალური შტამები სწრაფად იძენენ რეზისტენტობას ანტიბიოტიკებისადმი, წარმოიქმნებიან მათი სელექციური მოქმედების შედეგად და ინარჩუნებენ მაღალ კონკურენტუნარიანობას სხვა შტამების მიმართ.

სტაფილოკოკური ინფექციების მკურნალობა თანამედროვე ეტაპზე წარმოადგენს მწვავე პრობლემას, რაც დაკავშირებულია ამ მიკრობების ანტიბიოტიკებისადმი მრავლობითი რეზისტენტობის განმსაზღვრელ გენეტიკურ მექანიზმებთან.

უკანასკნელ წლებში ფართოდ შეისწავლეს სტაფილოკოკის მეტიცილინისადმი რეზისტენტობის საკითხი. MRSA-შტამების დამახასიათებელი თავისებურებაა მრავლობითი რეზისტენტობა

და აგრეთვე ერთდროული რეზისტენტობა პენიცილინისა და ცეფალოსპორინებისადმი. მისი მაღალრეზისტენტობის და პაციენტების ხშირი სიკვდილიანობის გამო მას ხატოვნად „superbug" უწოდეს.

განსაკუთრებულ ყურადღებას იპყრობს სტაფილოკოკის კორელაციის გამოვლენის შესაძლებლობა მიკრობის ანტიბიოტი-კორეზისტენტობასა და პათოგენურ თვისებას შორის; არანაკლებ საინტერესოა ანტიბიოტიკორეზისტენტობის გენეტიკური ბუნების დადგენა. ამ მხრივ განსაკუთრებულ მნიშვნელობას იძენს არაქრომოსომული ელემენტების R-პლაზმიდების გამოვლენა და მათი გავრცელების შესწავლა მიკრობების შტამებში.

დადგენილია, რომ საქართველოში ამ მხრივ არსებული მდგომარეობა განვითარებულ ქვეყნებზე უარესია, რაც გამოწვეულია ბაქტერიოლოგიური კვლევებისა და სამედიცინო პერსონალში პრობლემის აღქმის ნაკლებობით, ასევე ანტიბიო-ტიკების რეცეპტის გარეშე აქამდე არსებული ხელმისაწვდომობით. ეს კი რეზისტენტობის განვითარების რისკფაქტორებია.

1.2. კვლევის ძირითადი მიზანი და ამოცანები

შრომის მიზანს წარმოადგენდა ქ. თბილისში 2008-2012 წლებში გამოყოფილი *S. aureus*-ის შტამების მიკრობიოლოგიური თვისებების, MRSA შტამები გავრცელების შესწავლა, ანტიბიოტი-კებისადმი რეზისტენტობის დადგენა და ამ რეზისტენტობის განმაპირობებელი არაქრომოსომული დნმ-ის გამოვლენა.

აღნიშნული მიზნის მისაღწევად მიზანშეწონილად ჩავთვა-ლეთ შემდეგი ამოცანების გადაჭრა: ქ. თბილისში გამოყოფილი *S. aureus*-ის მიკრობი ოლოგ ი ური თვისებების შედარებითი დახასიათების შედგენა; ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამების გამოვლენა წლების (2008–2012), ასაკის და სქესის მიხედვით; *S. aureus*-ის შტამების მეტიცილინისადმი რეზისტენტობის (როგორც ანტიბაქტერიული პრეპარატებისადმი მრავლობითი რეზისტენტო-ბის შესაძლო ინდიკატორის) შესწავლა in vitro; *S. aureus*-ის შტამებში მულტირეზისტენტობის გავრცელება და მისი გენეტიკური მექანიზმის დადგენა.

1.3. ნაშრომის მეცნიერული სიახლე და ძირითადი შედეგები

დადგენილია ბოლო წლებში *S.aureus*-ის შტამებში რეზისტენტობის გავრცელება სხვადასხვა ჯგუფის და თაობის ანტიბიოტიკებისადმი; ქ.თბილისში გამოყოფილი შტამების მაგალითზე დადგინდა MRSA შტამების, ასევე, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის დეტერმინანტების R-პლაზმიდების შეხვედრის სიხშირე; განისაზღვრა ანტიბიოტიკე-ბისადმი რეზისტენტობის ცვლილებათა დინამიკა 2008–2012 წლებში;

გამოვლენილია S.aureus-ის შტამებში ყველაზე მაღალი აქტივობის მქონე ფერმენტები (ADHL,dMAL,dMNE,SAC,dTRE) და საიდენტიფიკაციო სუბსტრატები (MBdGOPTO); ონკოლოგიური პაციენტებიდან გამოყოფილი S.aureus-ის შტამების პათოგენობის ფაქტორების შედარებითი შესწავლის საფუძველზე დადგინდა, რომ ისინი თავიანთი ცხოველმოქმედებითა და აქტიურობით, აგრესიულობით ბევრად აღემატება არაონკოლოგიური პაციენ-ტებიდან გამოყოფილი შტამების პათოგენობას.

1.4. კვლევის თეორიული და მეთოდოლოგიური საფუძვლები

ნაშრომს საფუძვლად უდევს ქ. თბილისის სტაციონა-რებიდან 2008-2012 წლებში გამოყოფილი *S. aureus*-ის შტამების მიკრობიოლოგიური თვისებების შედარებითი შესწავლა, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის გამოვლენა, MRSA შტამების შეხვედრის სიხშირე, R-პლაზმიდების გავრცელების დადგენა. სტაფილოკოკების ანტიბიოტიკებისადმი მგრძნობე-ლობის დადგენისთვის გამოყენებული იყო საყოველთაოდ მიღებული აგარში პრეპარატების დიფუზიისა და სერიული განზავების მეთოდები. პლაზმიდების გამოსავლენად გამოყე-ნებული იყო მაღალი ტემპერატურით ელიმინაციის მეთოდი.

1.5. ნაშრომის თეორიული ღირებულება

კვლევის შედეგების მიხედვით განისაზღვრა *S. aureus*–ის შტამების მიკრობიოლოგიური თვისებები და ანტიბიოტიკორეზისტენტობა.

1.6. ნაშრომის პრაქტიკული მნიშვნელობა

ქ.თბილისში პაციენტებიდან გამოყოფილი *S. aureus*-ის შტამების მიკრობიოლოგიური თვისებების, ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის შედარებითი დახასიათება შესაძლებლობას იძლევა განისაზღვროს *S.aureus*-ის შტამების გავრცელების დიაპაზონი სხვადასხვა სტაციონარში. მეტიცილინისადმი რეზისტენტობის დადგენა მრავლობითი რეზისტენტობის ფაქტის განსაზღვრის საშუალებას იძლევა, რასაც დიდი მნიშვნელობა აქვს ეპიდემიოლოგიის შესწავლისთვის და აგრეთვე ავადმყოფების ეფექტური ეტიოტროპული მკურნალობისთვის. მიღებული შედეგები გასათვალისწინებელია ქვეყანაში ანტიმიკრობული რეზისტენტობის პრობლემის შესაფასებლადაც. *S.aureus*-ის ანტიბიოტიკორეზისტენტობის შესწავლა ხელს შეუწყობს მისი პრევენციის გზების ძიებას საქართველოში.

1.7. ნაშრომის სტრუქტურა და მოცულობა

დისერტაცია მოიცავს: შესავალს, კვლევის მასალებსა და მეთოდებს, საკუთარი კვლევის შედეგებს, შედეგების განხილვას, დასკვნებს, გამოყენებული ლიტერატურის სიას (155 წყარო). იგი ილუსტრირებულია 15 ცხრილით და 10 დიაგრამით. ნაშრომის მოცულობა 127 გვერდია.

2. ნაშრომის ძირითადი შინაარსი
2.1. შესავალი
2.2. თავების ანოტაცია

კვლევას დაექვემდებარა *S. aureus*–ის 557 კლინიკური იზოლატი, რომელთა იდენტიფიკაცია ხდებოდა შესაბამისი მეთოდებით (Берджи - Определитель бактерий 1998, Baron, Lance K. and at all 1994; Покровский В. М. 1999). გამოყენებული იყო ამ მეთოდებით გათვალისწინებული ნიადაგები და რეაქტივები. კერძოდ, გამოკვლევა წარმოებდა მორფოლოგიური, ტინქ-ტორიული, კულტურალური და ბიოქიმიური ნიშნების მიხედვით. შტამების შესწავლა ხდებოდა მორფოლოგიური (კოლონიები), მიკროსკოპული (უჯრედი), ტინქტორიული (გრამის მეთოდი) ნიშნების მიხედვით.

კულტურალური თვისებების შესწავლისთვის გამოყენე-ბული იყო ხორც-პეპტონიანი აგარი, ხორც–პეპტონიანი ბულიონი, 5%-იანი სისხლიანი აგარი, კვერცხისგულიან-მარილიანი აგარი, ეიკმანის რძიან–მარიალიანი აგარი; აგრეთვე ვიკვლევდით შტამების კულტივირების უნარს დაბალ – 15°C და მაღალ – 45°C ტემპერატურებზე ზრდის უნარის მიხედვით.

ბიოქიმიური თვისებების კვლევა ხდებოდა კაროტინო-იდული პიგმენტის წარმოქმნით, აერობულ და ანაერობულ პირობებში ნახშირწყლების ფერმენტაციით, ურეაზული, კატა-ლაზური, ჰემოლიზური, კოაგულაზური, პროტეოლიზური, ლეციტინაზური აქტივობითა და ნოვობიოცინის მიმართ მგრძნობელობის განსაზღვრით. შტამების მიერ კაროტინოიდული პიგმენტის წარმოქმნისთვის კულტურის დაყოვნება ხდებოდა 37 °C 24 საათით რძე–მარილიან აგარზე. ჰემოლიზური აქტივობის განსაზღვრისთვის გამოყენებული იყო 5%-იანი სისხლიანი აგარი. კოლონიის ირგვლივ ჰემოლიზის ზონა მიუთითებდა დადებით რეაქციაზე. ლეციტინაზური აქტივობა ისაზღვრებოდა კვერცხის-გულიან მარილიან ნიადაგზე. კოლონიის ირგვლივ ნიადაგის შემღვრევა პერიფერიისაკენ ცისარტყელის მსგავსი გვირგვინით ფერმენტ ლეციტინაზას აქტივობის მაჩვენებელი იყო. ბულიონში ზრდის თავისებურება შესწავლილი იქნა ხორც–პეპტონიან ბულიონში ინკუბაციით. ბულიონის თანაბარი შემღვრევა

მიუთითებდა შტამის ტიპიურობაზე. საკვლევი შტამების ზრდა ხორც–პეპტონიან აგარზე 15°C და 45°C ტემპერატურებზე მიუთითებდა სტაფილოკოკების დამახასიათებელ თვისებაზე.

ანაერობულ პირობებში ნახშირწყლების ფერმენტაციისათვის გამოყენებული იყო ჰიუ–ლეიფსონის 0,3%–იანი ნახევრადთხიერი ნიადაგი 1% გლუკოზის შემცველობით. აერობულ პირობებში ნახშირწყლების ფერმენტაციის უნარის განსაზღვრისათვის მზადდებოდა 1%-იანი პეპტონიანი წყალი 2 მლ ანდრედეს რეაქტივით. 37°C-ზე 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ ნიადაგის წითელი შეფერადება მიუთითებდა ნახშირწყლების ფერმენტაციაზე.

