**ДЕРЖАВНА УСТАНОВА**

**„ІНСТИТУТ МІКРОБІОЛОГІЇ ТА ІМУНОЛОГІЇ ім. І.І. МЕЧНИКОВА**

**АКАДЕМІЇ МЕДИЧНИХ НАУК УКРАЇНИ”**

**ВОРОНКІНА ІРИНА АНАТОЛІЇВНА**

**УДК 579.842.1/.2+579.61: 616.34-002-053.2-078(043.3)**

**ОСОБЛИВОСТІ БІОЛОГІЧНИХ ВЛАСТИВОСТЕЙ БАКТЕРІЙНИХ ЗБУДНИКІВ ГОСТРОЇ КИШКОВОЇ ІНФЕКЦІЇ У ДІТЕЙ ТА НОВІ ПІДХОДИ ДО ІДЕНТИФІКАЦІЇ ЕНТЕРОБАКТЕРІЙ**



03.00.07 - мікробіологія

**АВТОРЕФЕРАТ**

дисертації на здобуття наукового ступеня

кандидата медичних наук

**Харків – 2009**

Дисертацією є рукопис.

Робота виконана в ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова АМН України»

**Науковий керівник:**  доктор медичних наук, професор, заслужений діяч науки і техніки України **Волянський Юрій Леонідович**, ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України», директор

**Офіційні опоненти:** доктор медичних наук, професор

**Мінухін Валерій Володимирович,** Харківський національний медичний університет

МОЗ України, професор кафедри мікробіології,

вірусології та імунології

доктор медичних наук, професор

**Сидорчук Ігор Йосипович,**

Буковинський державний медичний університет

МОЗ України, професор кафедри пропедевтики

внутрішніх хвороб, клінічної імунології та

алергології

Захист дисертації відбудеться “ 01 ” липня 2009 р. о 10.00 годині на засіданні спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01 ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І.Мечникова АМН України» (61057, м. Харків, вул. Пушкінська, 14-16).

З дисертацією можна ознайомитись у бібліотеці ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України» (61057, м.Харків, вул. Пушкінська, 14-16).

Автореферат розісланий “ 26 ” травня 2009 р.

Вчений секретар

спеціалізованої вченої ради Д 64.618.01

к.мед.н., с.н.с. Бруснік С.В.

**ЗАГАЛЬНА ХАРАКТЕРИСТИКА РОБОТИ**

**Актуальність теми**. Гострі кишкові інфекції (ГКІ) мають суттєвий вплив на здоров’я населення України та світу в цілому. Так, лише за останні 10 років захворюваність на сальмонельоз в Україні збільшилась майже у два рази, були зареєстровані спалахи шигельозу та інших кишкових інфекцій (О.В. Прокопів, 1998; О.В. Лапушенко та ін., 2004; М.А. Андрейчин, 2007). Причинами такої ситуації вважають мінливість збудників бактеріальних діарей, їх факторів патогенності, що, в свою чергу, призводить до зміни клінічної картини в бік зростання питомої ваги стертих та атипових форм захворювання, несвоєчасного звернення хворого до лікаря, зниження рівня бактеріологічного та серологічного підтвердження діагнозу, збільшення кількості невиявлених джерел інфекції та зниження ефективності протиепідемічних заходів у боротьбі з ГКІ (В.Ф.Марієвський, 1996; Т.Є. Петренко і співавт., 2002).

У сучасних умовах йде перегляд ролі тих чи інших серотипів та внутрішньовидових варіантів не лише патогенних, але й умовно-патогенних мікроорганізмів (УПМ), у тому числі нових видів бактерій (О.В. Стольникова, В.С. Копча, 2002). Коливання видових і внутрішньовидових характеристик збудників, зміна біологічних та епідеміологічних властивостей вимагає їх постійного дослідження та моніторингу. Патогенність та вірулентність є основними критеріями, які використовуються фахівцями для характеристики мікроорганізмів, здатних викликати інфекційний процес (В.Д. Тимаков, 1973; J.M. Johnson, R. Ziegler, 1989; В.М. Бондаренко, А.Р. Мавзютов, 2002; О.В. Бухарин, 2006), розвиток якого відбувається завдяки наявності у мікроорганізмів цілого арсеналу цих факторів: адгезинів, антилізоцимної та антикомплементарної активностей, резистентності до антибактеріальних препаратів і фагів. Зростання захворюваності на ГКІ вчені пов’язують із наявністю та ступенем прояву агресивності у бактерій саме вказаних властивостей (R.L. Guerrant, C.A. Wanke, 1997; В.С. Копча, С.А. Деркач, 2004).