შტამების ურეაზული აქტივობის განსაზღვრა ხდებოდა რეაქტივით (შარდოვანას 2% ხსნარი 0,01 M ფოსფატურ ბუფერში + ფენოლწითელი და ნატრიუმის აზიდი) საკვლევი მასალის შეტანით. 1, 2, 4 და 24 საათიანი დაკვირვებისას ღია ვარდისფერის შეცვლა ჟოლოსფრად აჩვენებდა შარდოვანას ფერმენტაციას.

წყალბადის ზეჟანგის 3%–იანი ხსნარის დაშლა მასში კულტურის შეტანისას მიუთითებდა ფერმენტ კატალაზას არსებობაზე.

პლაზმოკოაგულაციის განსაზღვრისთვის გამოყენებული იყო სწრაფი მეთოდი. კერძოდ, სასაგნე მინაზე სტერილური წყლის წვეთში მზადდებოდა შტამის სუსპენზია, რომელსაც ემატებოდა 1:5 განზავებული სისხლის პლაზმის ერთი წვეთი. დადებით შემთხვევაში ხდებოდა პლაზმის შედედება 15 – 60 წამში.

პროტეოლიზური აქტიურობის განსაზღვრისათვის 2% პეპტონის ხსნარში ბაქტერიული მარყუჟით თავსდებოდა საკვლევი ბაქტერიული კულტურა. 37°C–ზე 24 საათიანი ინკუბაციის შემდეგ სინჯარაში ჩაკიდებული ტყვიის აცეტატში შესველებული საინდიკატორო ქაღალდის გაშავება ტყვიის სულფიდის წარმოქმნის გამო, მიუთითებდა ცილის ფერმენტაციაზე.

S. aureus–ის იდენტიფიკაციის დამატებითი ტესტი იყო ნოვობიოცინისადმი მგრძნობელობის განსაზღვრა. მბკ შეესაბამებოდა 2 მკგ/მლ.

ანტიბიოტიკორეზისტენტობის შესწავლისთვის გამოყენებული იყო ორი მეთოდი: დისკო–დიფუზური და VITEK 2 ტიპის Biomerieux ანალიზატორი. ეს უკანასკნელი გამოყენებული იყო კვლევის გარკვეულ ნაწილში, რომლის საშუალებითაც ავტომატურ

რეჟიმში მიიღებოდა ინფორმაცია როგორც *S. aureus*–ის იდენტიფიკაციის, ისე მისი ანტიბიოტიკორეზისტენტობის შესახებ. დისკო–დიფუზური მეთოდის დროს გამოყენებული იყო ბრიტანული წარმოების სტანდარტული დისკები.

იდენტიფიცირებული შტამების ანტიბიოტიკორეზისტენ-ტობის განსაზღვრისათვის გამოყენებული იყო როგორც ძველი, ისე ახალი თაობის სხვადასხვა ჯგუფის 24 ანტიბიოტიკი.

მულტირეზისტენტულად ითვლებოდა შტამი, რომელსაც გააჩნდა გამძლეობა 3 ან მეტი დასახელების მქონე ანტიბიო-ტიკისადმი.

გამოყოფილ მულტირეზისტენტულ შტამებში R–ფაქ-ტორის არსებობის დადგენისთვის გამოყენებულ იყო მაღალი ტემპერატურა – 48°C. (Kado C. I., Liu S. T . 1981). საკვლევი შტამების ელიმინაციის დადგენისათვის ხდებოდა მათი ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობის დადგენა ელიმინაციამდე და ელიმინაციის შემდეგ (May T. W., Haughton K.H., Perret C 1964). პლაზმიდის ელიმინაციად ითვლებოდა შტამის მიერ რეზის-ტენტობის განმსაზღვრელი ანტიბიოტიკის მიმართ რეზის-ტენტობის დაკარგვა.

ექსპერიმენტის შედეგების სტატისტიკური დამუშავება ხდებოდა სტიუდენტის ვარიაციული სისტემის მიხედვით (ციბაძე ა., ხუციშვილი ლ. 2005 წ.), რისთვისაც გამოყენებული იყო ფორმულა:

$Sp = \pm \sqrt{\frac{P(100-P)}{n-1}}$, სადაც Sp – პროცენტის ცდომილებაა, p – პროცენტის მაჩვენებლი, n - დაკვირვებათა რიცხვი.

მიღებული შედეგების განსჯა-განხილვა

სტაფილოკოკური ინფექციის მკურნალობა თანამედროვე ეტაპზე წარმოადგენს მეტად სერიოზულ პრობლემას, რომლის გადალახვის სიძნელეები დაკავშირებულია ამ მიკრობების ანტიბიოტიკებისადმი მრავლობითი რეზისტენტობის განმსაზღვ-რელი მექანიზმების გამოვლენასთან.

შევისწავლეთ *S. aureus*–ის მგრძნობიარე (I ჯგუფი), რეზისტენტული (II ჯგუფი), მულტირეზისტენტული (III ჯგუფი)

და MRSA (IV ჯგუფი) შტამების მორფოლოგიური, ტინქტორიული და კულტურალური თვისებები. ოთხივე ჯგუფის შტამები გრამის, მორფოლოგიური ნიშნების, 15°C და 45°C ტემპერატურებზე კულტივირების, 10% ნატრიუმის ქლორიდის არეში, ხორც–პეპტონიან ბულიონში ზრდის მიხედვით 100% შემთხვევაში ტიპურები არიან; ხოლო პიგმენტის წარმოქმნის უნარისა და ნოვობიოცინის მიმართ მგრძნობელობის მიხედვით შტამები შეიძლება განვალაგოთ ასეთი თანმიმდევრობით: I ჯგუფი – 60,0±6,92% და 62,0±6,86%; II ჯგუფი – 72,0±6,34% და 74,0±6,20%; III ჯგუფი – 86,0±4,90% და 84,0±5,18%; IV ჯგუფი – 96,0±2,77 – 96,0±2,77% (ცხრილი №1).

S. aureus–ის მორფოლოგიური, ტინქტორიული და კულტურალური თვისებები

ცხრილი №1

№	საიდენტიფიკაციო ნიშნები	მგრძნობიარე შტამები (I ჯგუფი) n = 50		რეზისტენტული შტამები (II ჯგუფი) n = 50		მულტირეზის-ტენტული შტამები (III ჯგუფი) n = 50		MRSA (IV ჯგუფი) n = 50	
		აბს	%	აბს	%	აბს	%	აბს	%
1	დამოკიდებულება გრამის მიმართ გრამ+	50	100	50	100	50	100	50	100
2	მორფოლოგიური ნიშნები (ტიპური)	50	100	50	100	50	100	50	100
3	პიგმენტის წარმოქმნა	30	60,00± 6,92	36	72,00± 6,34	43	86,00 ± 4,90	48	96,00 ± 2,77
4	ზრდა 15°C	50	100	50	100	50	100	50	100
5	ზრდა 45°C	50	100	50	100	50	100	50	100
6	ზრდა 10% NaCl არეში	50	100	50	100	50	100	50	100
7	მგრძნობელობა ნოვობიოცინის მიმართ	31	62,0 ± 6,86	37	74,0± 6,20	42	84,0± 5,18	48	96,0± 2,77
8	ზრდა ხორც–პეპტონიან ბულიონში	50	100	50	100	50	100	50	100

შედეგებმა აჩვენა, რომ მგრძნობიარე, რეზისტენტული, მულტირეზისტენტული და MRSA -ს შტამები მორფოლოგიური, ტინქტორიული და კულტურალური თვისებების მიხედვით ძირითადად ტიპურია და ერთნაირ დამოკიდებულებას ამჟღავნებენ. გადახრები შეინიშნება პიგმენტის წარმოქმნის უნარსა და ნოვობიოცინისადმი მგრძნობელობის მიმართ.

ცნობილია ამ მიკროორგანიზმის პათოგენობის ფაქტორების დიდი არსენალი, რომლითაც მას შეუძლია გადალახოს ადამიანის ორგანიზმის დამცველობითი ბარიერი, არაეფექტური გახადოს ანტიბაქტერიული პრეპარატები და გამოიწვიოს ფატალურად მიმდინარე პროცესები.

ზემოაღნიშნული ჯგუფების პათოგენობის ფაქტორების გამოკვლევამ (ცხრილი №2) გამოავლინა, რომ პლაზმოკუაგულაზას და ნახშირწყლების (გლუკოზა, მანიტი, ლაქტოზა, საქაროზა) აერობულ პირობებში ფერმენტაცია ოთხივე ჯგუფისთვის ერთნაირია და ტოლია შესაბამისად 80±5,65%, 82±5,43%, 86±4,90% და 100%-ის. ჰემოლიზური აქტივობა I ჯგუფისათვის – 92±3,83%, II ჯგუფისათვის – 98±1,97%, III და IV ჯგუფებისათვის 100%-ია.

S. aureus–ის პათოგენობის ფაქტორები

ცხრილი №2

№	საიდენტიფიკაციო ნიშნები	I ჯგუფი n = 50		II ჯგუფი n = 50		III ჯგუფი n = 50		IV ჯგუფი n = 50	
		აბს	%	აბს	%	აბს	%	აბს	%
1	**2**	**3**	**4**	**5**	**6**	**7**	**8**	**9**	**10**
1	პლაზმოკოაგულაზა – დადებითი	40	80,0± 5,65	41	82,0± 5,43	43	86,0± 4,90	50	100
2	კატალაზა – დადებითი	50	100	50	100	50	100	50	100
3	ურეაზა – დადებითი	30	60,0± 6,92	32	64,0± 6,78	39	78,0± 5,85	48	96,0 ± 2,77
4	ჰემოლიზური აქტივობა – დადებითი	46	92,0± 3,83	49	98,0± 1,97	50	100	50	100
5	ლეციტინაზური აქტივობა	29	58,0± 7,97	31	62,0± 6,86	41	82,0± 5,43	48	96,0 ± 2,77
6	პროტეოლიზური აქტივობა (H_2S წარმოქმნა)	36	72,0± 6,34	38	76,0± 6,1	43	86,0± 4,90	47	94,0 ± 3,35
7	მანიტის ფერმენტაცია ანაერობულ პირობებში	33	66,0± 6,69	35	70,0± 6,48	43	86,0± 4,90	46	92,0 ± 3,83

8	ნახშირწყლების (გლუკოზა, მანიტი, ლაქტოზა, საქაროზა) ფერმენტაცია აერობულ პირობებში	40	80,0± 6,65	41	82,0± 5,43	43	86,0± 4,90	50	100

ლეციტინაზური აქტივობა I ჯგუფისათვის 58,0±7,97%-ია, II ჯგუფისათვის – 62±6,86%, III და IV ჯგუფებისათვის შესაბამისად 82±5,43% და 96±2,77%-ია. ე.ი. მგრძნობიარე, რეზისტენტული შტამები III და IV ჯგუფებთან შედარებით ნაკლები ხარისხით ამჟღავნებენ პათოგენობას. ასევე ნაკლებ-აქტიური არიან I და II ჯგუფის შტამები კატალაზას, ურეაზას და პროტეაზას ფერმენტაციული უნარის მიხედვით, ვიდრე III და IV ჯგუფის შტამები. აღსანიშნავია, რომ ჯგუფებიდან პათოგენობის მხრივ ყველა ნიშნის მიხედვით აქტიურობით გამოირჩევა MRSA-ს შტამები. აქედან გამომდინარეობს, რომ პათოგენობის ფაქტორების მიხედვით, მგრძნობიარე შტამები ნაკლები აქტიურობით ხასიათდებიან რეზისტენტული, მულტირეზისტენტულ და MRSA შტამებთან შედარებით; ასევე, პათოგენობის ნიშნების მიხედვით MRSA–ს შტამები ხასიათდებიან ყველაზე მეტი აქტიურობით. *S. aureus*–ის შტამებში ყველაზე მაღალი კორელაცია ფერმენტებისა და სუბსტრატების აქტივობისადმი შეინიშნა ერთ შტამში(ფერმენტები – 86,67±9,08%, სუბსტრატები – 73,33±11,82%). ასევე ერთ შტამში ეს კორელაცია ყველაზე დაბალი იყო (ფერმენტები – 40,00±13,09%, სუბსტრატები – 53,33±13,33%). შტამებს ამ მხრივ დანარჩენ შემთხვევაში ამ პროცენტულ მაჩვენებლებს შორის შუალედური ადგილი უკავიათ.

ცნობილია, რომ მძიმე, ქრონიკული დაავადებების მქონე პირებში დაქვეითებულია იმუნური სისტემა, რის გამოც ისინი ინფექციების მიმართ ნაკლებ რეზისტენტულნი არიან. მათში ინფექციები უფრო რთულად მიმდინარეობს და ხშირია ლეტალობაც, რომელიც ხშირად სწორედ ამ ინფექციის შედეგია. ამის გამო, გამოვიკვლიეთ ონკოლოგიურ პაციენტებში *S. aureus*-ის შტამების პათოგენობის ფაქტორების ცხოველმოქმედება და აქტიურობა (ცხრილი №3). ონკოპაციენტებიდან გამოყოფილი *S. aureus*-ის საკვლევი შტამების ფერმენტული აქტივობა საკონტ-როლოსთან შედარებით გაცილებით მაღალია და მხოლოდ იშვიათ შემთხვევაში არის ერთნაირი.

ონკოპაციენტებიდან გამოყოფილი *S. aureus*-ის ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტული შტამების პათოგენობის ფაქტორების ცხოველმოქმედების ინტენსივობა

ცხრილი №3

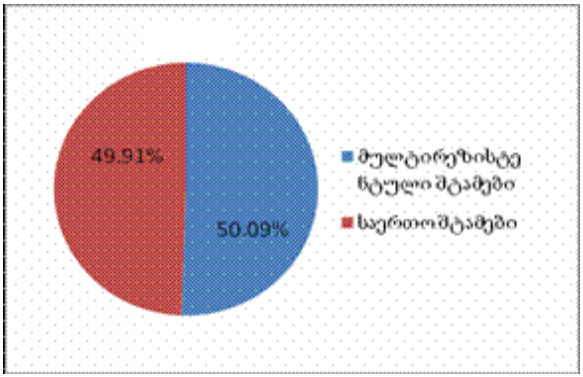
№	პათოგენობის ფაქტორები	ჰემოლიზის დიამეტრი მმ–ში		პლაზმის შედედების დრო		შარდოვანას დაშლა საათებში		მყისიერი რეაქცია	ფერთა შეცვლისინტენსიობა							
		>5	>5	15'	60'	1	24	0'	ბაცი ბაცი	ბეჟი ბაცი	ღია ყავისფერი	ბეჟი ყავისფერი	ღია წითელი	ბეჟი წითელი	მიმწ.მოყვით.	ყვითელი
1	**I ფერმენტები** ჰემოლიზინი															
	ცდა	2	14	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	კონტროლი	13	3	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
2	პლაზმოკოაგულაზა															
	ცდა	–	–	15	1	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	კონტროლი	–	–	5	11	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–
3	ურეაზა															
	ცდა	–	–	–	–	1	15	–	–	–	–	–	–	–	–	–
	კონტროლი	–	–	–	–	0	14	–	–	–	–	–	–	–	–	–
4	კატალაზა															
	ცდა	–	–	–	–	–	–	16	–	–	–	–	–	–	–	–
	კონტროლი	–	–	–	–	–	–	16	–	–	–	–	–	–	–	–
5	პროტეაზა															
	ცდა	–	–	–	–	–	–	–	3	13	–	–	–	–	–	–
	კონტროლი	–	–	–	–	–	–	–	5	4	–	–	–	–	–	–
6	ლეციტინაზა															
	ცდა	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2	10	–	–	–	–
	კონტროლი	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4	3	–	–	–	–
1	**II ნახშირწყლების ფერმენტაცია** ა)აერობული მანიტი															
	ცდა	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4	12	–	–
	კონტროლი	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	6	10	–	–
2	გლუკოზა															
	ცდა	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2	14	–	–
	კონტროლი	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	6	10	–	–
3	საქაროზა															

	ცდა კონტროლი	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	3 4	13 12	– –	– –
4	ლაქტოზა ცდა კონტროლი	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	2 6	14 10		
	ზ)ანაერობული მანიტი ცდა კონტროლი	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	– –	4 7	12 9

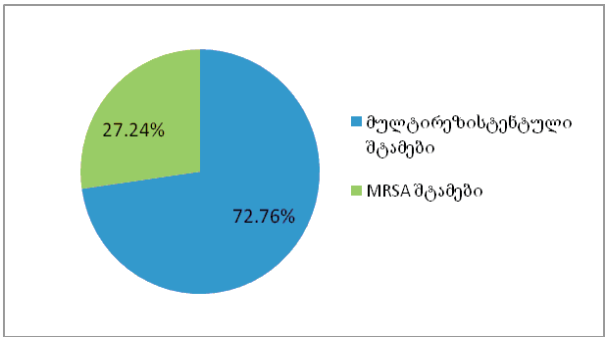
შედეგები აჩვენებს, რომ ონკოლოგიური პაციენტებიდან გამოყოფილი *S. aureus*-ის შტამების პათოგენობის ფაქტორები თავიანთი ცხოველმოქმედებითა და აქტიურობით, აგრესიულობით ბევრად აღემატება არაონკოლოგიური პაციენტებიდან გამოყოფილი შტამების პათოგენობის ფაქტორებს. ფერმენტი კატალაზა მაქსიმალური აქტიურობით ხასიათდება როგორც საცდელ, ისე საკონტროლო შტამებში. თანაბარი აქტიურობით ხასიათდებიან პლაზმოკოაგულაზა და ურეაზა, შემდეგ ადგილებს კი იკავებენ ჰემოლიზინი, პროტეაზა და ლეციტინაზა. *S. aureus*-ის საიდენტიფიკაციო ნახშირწყლების ფერმენტაცია სხვადასხვაგვარია. მეტი აქტიურობით ხასიათდება გლუკოზა და ლაქტოზა, შემდეგ ადგილზეა საქაროზა და მანიტი, რომელიც აერობულ და ანაერობულ პირობებში თანაბარი აქტიურობით ხასიათდება.

მიკროორგანიზმების ანტიბიოტიკორეზისტენტული შტამების ფართო გავრცელებამ დიდი პრობლემების წინაშე დააყენა სამედიცინო საზოგადოება. ამ მხრივ განსაკუთრებულ ყურადღებას იქცევს *S. aureus* -ით გამოწვეული მრავალრიცხოვანი და მძიმედ მიმდინარე ინფექციები.

2008-2012 წლებში ქ.თბილისში გამოყოფილი *S. aureus*–ის შტამების ანტიბიოტიკორეზისტენტობის შესწავლამ გამოავლინა მულტირეზისტენტული შტამები. დავადგინეთ მათი შეხვედრის სიხშირე წლების, ასაკის, სქესისა და გამოყოფის წყაროების მიხედვით. ჩვენ მიერ შესწავლილი 557 *S.aureus*–ის შტამიდან რეზისტენტულია 355, რაც შესწავლილი შტამების 63,73%-ია. 279 შტამი, ე.ი. 50,09% მულტირეზისტენტული აღმოჩნდა, რომელთა შორის 76, ე.ი. 27,24% MRSA შტამია (დიაგრამა № 1 და 2).



დიაგრამა №1 *S.aureus*–ის შტამებში მულტირეზისტენტობის გავრცელება



დიაგრამა №2 MRSA შეხვედრის სიხშირე *S.aureus*–ის მულტირეზისტენტულ შტამებში

დადგინდა, რომ აღნიშნულ წლებში გამოყოფილი მულ-ტირეზისტენტული *S.aureus*–ის შტამების რაოდენობა მერყეობს 34,88±2,85%–დან 60,43±2,93%–მდე. *S.aureus*–ის მულტირეზის-ტენტული შტამების შეხვედრის სიხშირის მატება შეინიშნება 2011 – 2012 წლებში, შესაბამისად - 58,71±2,94%–დან 60,43±2,93%–მდე, ხოლო 2008 წლიდან 2010 წლამდე ეს მაჩვენებელი შემცირებულია - 54,11±2,98%-დან 34,88±2,85%–მდე (ცხრილი №4).

S.aureus–ის მულტირეზისტენტული შტამები წლების, სქესის და ასაკის მიხედვით n=279

ცხრილი №4

№	წლები	შტამების რაოდენობა			სქესი				ასაკობრივი ჯგუფები n=279				
		შტამების საერთო რაოდენობა	მულტირეზისტენ ტული შტამები		მდედრ.		მამრობ.						
			აბს	%	აბს	%	აბს	%	1 - 5	5 - 20	20 - 40	40 - 60	60>
1	2008	85	46	54,11±2,98	19	41,30±2,94	27	58,69± 2,94	3	9	15	13	6
2	2009	99	49	49,49±2,99	19	38,77±2,92	30	61,22± 2,92	4	6	21	15	3
3	2010	105	36	34,88±2,85	15	41,66±2,95	21	58,33± 2,93	2	8	15	8	3
4	2011	109	64	58,71±2,94	29	45,31±2,97	35	54,69± 2,98	5	15	25	13	6
5	2012	139	84	60,43±2,93	35	41,66±2,95	49	58,33± 2,93	8	23	26	19	8
6	სულ	557	279	50,09±2,99	117	41,93±2,94	162	58,06± 2,91	22	61	10 2	68	26

აღსანიშნავია, რომ 2008 წლის მაჩვენებელი თითქმის უტოლდება 2011–2012 წლების მაჩვენებელს. ჩვენ მიერ შესწავ-ლილი ასაკობრივი ჯგუფების მულტირეზისტენტული შტამების შეხვედრის სიხშირე მთლიანობაში შეიძლება განვალაგოთ შემდეგი თანმიმდევრობით: 0-5 ასაკობრივი ჯგუფი - 22 შემთხვევა, 60-ზე მეტი ასაკის - 26; 5-20 ასაკის – 61; 40-60 ასაკის - 68; 20-40 ასაკის – 102 (ცხრილი№4).

რაც შეეხება გამოყოფის წყაროებს, ყველაზე მეტი რაო-დენობით *S.aureus*–ის მულტირეზისტენტული შტამები გამოიყო პირის ღრუდან – 54 შტამი, ხახიდან და ჭრილობიდან 40–40 შტამი. ხოლო დანარჩენ შემთხვევებში მათი რაოდენობები ერთმა-ნეთისგან მეტ-ნაკლებად განსხვავდებიან რაოდენობის მიხედვით.

დავადგინეთ *S.aureus*–ის მულტირეზისტენტული შტამე-ბის გამძლეობა სხვადასხვა ჯგუფის ანტიბიოტიკებისადმი. ცდის შედეგები მოცემულია №5 ცხრილში.