Своєчасна діагностика завжди була і є одним із найважливіших завдань медицини. Із більш широким використанням у наукових дослідженнях електронно-обчислювальної техніки і розвитком прикладної математики з’явилась велика кількість робіт, пов’язаних із намаганням формалізувати процес діагностики гострих кишкових інфекцій за допомогою математичних моделей (Г.М. Яковлєв, В.Н. Ардашев, 1981; В.А. Лісовський, Г.М. Яковлєв, 1988). Значний прогрес у галузі діагностики і перетворення її з інтуїтивного мистецтва висококваліфікованих лікарів у чітку науку з високим рівнем формалізації, на думку вчених, може бути досягнутий лише при переході від використання суб’єктивної діагностичної інформації експертів до об’єктивної, що генерується за допомогою методів штучного інтелекту (М.Д. Кац, В.Н. Ардашев, 1981; М.Д. Кац, Л.М. Цогоєва, 1991; O. Mayorov, M. Kats, 2000).

Звичайний, стандартний метод таксономічної ідентифікації ентеробактерій за фенотипічними ознаками передбачає проведення 49 біохімічних тестів. Отриману сукупність фенотипічних ознак аналізують шляхом візуального зіставлення з сукупностями ознак, характерних для окремого представника сімейства, наведеними в таблицях визначника Берджі. Такий спосіб ідентифікації є досить рутинний, крім цього виникають труднощі при отриманні нетипових значень біохімічних тестів та їх комбінацій. Розробка ефективних методів діагностики за допомогою комп’ютерних програм дозволить значно спростити діагностику ГКІ та підвищити її точність.

У основі існуючих схем лікування ГКІ, як і раніше, лежить використання антибактеріальних препаратів. Генетична пластичність патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, здатність набувати та втрачати плазміди веде до формування штамів, резистентних до протимікробних засобів. За даними дослідників, близько 60% шигел та сальмонел резистентні до антибіотиків, що застосовуються в сучасних умовах (P.J. Sansonetti, 2000; В.І. Сергевнін, Т.М. Лебедєва, Е.В. Сармометов, 2001; Н.А. Галушко, А.Г. Дьяченко, 2005; Vito Ricci, Peter Tzacas et al., 2006). Перспективним є вивчення чутливості патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів до антибіотиків з урахуванням регіональних особливостей циркулюючих штамів, пошук найбільш ефективних серед них, розробка нових, більш досконалих, лікувальних схем із використанням альтернативних препаратів, у тому числі й бактеріофагів. Бактеріофагія та можливість використання цього феномену для лікування інфекційних хвороб вивчається досить давно та з різною інтенсивністю (A. Sulakvelidze, Z. Alavidze, J.G. Morris, 2001). Із появою антибіотиків, їх широким застосуванням фаготерапія не мала широкого використання (особливо у країнах Заходу). В останні роки інтерес до фагів відновився, що пов’язано з появою великої кількості антибіотикорезистентних штамів та зростанням інфекційної захворюваності (В.Н. Крилов, 2002). Цілий ряд повідомлень свідчить про різну ефективність фагів (З.І. Алавідзе, Т.Г. Чанішвілі, 1989; Е.Б. Лазарєва, 2002; N. McKinney, 2008). Постає необхідність визначення ступеня літичної дії існуючих комерційних препаратів-фагів на циркулюючі штами шигел та сальмонел у кожному регіоні з метою подальшого раціонального використання їх у клінічній практиці.

**Зв’язок роботи з науковими програмами, планами, темами.** Дисертаційна робота пов’язана з плановою темою ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України» «Диференційна діагностика та прогноз наслідків захворювань шлунково-кишкового тракту (інфекційного та неінфекційного генезу), що супроводжуються синдромом дисбактеріозу кишечнику», № держреєстрації 0105U001111. Дисертант особисто вивчив адгезивність, антилізоцимну активність, чутливість до антибіотиків та бактеріофагів патогенних та умовно-патогенних бактерій, збудників ГКІ, брав участь у розробці макетів таблиць та їх заповненні для подальшої обробки і побудови синхронної математичної моделі.

Тема дисертаційної роботи затверджена на засіданні Вченої ради ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України» (протокол № 3 від 20 березня 2005 року).