S. aureus–ის მულტირეზისტული შტამების რაოდენობა სხვადასხვა

ჯგუფის ანტიბიოტიკებისადმი (n = 279)

ცხრილი N5

№	ანტიბიოტიკების დასახელება	რეზისტენტული შტამების რიცხვი	
		აბს	%
	ბეტა-ლაქტამიდები		
1	პენიცილინი	272	97.50±0.94
2	ამპიცილინი	268	96.05±1.17
3	ოქსაცილინი	151	54.12±2.99
4	ცეფოქსიტინი	210	75.27±2.58
5	იმიპენემი	96	34.41±2.85
	ამინოგლიკოზიდები		
6	კანამიცინი	195	69.85±2.75
7	ტობრამიცინი	223	79.92±2.40
8	გენტამიცინი	218	78.14±2.47
9	სტრეპტომიცინი	238	85.30±2.12
10	ამიკაცინი	207	74.19±2.62
	ქინოლები		
11	ციპროფლოქსაცინი	165	59.14±2.95
12	ნორფლოქსაცინი	160	53.76±2.99
13	მოქსიფლოქსაცინი	180	64.52±2.87
	ტეტრაციკლინები		
14	ტეტრაციკლინი	180	64.52±2.87
15	დოქსიციკლინი	156	55.91±2.97
	მაკროლიდები		
16	ერითრომიცინი	206	73.83±2.64
17	კლარითრომიცინი	157	56.27±2.98
18	აზიტრომიცინი	162	58.06±2.96
	ლინკოზამიდები		
19	კლინდამიცინი	205	73.48±2.64
	გლიკოპეპტიდი		
20	ვანკომიცინი	63	22.58±2.51
	სხვა პრეპარატები		
21	რიფამპიცინი	115	41.21±2.95
22	ფუზიდინი	191	64.46±2.87
23	ქლორამფენიკოლი	218	78.14±2.47

ანტიბიოტიკების განხილული ჯგუფებიდან შედარებით მაღალრეზისტენტული და ეფექტურია β–ლაქტამიდების წარმომადგენელი იმიპენემი და გლიკოპეპტიდების ჯგუფის წარ-მომადგენელი ვანკომიცინი. საშუალო ეფექტურობის ანტიბიო-ტიკები ძირითადად გვხვდებიან ქინოლების, ტეტრაციკლინებისა და მაკროლიდების ჯგუფებში. არაეფექტური ანტიბიოტიკები ყველაზე მეტი რაოდენობით გვხვდება β-ლაქტამებისა და ამინოგლიკოზიდების ჯგუფებში.

S.aureus–ის შტამების ანტიბიოტიკორეზისტენტობის შესწავლამ 23 ანტიბიოტიკისადმი გვიჩვენა, რომ მულტირეზისტენტობის ამპლიტუდა საკმაოდ მაღალია და მერყეობს 3-დან 23 პრეპარატამდე. მიკროორგანიზმებში ანტიბიოტიკებისადმი რეზისტენტობა უმრავლეს შემთხვევაში განპირობებულია არაქრომოსომული ელემენტით – R-პლაზმიდით. ამის გამო, შევისწავლეთ *S. aureus*-ის მულტირეზისტენტულ შტამებში R-პლაზმიდების გავრცელების სიხშირე, გამოკვლეული შტამების 80,0±5,96% შეიცავდა R-პლაზმიდას.

განვსაზღვრეთ ანტიბიოტიკების ის რიცხვი, რომლებმაც მულტირეზისტენტობა განაპირობა, ყველაზე დიდი სიხშირით გვხვდება 7 და 8 დასახელების ანტიბიოტიკისადმი მულტირეზისტენტული შტამები, ხოლო ყველაზე ნაკლებად - 3, 4 და 11 დასახელების ანტიბიოტიკისადმი.

შევისწავლეთ R-პლაზმიდაშემცველი შტამების ანტიბიოტიკომგრძნობელობა.

ცდის შედეგები მოცემულია №6 ცხრილში.

R-პლაზმიდიანი შტამების ანტიბიოტიკორეზისტენტობა n=36

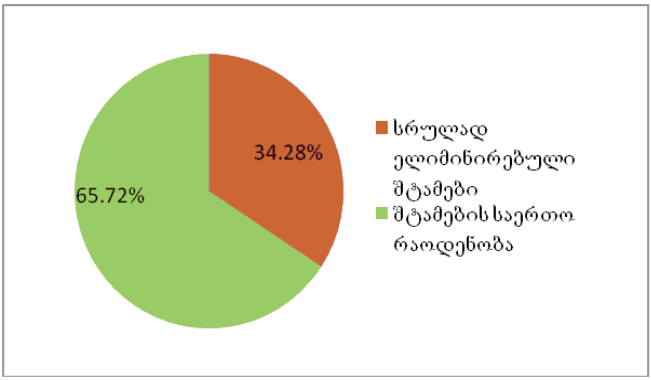
ცხრილი №6

N	ანტიბიოტიკის დასახელება	რეზისტენტული შტამების რიცხვი	
		აბს.	%
1.	ბენზილპენიცილინი	6	16,66±3,78
2.	ამპიცილინი	4	11,11±5,23
3.	ოქსაცილინი	2	5,55±3,79
4.	ცეფოქსიტინი	0	-
5.	იმიპენემი	0	-
6.	კანამიცინი	1	2,77±2,70
7.	ტობრამიცინი	0	-
8.	გენტამიცინი	2	5,55±3,79
9.	სტრეპტომიცინი	2	5,55±3,79
10.	ამიკაცინი	2	5,55±3,79
11.	ციპროფლოქსაცინი	1	2,77±2,70
12.	ნორფლოქსაცინი	1	2,77±2,70

13.	მოქსიფლოქსაცინი	2	5,55±3,79
14.	ტეტრაციკლინი	2	5,55±3,79
15.	დოქსიციკლინი	0	-
16.	ერითრომიცინი	3	8,33±4,59
17.	კლარითრომიცინი	2	5,55±3,79
18.	აზიტრომიცინი	3	8,33±4,59
19.	კლინდამიცინი	2	5,55±3,79
20.	ვანკომიცინი	1	2,77±2,70
21.	რიფამპიცინი	2	5,55±3,79
22.	ფუზიდინი	3	8,33±4,59
23.	ქლორამფენიკოლი	2	5,55±3,79

ამ შედეგებიდან ჩანს, რომ R-პლაზმიდიანი შტამები შედარებით მაღალრეზისტენტულია ბენზილპენიცილინის (16,66±3,78%), ამპიცილინის (11,11±5,23%) მიმართ, ხოლო დანარჩენი პრეპარატებისადმი საშუალო და დაბალ რეზისტენტობას ამჟღავნებს. არ გამოვლენილა რეზისტენტობა ცეფოქსიტინის, იმიპენემის, ტობრამიცინის, დოქსიციკლინის მიმართ.

მოვახდინეთ *S. aureus*–ის მულტირეზისტენტული შტამებიდან R–ფაქტორის ელიმინაცია მაღალი ტემპერატურის გამოყენებით. შტამები ელიმინაციამდე მრავალი ანტიბიოტიკისადმი გამძლეობის მიხედვით სხვადასხვა სურათს იძლევიან. სტატისტიკური დამუშავების მიხედვით, სრულად ელიმინირებული 12 შტამის საერთოდ მოცემული შტამების რაოდენობასთან (35 შტამი) მიმართებაში სტანდარტული გადახრის მაჩვენებელი შეადგენს ±8,14%–ს და 34,28±8,14%–ია (იხ. დიაგრამა №3).



დიაგრამა №3 *S. aureus*-ის მულტირეზისტენტულ შტამებში R-პლაზმიდების სრული ელიმინაცია

ელიმინაციამდე ყველაზე მეტი სიხშირით გვხვდება ამპიცილინი და ამოქსაცილინი (94,28±2,36%); (ცხრილი №7): თანმიმდევრობის მიხედვით შემდეგ ადგილს იკავებენ: კანამიცინი (80,00±6,76%), პენიცილინი (74,28±7,65%), კარბენიცილინი და აზიტრომიცინი – თითოეული (71,43±7,65%); სტრეპტომიცინი (65,71±8,02%), ერითრომიცინი (60,00±8,28%), გენტამიცინი (57,14±8,36%), ციპროფლოქსაცილინი (51,43±8,44%)

S. aureus - ის შტამების რეზისტენტობა ელიმინაციამდე და ელიმინაციის შემდეგ n=35

ცხრილი №7

№	ანტიბიოტიკის დასახელება	ელიმინაციამდე		ელიმინაციის შემდეგ	
		აბს	%	აბს	%
1	ამპიცილინი	33	94,28±2,36	14	40,00±8,40
2	პენიცილინი	26	74,28±7,39	3	8,57±4,80
3	კარბენიცილინი	25	71,43±7,65	15	42,85±8,36
4	ამოქსაცილინი	33	94,28±2,36	3	8,57±4,80
5	სტრეპტომიცინი	23	65,71±8,02	1	2,85±2,80

6	კანამიცინი	28	80,00±6,76	5	14,29±5,98
7	გენტამიცინი	20	57,14±8,36	0	-
8	ციპროფლოქსაცინი	18	51,43±8,44	0	-
9	ერითრომიცინი	21	60,00±8,28	1	2,85±2,80
10	აზიტრომიცინი	25	71,43±7,65	2	5,71±3,79

ელიმინაციის შემდეგ შტამების რეზისტენტობის შენარ-ჩუნების მიხედვით ზემოაღნიშნული თანმიმდევრობა იცვლება. ყველაზე მაღალი მაჩვენებელი აქვს კარბენიცილინს (42,85±8,36%), შემდეგია ამპიცილინი (40,00±8,40%), კანამიცინი (14,29±5,98%). ამპიცილინსა და ამოქსიცილინს აქვს ერთნაირი მაჩვენებელი (8,57±4,80%); აზიტომიცინი (5,71±4,80%), სტრეპტომიცინი (2,85±2,80%), ხოლო გენტამიცინისა და ციპროფლოქსაცინის შემთხვევაში შტამებმა მთლიანად დაკარგეს რეზისტენტობა. ცდაში მოცემული ყველა ანტიბიოტიკი დაემორჩილა ელიმინაციის ფაქტორს – კერძოდ, მაღალ ტემპერატურაზე - 48ºC თბურ დამუშავებას; ანტიბიოტიკის თითქმის ნახევარმა განიცადა სრული ელიმინაცია; მათ შორის ყველაზე მეტი სიხშირით ელიმინაცია განიცადა β–ლაქტამიდების ჯგუფის ანტიბიოტიკების უმრავ-ლესობამ. სტატისტიკური დამუშავების მიხედვით, სრულად ელიმინირებული 12 შტამის, მოცემული შტამების საერთო რაო-დენობასთან (35 შტამი) მიმართებით, სტანდარტული გადახრის მაჩვენებელი შეადგენს ±8,14%–ს და 34,28±8,14 %–ს.

2.3. დასკვნები

1. *S. aureus*-ის მგრძნობიარე, რეზისტენტული, მულტირეზისტენტული და MRSA-ს შტამები მორფოლოგიური, ტინქტორიული და კულტურალური თვისებების მიხედვით ძირითადად ტიპურია და ერთნაირ დამოკიდებულებას ამჟღავნებენ შესწავლილი ფაქტორების მიმართ. პათოგენობის ნიშნების მიხედვით MRSA–ს შტამები ხასიათდებიან ყველაზე მეტი აქტიურობით.
2. *S. aureus*-ის შტამებში გამოვლინდა ყველაზე აქტიური ხუთი ფერმენტი - ADHL, dMAL, dMNE, SAC, dTRE. საიდენტიფიკაციო სუბსტრატებიდან ყველაზე მეტი აქტიურობით გამოირჩევა MBdG OPTO; ყველაზე მაღალი კორელაცია ფერმენტებისა და სუბსტრატების აქტივობისადმი შეინიშნა ერთ შტამში (ფერმენტები – 86,67±9,08%, სუბსტრატები – 73,33±11,82%). ასევე ერთ შტამში ეს კორელაცია ყველაზე დაბალი იყო (ფერმენტები – 40,00±13,09%, სუბსტრატები – 53,33±13,33%).
3. ონკოლოგიური პაციენტებიდან გამოყოფილი *S. aureus*-ის შტამების პათოგენობის ფაქტორები თავიანთი ცხოველმოქმედებითა და აქტივობით, ბევრად აღემატება არაონკოლოგიური პაციენტებიდან გამოყოფილი შტამების პათოგენობას;
4. *S. aureus*–ის მულტირეზისტენტული შტამების შეხვედრის სიხშირე მეტია მამაკაცებში (58,06±2,91%), ვიდრე ქალებში (41,93±2,94%); ასაკობრივ ჯგუფებში *S. aureus*–ის მულტირეზისტენტული შტამების რიცხვი მერყეობს 22 შემთხვევიდან (0-5 ასაკობრივი ჯგუფი) 102 შემთხვევამდე (20-40 ასაკობრივი ჯგუფი); ყველაზე მეტი რაოდენობით *S.aureus*–ის მულტირეზისტენტული შტამები გამოიყო პირის ღრუდან – 54 შტამი, ხახიდან და ჭრილობიდან 40–40 შტამი. დანარჩენ შემთხვევებში (სისხლი, შარდი, პერიტონეული სითხე და სხვ.), ისინი ერთმანეთისგან მეტ-ნაკლებად განსხვავდებიან რაოდენობის მიხედვით.
5. *S.aureus*–ის ადგილობრივი შტამების 63,73% რეზისტენტულია, ხოლო 50,09% - მულტირეზისტენტული, რომელთა შორის 27,24% MRSA შტამია.

6. 2008-2012 წლებში გამოყოფილი *S.aureus*–ის მულტირეზისტენტული შტამების რაოდენობა მერყეობს 34,88±2,85%–დან 60,43±2,93%–მდე. მულტირეზისტენტული შტამების შეხვედრის სიხშირის მატება შეინიშნება 2011–2012 წლებში, შესაბამისად - 58,71±2,94%–დან 60,43±2,93% – მდე.
7. *S.aureus*–ის ადგილობრივ შტამებში მულტირეზისტენტობის ამპლიტუდა საკმაოდ მაღალია და მერყეობს 3-დან 23 დასახელების პრეპარატამდე. ყველაზე დიდი სიხშირით გვხვდება 4 და 8დასახელების ანტიბიოტიკისადმი მულტირეზისტენტული შტამები, ხოლო ყველაზე ნაკლებად - 19, 21, 23დასახელების ანტიბიოტიკისადმი.
8. *S.aureus*–ის მულტირეზისტული შტამების მიმართ ეფექტურია β–ლაქტამიდების წარმომადგენელი იმიპენემი და გლიკოპეპტიდების ჯგუფის წარმომადგენელი ვანკომიცინი. საშუალო ეფექტურობის ანტიბიოტიკები ძირითადად გვხვდება ქინოლების, ტეტრაციკლინებისა და მაკროლიდების ჯგუფებში. არაეფექტური ანტიბიოტიკები ყველაზე მეტი რაოდენობით გვხვდება β-ლაქტამებისა და ამინოგლიკოზიდების ჯგუფებში.
9. *S. aureus*-ის მულტირეზისტენტულ შტამებში R-პლაზმიდების გავრცელების სიხშირე 80,0±5,96%-ია.
10. R-პლაზმიდაშემცველი შტამები შედარებით მაღალრეზისტენტულია ბენზილპენიცილინის (16,66±3,78%), ამპიცილინის (11,11±5,23%) მიმართ, ხოლო დანარჩენი პრეპარატებისადმი საშუალო და დაბალრეზისტენტობას ამჟღავნებს. არ გამოვლენილა რეზისტენტობა ცეფოქსიტინის, იმიპენემის, ტობრამიცინის, დოქსიციკლინის მიმართ.
11. ცდაში მოცემული ყველა ანტიბიოტიკი ემორჩილება მაღალი ტემპერატურით ელიმინაციის ფაქტორს – კერძოდ, მაღალ ტემპერატურაზე - 48ºC თბურ დამუშავებას; სრული ელიმინაცია განიცადა შტამების 34,28±8,14%-მა. ყველაზე მეტი სიხშირით ელიმინაციას განიცდიან β–ლაქტამიდების ჯგუფის ანტიბიოტიკების უმრავლესობა.

3. დისერტაციის თემასთან დაკავშირებული პუბლიკაციების ნუსხა

1. Sh. Khetsuriani, Kh. Pochkhua, M. Chitaladze, K. Khetsuriani. Frequency of Occurrence of Multiresistant Strains of *Staphylococcus aureus* Isolated in Tbilisi (2008-2012). Advances in Medicine and Biology. Volume 72, 2013 https://www.novapublishers.com/ catalog/ product_info.php?products_id=45364
2. Kh.Pochkhua, Sh. Khetsuriani, M. Chitaladze, K. Khetsuriani, L. Gabunia. Biological characteristics of *Staphylococcus aureus* multiresistant strains. Experimental and Clinical Medicine, 2013, # 2, p128-132 www.jecm.ge
3. ხ. ფოჩხუა, შ. ხეცურიანი, კ. ხეცურიანი, მ. ჩიტალაძე, ლ. გაბუნია *Staphylococcus aureus*-ის შტამებში გამოვლენილი ენზიმები. ექსპერიმენტული და კლინიკური მედიცინა, 2014, #1, 43-47გვ.www.jecm.ge

მადლობები. *S. aureus*-ის შტამების გარკვეული ნაწილი და ინფორმაციები მოწოდებულიაქ.თბილისის კლინიკა „ავერსი“–ს, გ.ელიავას სახელობის მიკრობიოლოგიის, ბაქტერიოლოგიისა და ვირუსოლოგიის სამეცნიერო–კვლევითი ინსტიტუტისა და ვ.ბოჭორიშვილის სახელობის სეფსისის კვლევითი ცენტრის თანამშრომლების მიერ, რისთვისაც მათ ვუხდით მადლობას.

Грузинский Университет имени Св. Андрея Первозванного
Патриаршества Грузии

Школа (факультет) информатики, математики и естественных наук

на правах рукописи

Образовательная программа - Биотехнология

Хатуна Почхуа

Антибиотикорезистентность *S. aureus* выделенного в г. Тбилиси (2008-2012 годы)

Работа представлена на соискание академической степени доктора биологии

Диссертационный вестник

направление - 05 Естественные науки

отрасль / специальность – 0504 Биология / Науки изучающие жизнь

Тбилиси

2015

Диссертационная работа выполнена в Грузинском Университете им. Святого Андрея Первозванного Патриаршества Грузии, на факультете информатики, математики и естественных наук и в Тбилисском государственном медицинском университете

Научные руководители: **1. Клара Хецуриани**
доктор биологические наук, профессор

2. Шорена Хецуриани
академический доктор медицины

Официальные оппоненты: **1. Зураб Ломтатидзе**
доктор биологические наук, профессор

2. Ирина Дгебуадзе
академический доктор биологии

Защита диссертации состоится “ 27” июля 2015г. в 15 часов на заседании Диссертационной Комиссии Грузинского Университета им. Св. им. Андрея Первозванного Патриаршества Грузии, на факультете информатики, математики и естественных наук

Адрес: 0162, Тбилиси, ул. И.Чавчавадзе №53а, аудитория им. И.Векуа

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Грузинского Университета им. Св. Андрея Первозванного Патриаршества Грузии

Автореферат разослан “ 27.06 ” 2015 г.

Учёный секретарь Совета,

Академический доктор физико-математических наук, профессор,

Георгий Макацария

Содержание

1. Общая характеристика работы ---------- 29

1.1. Актуальность темы ---------- 29

1.2. Основная цель и задачи исследования ---------- 30

1.3. Научная новизна и основные результаты работы -------- 30

1.4. Теоретические и методологические основы исследования ---------- 31

1.5. Теоретическая ценность работы ---------- 31

1.6. Практическая значимость работы---------- 31

1.7. Структура и объем работы ---------- 32

2. Основное содержание работы ---------- 32

2.1. Введение ---------- 32

2.2. Аннотация глав---------- 32

2.3. Выводы---------- 47

3. Список публикаций, отражающих тематику диссертации ---------- 48

1. Общая характеристика работы

1.1. **Актуалность темы:** Инфекции, вызванные резистентными микроорганизмами, трудно поддаются лечению. Срок болезни затягивается, высок уровень смертности и высоки затраты на медицинское обслуживание. Проблему усложняет и то, что причина распространения резистентности, в основном, мультифакторная и окончательно не установлена. По рекомендации Международной Организации Здравоохранения, во всех регионах мира обязателен системный и координированный мониторинг антибиотикорезистентности.

Среди заболеваний, вызванных резистентными микроорганизмами, значительны инфекции, вызванные *S. aureus*. Особенно большую роль они играют в развитии госпитальных инфекций. Абсолютное большинство послехирургических и послеродовых осложнений непосредственно связаны с этими микроорганизмами. Несмотря на то что грамотрицательные микроорганизмы являются одним из найглавнейших этиологических факторов гнойных инфекций, на сегоднящный день стафилококки своей удельной долей остаются одним из значительных госпитальных патогенов. Известно, что стафилококковые госпитальные штаммы быстро приобретают резистентность к антибиотикам, возникают вследствие их селекционного действия и удерживают высокую конкурентноспособность к другим штаммам.

На современном этапе лечение стафилококковых инфекций является острой проблемой. Это определяется множественной резистентностью этих микробов к антибиотикам, что связано с определённым генетическим механизмом.

В последние годы широко изучался вопрос резистентности стафилококка к метициллину. Характерная особенность MRSA-штамма множественная резистентность, а также одновременная резистентность к пенициллину и цефалоспоринам. По причине его высокой резистентности и частых смертей пациентов его назвали “superbug”-ом.

Особенное внимание привлекает возможность выявления корреляции стафилококка между антибиотикорезистентного и патогенного свойств микроба. Не менее интересно установление генетической природы антибиотикорезистентности. Для этого значительное значение принимает выявление и изучение распространения элементов R–плазмидов в штаммах микробов.

Установлено, что в этом отношении положение в Грузии хуже, чем в развитых странах, что вызвано лёгкой доступностью, до нынешнего периода, приобретения антибиотиков без рецепта, малым числом бактериологических исследований и неспособностью восприятия проблемы медперсоналом. А это является риск фактором развития резистентности.

1.2. Основная цель и задачи исследования

Целью данного научного труда являлось изучение микробиологических свойств выделенных в г. Тбилиси в 2008–2012 годах штаммов *S. aureus*, распространения MRSA-

штаммов, определение их резистентности к антибиотикам и выявление нехромосомных ДНК, определяющих эту резистентность.

Для достижения данной цели, сочли целесообразным осуществление следующих задач: составление сравнительной характеристики микробиологических свойств выделенного в г. Тбилиси *S. aureus*; выявление антибиотикорезистентных штаммов по годам (2008–2012), возрасту и полу; изучение резистентности S. aureus к метициллину *in vitro*; (как возможного индикатора множественной резистентности к антибактериальным препаратам) распространение мультирезистентности и определение его генетического механизма.

1.3. Научная новизна и основные результаты работы

Установлено распространение в последние годы резистентности *S. aureus* штаммов к различным группам и поколениям антибиотиков; на примере выделенных в г.Тбилиси штаммов, установлена частота встреч MRSA-штаммов также с плазмидами – детерминантами резистентности к антибиотикам; определена динамика изменений резистентности к антибиотикам в 2008–2012 годах; Выявлены самые высокоактивные ферменты в *S. aureus* штаммах (ADHL, dMAL, dMNE, SAC, dTRE) и идентификационные субстраты (MBdG, OPTO); На основе сравнительного изучения факторов патогенности выделенных из онкологическых пациентов *S. aureus* штаммов было установлено, что они своей жизнедеятельностью, активностью и агрессивностью значительно превосходят патогенность штаммов, выделенных из неонкологических пациентов.

1.4. Теоретические и методологические основы исследования

В основе данного труда лежит сравнительное изучение микробиологических особенностей выделенных в 2008–2012 годах из стационаров г. Тбилиси *S. aureus* штаммов, выявление резистентности к антибиотикам, частота встреч MRSA-штаммов, установление распространения R-плазмидов.

Для установления чувствительности стафилококков к антибиотикам, были использованы общепринятые методы

диффузии и серийного растворения в агари препаратов. Для выявления плазмидов был использован метод эллиминации с высокой температурой.

1.5. Теоретическая ценность работы

По результатам исследования были определены микробиологические свойства штаммов *S. aureus* и его резистентность к антибиотикам.

1.6. Практическая значимость ценность работы

Сравнительная характеристика резистентности к антибиотикам выделенных г. Тбилиси из пациентов *S. aureus* штаммов, даёт возможность определить диапазон распространения *S. aureus* штаммов в разных стационарах. Установление резистентности к метициллину даёт возможность определения факта множественной резистентности, что имеет большое значение для эпидемиологии госпитальных инфекций, а также для эффективного этиотропного лечения больных. Полученные результаты надо иметь в виду для оценки проблемы антимикробной резистентности в стране. Изучение антибиотикорезистентности *S. aureus* даст возможность найти пути его превенции в Грузии.

1.7. Структура и объем работы

Диссертация объемлет введение, материалы и методы исследования, результаты собственных изысканий, обсуждение результатов, выводы, список использованной литературы (115 источников). Она иллюстрирована 15-ю таблицами и 10-ю диаграммами. Труд содержит 127 страниц.

2. Основное содержание работы

2.1. Введение

2.2. Аннотация глав

Исследованию подлежали 557 клинических изолянтов *S. aureus*. Их идентификация происходила соответствующими методами (Берджи - определитель бактерий. 1998., Baron, Lance K. and at all 1994.; 27. Покровский В.М. 1999). Были использованы предусмотренные этим методами питательные среды и реактивы, в частности, исследование производилось по морфолигическим, тинкториальным, культуральным и биохимическим признакам. Изучение штаммов происходило по морфологическим (колонии), микроскопическим (клетка) и тинкторическим (метод Грамма) признакам.

Для изучения культуральных свойств, были использованы мясо-пептонный агар, мясо-пептонный бульон, 5%-ный кровяной, желтково-солёный, молочно-солёный агар Эйкмана; также исследовали способность культивирования штаммов при низкой - 15ºС и высокой - 45ºС температурах по способности роста.

Исследование биохимических особенностей происходило производством каротиноидного пигмента, ферментацией углеродов в аэробных и анаэробных условиях, урэазной, каталазной, гемолитической, коагулазной, протеолизной, лецитиназной активностью и определением чувствительности к новобиоцину. Для воспроизводства штаммами каротиноидного пигмента, задерживание культуры происходило на 37ºС в течение 24 часов на молочно-солёном агаре. Для определения гемолитической активности была применена 5%-я кровяный агар. Зона гемолиза вокруг колонии указывала на положительную реакцию. Лецитиназная активность определялась на желтково-солёной среде. Помутнение почвы с радугоподобной короной к периферии вокруг колонии указывало на активность фермента лециназы. Особенность роста в бульоне была изучена в мясо-пептонном бульоне с инкубацией. Равномерное помутнение бульона указывало на типичность штамма.

Рост исследуемых штаммов на мясо-пептонном агаре при температурах 15ºС и 45ºС указывал на присущее стафилококку свойство.

Для ферментации углеродов в анаэробных условиях, была использована 0,3%-я полужидкая среда Хиу-Леипсона с 1%-м составом глюкозы.

Для определения способности к ферментации углеродов в аэробных условиах, изготовлялась 1%-я пептонная вода с 2 мл-ми реактива Андреде.

После 24-часовой инкубации, при температуре 37ºС красная окраска среды указывала на ферментацию углеродов.

Определение урэазной активности штаммов осуществлялось внесением исследуемого материала реактивом (2% жидкости мочевины 0,01М в фосфатном буфере + фенол красный и азид натрия). Во время 1, 2, 4 и 24 - часового наблюдения, смена бледно-розового цвета на малиновый указывала на ферментацию мочевины.

Распад раствора 3%-ой перекиси водорода при внесении в него культуры указывало на существование фермента каталазы.

Для определения плазмокоагуляции был использован быстрый метод. В частности, на предметном стекле в стерильной капле воды изготовлялась суспензия штамма. К нему добавлялась разбавленная 1:5 капля кровяной плазмы. В случае положительного результата, плазма сгущалась в течение 15-60 секунд.

Для определения протеолизной активности, в 2%-й раствор пептона бактериологической петлей помещалась исследуемая бактериальная культура. При температуре 37ºС после 24-часовой инкубации, почернение опущенной в пробирку увлажненной в ацетате свинца индикаторной бумаги, вследствие возникновения сульфида свинца, указывало на ферментацию белка.

Дополнительным тестом идентификации *S. aureus* являлось определение чувствительности к новобиоцину. МбК соответсвовало 2 мкг/мл.

Для изучения антибиотикорезистентности были использованы 2 метода: диско-диффузный и Biomerieux анализатор типа VITEK2. Этот последний был использован в определённой части исследования, посредством чего, в автоматическом режиме принималась информация как об идентификации *S. aureus*, так и о его антибиотикорезистентности. Во время использования диско–диффузного метода были использованы стандартные диски британского производства.

Для определения антибиотикорезистентности идентифицированных штаммов были использованы 24 антибиотика различных групп - как старого, так и нового поколения.

Мультирезистентным считался штамм, который проявлял стойкость к 3-м или более антибиотикам.

Для определения присутствия R-фактора в выделенных мультирезистентных штаммах, была использована высокая температура - 48ºС (Kado C.I., Liu S.T. 1981). Для установления элиминации исследумых штаммов устанавливалась их резистентность к антибиотикам как – до, так и после элиминации (May T.W., Haughton K.H., Perret C. 1964). Элиминацией плазмида считалось утрачивание штаммом резистентности к антибиотику, определяющему резистентность.

Статистическая обработка результатов эксперимента происходила по вариционной системе Стюдента (Цибадзе А. Хуцишвили Л. 2005 год), для чего была использована формула: $Sp = \pm \frac{P(100-P)}{n-1}$; где Sp – разница процентов, p – указатель процента, n– число наблюдений.

Исследование и обзор полученных результатов

На современном этапе, лечение стафилококковых инфекций является весьма серьёзной проблемой,решение которой сильно усложняется трудностью выявления механизма, определяющего множественную резистентность этих микробов к антибиотикам.

Мы изучили морфологические, тинкториальные и культуральные свойства чувствительных (I группа), резистентных (II группа), мультирезистентных (III группа) и MRSA штаммов.

Штаммы всех четырёх групп по Грамму, морфологическим признакам, при культивировании на температурах - 15ºС и 45ºС, в 10%-ом хлориде натрия, по росту в мясопептонном бульоне на 100%-ов являютсятиптчными; а по возможности появления пигмента и по чувствительности к новобиоцину штаммы можно расположить в такой последовательности: I группа - 60,0±6,92% и 62,0±6,86%; II группа - 72,0±6,34% и 74,0±6,20%; III группа - 86,0±4,90% и 84,0±5,18%; IV группа - 96,0±2,77%-96,0±2,77% (таблица №1)

Морфологические, тинкториальные и культуральные свойства *S. aureus*

Таблица №1

№	Идентификационные знаки	Чувствительные штаммы (I группа) n=50		Резистентные штаммы (II группа) n=50		Мультирезис—тентные штаммы (III группы) n=50		MRSA (IV группа) n=50	
			%		%		%		%
1	Отношение к Грамму Грам +	50	100	50	100	50	100	50	100
2	Морфологические признаки (типичные)	50	100	50	100	50	100	50	100
3	Возникновение пигмента	50	60,0±6,92	36	72,0±6,34	43	86,0±4,90	48	96,0±2,77
4	Рост при 15°С	30	100	50	100	30	100	30	100
5	Рост при 45°С	50	100	50	100	50	100	50	100
6	Рост в 10%-й среде NaCl	50	100	50	100	50	100	50	100
7	Чувствительность к новобиоцину	31	62,0±6,86	37	74,0±6,20	42	84,0±5,18	48	96,0±2,77
8	Рост в мясо-пептонном бульоне	50	100	50	100	50	100	50	100

Результаты показали, что чувствительные, резистентные, мультирезистентные и MRSA штаммы по морфологическим, тинкториальным и культуральным свойствам, в основном, типичны и выявляют одинаковые отношения. Перепады заметны при возникновении пигмента и в чувственности к новобиоцину.

Известен целый арсенал патогенных факторов этого микроорганизма, с помощью которых он в силах перешагнуть через защитный барьер организма, сделать неэффективными антибактериальные препараты и вызвать фатально текущие процессы.

Исследование патогенных факторов вышеотмеченных групп (таблица №2) выявило, что ферментация плазмокуагулазы и углеродов (глюкоза, манит, лактоза, сахароза) в

аэробных условиях для всех четырёх групп одинакова и, соответственно, равна: 80±5,65%, 82±5,43%, 86±4,90% и 100%-ам. Гемолитическая активность для I группы - 92±3,83%, для II группы - 98±1,97%, для III и IV групп - 100%.

Патогенные факторы *S. aureus*

Таблица №2

№	Идентификационные признаки	группа n=50		II группа n=50		III группа n=50		IV группа n=50	
			%		%		%		%
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10
1	Плазмокоагулаза—положительная	40	80,0±5,65	41	82,0±5,43	43	86,0±4,90	50	100
2	Каталаза-положительная	50	100	50	100	50	100	50	100
3	Уреаза—положительная	30	60,0±6,92	32	64,0±6,78	39	78,0±5,85	48	96,0±2,77
4	Гемолизная активность — положительная	46	92,0±3,83	49	98,0±1,97	50	100	50	100
5	Лецитина**зная** активность	29	58,0±7,97	31	62,0±6,86	41	82,0±5,43	48	96,0±2,77
6	Протеолизная активность (возникновение H_2S)	36	72,0±634	38	76,0±6,10	43	86,0±4,90	47	94,0±3,35
7	Ферментация манита в анаэробных условиях	33	66,0±6,69	35	70,0±6,48	45	86,0±4,90	46	92,0±3,83
8	Ферментация углеродов (глкоза, манит, лактоза, сахароза)в аэробных условиах	40	80,0±6,65	41	82,0±5,43	43	86,0±4,90	50	100

Лецитинизная активность для I группы – 58,0±7,97%, для II – 62,0±6,86%, для III и IV групп, соответственно, – 82,0±5,43% и 96,0±2,77%, т.е. чувствительные резистентные штаммы, по сравнению с III и IV группами в меньшей степени выявляют патогенность. Также малоактивными являются штаммы I и II групп по ферментационной способности каталазы, урэазы и протэазы, чем штаммы III и IV групп. Надо отметить, что среди групп, по всем признакам, патогенной активностью выделяются MRSA штаммы. Отсюда вытекает, что по патогенным факторам, чувствительные штаммы характерезуются меньшей актив-

ностью, нежели резистентные, мультирезистентные и MRSA штаммы. Также, по патогенным принакам, MRSA штаммы характеризуются самой высокой активностью. Самая высокая кореляция в штаммах *S. aureus* к активности ферментов и субстратов была замечена в одном штамме. Также, в одном штамме эта корреляция была самой низкой (ферменты - 40,0±13,09%, субстраты - 53,3±13,33%). В остальных случаях, в этом отношении, среди этих процентных показателей штаммы стоят в серединном положении.

Известно, что у больных с тяжелыми хроническими заболеваниями ослаблена иммунная система. По этой причине, они являются в меньшей степени резистентными к инфекциям. У таких больных инфекции протекают более тяжело; нередки и летальные исходы, что часто является результатом этих инфекций. По этой причине, исследовали жизнедеятельность и активность (таблица №3) патогенных факторов *S. aureus* штаммов у онкологических пациентов. Ферментная активность выделенных из онкопациентов исследуемых *S. aureus* штаммов значительно выше по сравнению с контрольными и только в редких случаях они бывают одинаковыми.

Интенсивность жизнедеятельности патогенных факторов, выделенных из онкопациентов резистентных к антибиотикам штаммов

Таблица №3

№	Факторы патогенности	Диаметр гемолиза в миллиметрах		Время свёртывания плазмы		Распад мочевины по часам		Мгновенная	Интенсивность изменения цвета							
		>5	>5	15°	60°	4	24	0	Бледно—чёрный	Тёмно—чёрный	Бледно—коричневый	Тёмно—коричневый	Бледно—красный	Тёмно—красный	Зеленоатый—жёлтый	Жёлтый
1	2	3	4	5	6	7	8	9	10	11	12	13	14	15	16	17
1	**I ферменты** гемилозин															
	Опыт	2	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	контроль	13	3	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
2	Плазмокоагулаза															

	Опыт	—	—	15	1	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	контроль	—	—	5	11	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
3	Уреаза															
	Опыт	—	—	—	—	1	15	—	—	—	—	—	—	—	—	—
	контроль	—	—	—	—	0	14	—	—	—	—	—	—	—	—	—
4	Каталаза															
	Опыт	—	—	—	—	—	—	16	—	—	—	—	—	—	—	—
	контроль	—	—	—	—	—	—	16	—	—	—	—	—	—	—	—
5	Протеаза															
	Опыт	—	–	–	–	–	–	––	3	13	–	–	–	–	–	–
	контроль	–	–	–	–	–	–	–	5	4	–	–	–	–	–	–
6	Лецитиназа															
	Опыт	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2	10	–	–	–	–
	контроль	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4	3	–	–	–	–
1	**II ферментация Углеродов** а) аэробная Манит															
	Опыт	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4	12	–	–
	контроль	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	6	10	–	–
2	Глюкоза															–
	Опыт	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2	14	–	–
	контроль	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	6	10	–	–
3	Сахароза															
	Опыт	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	3	13	–	–
	контроль	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4	12	–	–

4	Лактоза															
	Опыт	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	2	14	–	–
	контроль	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	6	10	–	–
5	б) анаэробная Манит															
	Опыт	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	4	12
	контроль	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	–	7	9

Результаты показывают, что патогенные факторы выделенных у онкологических пациентов *S. aureus* штаммов, своей жизнедеятельностью, активностью и агрессивностью намного превосходят патогенные факторы штаммов, выделенных у неонкологических пациентов. Фермент каталаза характеризуется максимальной активностью как в подопытных, так и в подконтрольных штаммах. Одинаковой активностью характеризуются плазмокоагулаза и уреаза. За ними следуют гемолизин, протеаза и лецитиназа. Идентификационная ферментация углеродов *S. aureus* различна. Большей активностью характеризуются глюкоза и лактоза; на следующих местах – сахароза и манит, которые, в аэробной и анаэробной среде, характеризуются одинаковой активностью.

Широкое распространение антибиотикорезистентных штаммов микроорганизмов поставило перед большими проблемами медицинское общество. В этом отношении особенное внимание привлекают вызванные *S. aureus* многочисленные и тяжело проходящие инфекции.

Изучение антибиотикорезистентности выделенных в г. Тбилиси в 2008–2012 годах *S. aureus* штаммов выявило мультирезистентные штаммы. Установили, как часто они встречаются по возрасту, полу пациентов и по источникам их выделения. Из выделенных нами 557 *S. aureus* штаммов, резистентные – 355, что составляет 63,73% изученных штаммов. Из 279 штамов, т.е. 50,09%, оказались мультирезистентными, среди них 76, т.е. 27,24% являются MRSA-штаммами (диаграммы №1 и №2)

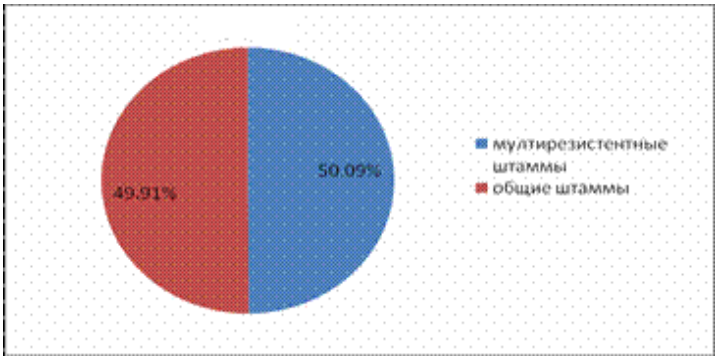


Диаграмма №1. Распространение мультирезистентности *S. aureus* штаммов

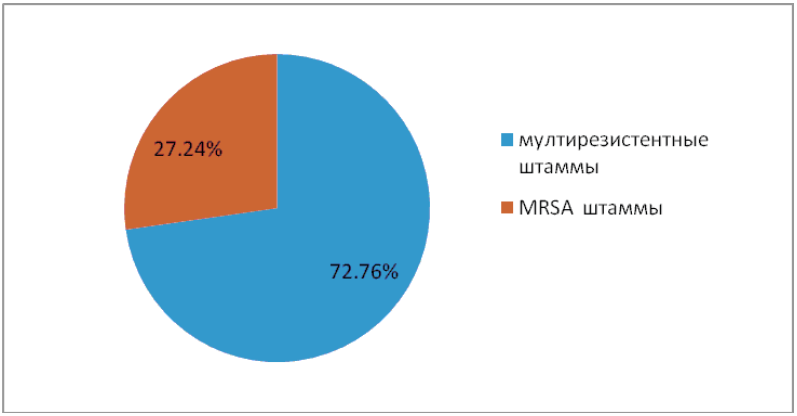


Диаграмма №2. Частота встреч MRSA в мультирезистентных штаммах *S. aureus*

Установлено, что количество выделенных в вышеуказанных годах мультирезистентных *S. aureus* штаммов колеблется от 34,88±2,85% до 60,43±2,90%. Просматривается увеличение частоты встреч мультирезистентных штаммов *S. aureus* в 2011–2012 годах, соответственно, от 58,71±2,94% - до 60,43±2,93%; а с 2008 г. до – 2010 г. этот показатель уменьшается от 54,11±2,98% до 34,88±2,85% (таблица №4).

Мультирезистентные штаммы *S. aureus* по годам, возрасту и полу n=279

Таблица №4

№	год	Количество штаммов			пол				Возрастные группы				
		Общее количество штаммов	Мультирезистентные штаммы		**Женс.**		Мужск.						
			абс	%	абс	%	абс	%	D1-5	5-20	20-40	40-60	60>
1	2008	85	46	54,11±2,98	19	41,30±2,94	27	58,69±2,94	3	9	15	13	6
2	2009	99	49	49,49±2,99	19	38,77±2,92	30	61,22±2,92	4	6	21	15	3
3	2010	105	36	34,88±2,85	15	41,66±2,95	21	58,33±2,93	2	8	15	8	3
4	2011	109	64	58,71±2,94	29	45,31±2,97	35	54,69±2.56	5	15	25	13	6
5	2012	139	84	60,43±2,93	35	41,66±2,95	49	58,33±2,93	8	23	26	19	8
6	всего	557	279	50,09±2,99	117	41,93±2,94	162	58,06±2,91	22	61	102	68	26

Надо отметить, что показатель 2008 года почти идентичен показателю 2011–2012 годов. Частоту встреч мультирезистентных штаммов в изученных нами возрастных группах, в целом, можно расставить в следующей последовательности: 0-5 возрастная группа - 22 случая; выше 60-ти лет - 26; 5-20 лет - 61; 40-60 лет - 68; 20-40 лет - 102 (таблица №4).

Что касается источников выделения, самое большое количество мультирезистентных штаммов *S. aureus* было выделено из полости рта - 54 штамма, из гортани и ран - по 40 штаммов. В остальных случаях их количество более менее разное.

Установили устойчивость мультирезистентных штаммов *S. aureus* различным группам антибиотиков. Результаты опыта даны в таблице №5.

Количество мультирезистентных штаммов *S. aureus* к разным группам антибиотиков (n=279)

Таблица №5

	Наименование антибиотиков	Количество резистентных шламов	
		абс	%
	Бета—лактамиды		
1	Пенициллин	272	97,50±0,94
2	Ампициллин	268	96,05±1,17
3	Оксациллин	151	54,12±2,99
4	Цефокситицин	210	75,27±2,58
5	Эмипенем	96	344,41±2,85
6	Аминогликозиды Канамицин	195	69,85±2,75
7	Тобрамицин	223	79,92±2,40
8	Гентамицин	218	78,14±2,47
9	Стрептомицин	238	85,30±2,12
10	Амикацин	207	74,19±2,62
11	Хинолы Ципрофлоксацин	165	59,14±2,95
12	Норфлоксацин	160	53,76±2,99
13	Моксифлоксацин	180	64,52±2,87
14	Тетрациклины тетрациклин	180	64,52±2,87
15	Доксациклин	156	55,91±2,97
16	Макролиды Эритромицин	206	73,83±2,64
17	Кларитромицин	157	56,27±2,98
18	Азитромицин	162	58,06±2,96

19	Линкозамиды Клидамицин	205	73,48±2,64
20	Гликопептиды Ванкомицин	63	22,58±2,51
21	Другие препараты Рифамицин	115	41,21±2,95
22	Фузидин	191	64,46±2,87
23	Хлорамфеникол	218	78,14±2,47

Из рассмотренных групп антибиотиков сравнительно высокорезистентны и эффективны представители β–лактамидов имипенем и представитель группы гликопептидов ванкомицин. Антибиотики средней эффективности, в основном, встречаются в группах хинолов, тетрациклинов и макролидов. Неэффективные антибиотики в самой большей мере встречаются в группах β-лактамов и аминогликозидов.

Изучение антибиотикорезистентности *S. aureus* штаммов к 23-м антибиотикам выявило, что амплитуда мультирезистентности довольно большая и колеблется от 3-х – до 23-х препаратов.

Резистентность к антибиотикам в микроорганизмах, в большинстве случаев, определяется нехромосомным элементом – R-плазмидом. Поэтому мы изучили частоту распространения R-плазмидов в мультирезистентных штаммах *S. aureus*. 80,0±5,96%-ов исследуемых штаммов содержали R-плазмиду.

Определили то число антибиотиков, которое определяет мультирезистентность. Чаще всего встречаются мультирезистентные штаммы к антибиотикам 7-ми и 8-ми названий. А в самой меньшей мере к антибиотикам 3, 4 и 11-ти названий.

Изучили антибиотикочувствительность штаммов, содержащих R-плазмиды.

Результаты опыта даны в таблице №6.

Антибиотикорезистентность штаммов содержащих R-плазмиды
n=36

Таблица №6

№	Наименование	Количество резистентных штаммов	
		абс	%
1	Бензинпенициллин	6	16,66±3,78
2	Ампициллин	4	11,11±5,23
3	Оксациллин	2	5,55±3,79
4	Цефокситин	0	—
5	Имипенем	0	—
6	Канамицин	1	2,77±2,70
7	Тобрамицин	0	–
8	Гентамицин	2	5,55±3,79
9	Стрептомицин	2	5,55±3,79
10	Амикацин	2	5,55±3,79
11	Ципрофлоксацин	1	2,77±2,70
12	Норфлоксацин	1	2,77±2,70
13	Максифлоксацин	2	5,55±3,79
14	Тетрациклин	2	5,55±3,79
15	Доксициклин	0	–
16	Эритромицин	3	8,33±4,59
17	Кларитромицин	2	5,55±3,79
18	Азитромицин	3	8,33±4,59
19	Клиндамицин	2	5,55±3,79
20	Ванкомицин	1	2,77±2,70
21	Рифампицин	2	5,55±3,79
22	Фузидин	3	8,33±4,59
23	Хлорамфеникол	2	5,55±3,79

Из этих результатов явствует, что штаммы сравнительно высокорезистентны к бензилпенициллину (16,66±3,78%) и ампициллину (11,11±5,23%), а к другим препаратам выявляет среднюю и низкую резистентность. Не выявилась резистентность к цефокситину, имипенему, тобрамицину и доксициклину.

Сделали элиминацию R-фактора из мультирезистентных штаммов *S. aureus* при высокой температуре. До элиминации, по стойкости к антибиотикам штаммы дают разные картины. По статистической обработке, показатель стандартного отклонения вполне элимированных 12-ти штаммов в отношении данного количества штаммов (35) составляет ±8,14% и 34,28±8,14% (см. диаграмму №3).

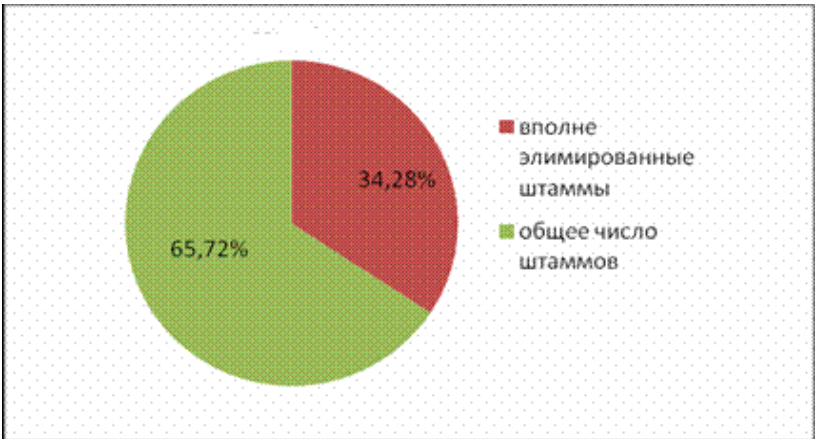


Диаграмма 3

Полная элиминация R-плазмидов в мультирезистентных штаммах *S. aureus*. До элиминации чаще всего встречаются ампициллин и амоксациллин (94,28±2,36%); (таблица №7).

По последовательности следующие места занимают: канамицин (80,000±6,7%), пенициллин (47,28±7,65%), карбенициллин и азитромицин – каждый (71,43±7,65%), стрептомицин (65,71±8,02%), эритромицин (60,00±8,28%), гентамицин (57,14±8,36%), ципрофлоксацин(51,43±8,44%)

Резистентность *S. aureus* штаммов – до и после элиминации n=35

Таблица №7

№	Название антибиотика	До элиминации		После элиминации	
		абс	%	abc	%
1	Ампициллин	33	94,28±2,36	14	40,00±8,40
2	Пенициллин	26	74,28±7,39	3	8,57±4,80
3	Карбенициллин	25	71,43±7,65	15	42,85±8,36
4	Амоксациллин	33	94,28±2,36	3	8,57±4,80
5	Стрептомицин	23	65,71±8,02	1	2,85±2,80
6	Канамицин	28	80,00±6,76	5	14,29±5,98
7	Гентамицин	20	57,14±8,36	0	
8	Ципрофлоксацин	18	51,43±8,44	0	
9	Эритромицин	21	60,00±8,28	1	2,85±2,80
10	Азитромицин	25	71,43±7,65	2	5,71±3,79

После элиминации, по сохранению резистентности, вышеизложенная последовательность изменяется. Самый высокий показатель имеет карбенициллин (42,85±8,36%), следующие ампициллин (40,00±8,40%), канамицин (14,29±5,98%) пенициллин и амоксацилин имеют равные показатели (8,57±2,80%), азитромицин (5,71±4,80), стрептомицин (2,85±2,80%). В случие же гентамицина и ципрофлоксацина штаммы полностью потеряли резистентность. Приведенные в опыте все антибиотики подчинились фактору элиминации; в частности, тепловой обработке при высокой температуре - 48ºС; почти половина антибиотиков испытала полную эллиминацию. Среди них, чаще всего испытало эллиминацию большинство антибиотиков группы В-лактамидов. По статистической обработке, показатель стандартного отклонения вполне эллиминированных 12-ти штаммов в отношении данного общего количества штаммов (35), составляет ±8,14% и 34,28±8,14%.

2.3. Выводы

1. Чувствительные, резистентные, мультирезистентные штаммы *S. aureus* и MRSA, по морфологическим, тинкториальным и культуральным свойствам, в основном, типичные и выявляют одинаковое отношение к изученным факторам. По патогенным признакам, самой большой активностью характеризуются штаммы MRSA.

2. В штаммах *S. aureus* выявились пять самых активных ферментов - ADHL, dMAL, dMNE, SAC, dTRE. Из идентификационных субстратов, самой большой активностью выделяется MBdG, OPTO; Найвысшая корреляция к активности ферментов и субстратов замечается в одном штамме (ферменты - 86,67±9,08%, субстраты - 73,33±11,82%). В одном штамме эта корреляция была самой низкой (ферменты -40,00±13,09%, субстраты - 53,33±13,33%).

3. Выделенные у онкологических больных патогенные факторы жезнедеятельностью и октивностью многократно превосходят патогенность выделенных у неонкологических больных штаммов.

4. Частота встреч мультирезистентных штаммов *S. aureus* больше у мужчин (58,06±2,91%-ов), чем у женшин (41,93±2,94%-ов); в возрастных группах количество мультирезистентных штаммов S. aureus колеблется от 22-х случаев (0-

5 возрастная группа) до 102-х случаев (20-40 возрастная группа); самое большое количество мультирезистентных штаммов *S. aureus* было выделено из полости рта - 54 штамма, гортани и ран - по 40 штаммов. В остальных случаях (кровь, моча, перитонеальная жидкость и друг.) они, в большей или меньшей мере, отличались друг от друга количеством.

5. 63,73%-ов местных штаммов *S. aureus* резистентные, а 50,09%-ов мультирезистентные, среди них 27,24% - штаммы MRSA.

6. Количество выделенных в 2008–2009 годах мультирезистентных штаммов *S. aureus* колеблется от 34,88±2,85% до 60,43±2,93%. Увеличение частоты встреч мультирезистентных штаммов замечается в 2011–2012 годах, соответственно, от 58,71±2,94% до 60,43±2,93%.

7. В местных штаммах *S. aureus* амплитуда мультирезистентности довольно высокая и колеблется от - 3-х - до 23-х названных препаратов; наиболее часто встречаются 4 и 8 наименований мультирезистентных штаммов к антибиотикам, реже всего 19, 21, 23 наименований мультирезистентных штаммов к антибиотикам.

8. В отношении мультирезистентных штаммов *S. aureus* эффективными выявили себя представитель β-лактамидов имипенем и представитель группы гликопептидов ванкомицин. Антибиотики средней эффективности, в основном, встречаются в группах хинолов, тетрациклинов и макролидов. Неэффективные антибиотики в самом большом количестве встречаются в группах β-лактамидов и аминогликозидов.

9. Частота распространения R-плазмидов в мультирезистентных штаммах *S. aureus* равна 80,0±5,96%.

10. Штаммы, содежащие R-плазмиды, сравнительно высокорезистентны в отношении бензилпенициллина (16,66±3,78%), Ампициллина (11,11±5,23%), а к другим препаратам выявляют среднюю и низкую резистентность. Резистентность не была выявлена в отношении цефокситина, имипенема, тобрамицина и доксициклина.

11. Все данные антибиотики, в опытах при высокой температуре, подчиняются фактору элиминации. В частности, термальной обработке на высокой температуре – 48ºС полную элиминацию испытали 34,28±8,14% штаммов. Чаше всех элиминацию испытывает большинство антибиотиков группы β-лактамидов.

3. Список публикаций, отражающих тематику диссертации

1. Sh. Khetsuriani, Kh. Pochkhua, M. Chitaladze, K. Khetsuriani. Frequency of Occurrence of Multiresistant Strains of *Staphylococcus aureus* Isolated in Tbilisi (2008-2012). Advances in Medicine and Biology. Volume 72, 2013 https://www.novapublishers.com/catalog/product_info.php?products_id=45364
2. Kh.Pochkhua, Sh. Khetsuriani, M. Chitaladze, K. Khetsuriani, L. Gabunia. Biological characteristics of Staphylococcus aureus multiresistant strains. Experimental and Clinical Medicine, 2013, # 2, p128-132 www.jecm.ge
3. X. Fochxua, S. Xecuriani, K. Xecuriani, M. Citaladze, L. Gabunia/ Staphylococcus Aureus-is Stamebshi gamovlenili enzimebi. Eqsperimentuli da klinikuri medicina, 2014, #1, 43-47gv.www.jecm.ge.

Благодарность

Определенную часть штаммов *S. aureus* и информацию нам предоставили сотрудники клиники «Аверси» г. Тбилиси, Научно-исследовательского Института бактериофага, микробиологии и вирусологии им. Г. Элиава и Национального антисептического центра им. акад. В. Бочоришвили, за что выражаем им благодарность.