**Мета і завдання дослідження.** *Мета* роботи – підвищення ефективності мікробіологічної діагностики та лікування дітей з ГКІ шляхом удосконалення методів диференціації збудників і тактики антибактеріальної терапії.

Для досягнення мети сформульовано *основні задачі:*

1. Охарактеризувати епідеміологічні особливості ГКІ у Східному та Західному регіонах України (на прикладі м. Харкова та м. Тернополя).

2. Вивчити фактори патогенності (адгезивну, антилізоцимну та антикомплементарну активність) циркулюючих у сучасних умовах штамів шигел, сальмонел та УПМ різних видів – збудників ГКІ.

3. Дослідити фактори патогенності музейних штамів шигел та сальмонел, вилучених у 1950-1960 роки, провести порівняльне вивчення біологічних властивостей з нині циркулюючими штамами.

4. Оцінити чутливість сучасних та музейних штамів мікроорганізмів роду Shigella, Salmonella до антибактеріальних препаратів.

5. Провести вивчення чутливості мікроорганізмів роду Shigella та Salmonella різних термінів вилучення до комерційних зразків бактеріофагів.

6. Створити авторську колекцію штамів мікроорганізмів роду Shigella та Salmonella.

7. Розробити математичну модель спрощеної ідентифікації ентеробактерій.

*Об,єкт дослідження:* захворюваність ГКІ, випорожнення дітей, хворих на гостру кишкову інфекцію; штами мікроорганізмів (Shigella, Salmonella, K.pneumoniae, P.mirabilis, E.cloacae, S.aureus).

*Предмет дослідження:* інтенсивні показники захворюваності на ГКІ; фактори патогенності шигел, сальмонел та УПМ (адгезивність, антилізоцимна, антикомплементарна активність); антибіотикочутливість; фагочутливість.

*Методи дослідження*: мікробіологічні, біохімічні, математичні, математико-статистичні.

**Наукова новизна** **одержаних результатів.** Уперше на основі результатів експериментів та за допомогою методу штучного інтелекту виявлено основні тест-комплекси для ідентифікації бактерій сімейства Enterobacteriaсeae.

Уперше шляхом розробки тест-комплексів побудована математична модель та створена комп’ютерна програма для спрощеної ідентифікації родів і видів бактерій родини Enterobacteriaceae. На розроблений спосіб ідентифікації ентеробактерій отримано патент України.

Уперше проведено ретроспективне вивчення факторів патогенності збудників ГКІ. Визначено, що в останні роки спостерігається очевидне зростання вірулентності шигел та сальмонел.

**Практичне значення одержаних результатів.** Додатковими епідеміологічними маркерами для диференціації патогенності збудників дизентерії та сальмонельозу можуть бути їх адгезини, ступінь антилізоцимної та антикомплементарної активності.

Отримані дані щодо зростання вірулентності збудників ГКІ можуть бути використані для аналізу та прогнозу епідемічної ситуації, удосконалення системи епіднагляду і розробки нових протиепідемічних заходів.

Доведена необхідність проведення постійного динамічного моніторингу щодо чутливості збудників до антибактеріальних препаратів та фагів, що дозволить чітко визначати засоби та схеми індивідуальної оптимальної терапії, складати формуляр ефективних антибіотиків для окремих регіонів, доповнити існуючі протоколи і визначити загальну стратегію і тактику боротьби з ГКІ.

Розроблена математична модель ідентифікації ентеробактерій дозволяє спростити та полегшити мікробіологічну діагностику ГКІ і може бути використана в діяльності клініко-діагностичних лабораторій, насамперед під час проведення епідеміологічного моніторингу. Дана комп’ютерна програма впроваджена в роботу практичної бактеріологічної лабораторії Комінтернівської СЕС м. Харкова.

**Особистий внесок здобувача.** Проведено ретроспективний аналіз епідемічної ситуації захворюваності на ГКІ у Східному та Західному регіонах України. Виконано практичну та експериментальну частини роботи: здійснено аналіз і узагальнення даних історій хвороб та інформаційних матеріалів за останні та попередні роки щодо захворюваності на ГКІ, виділено збудники ГКІ, вивчено їх біологічних властивостей (адгезивну, антилізоцимну та антикомплементарну активність) та порівняно отримані дані із біологічними властивостями музейних штамів, визначено чутливість мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів і бактеріофагів. Дисертант здійснив відбір критеріїв для створення комп’ютерної програми спрощеної ідентифікації ентеробактерій та внутрішньолабораторну апробацію самої програми, провів статистичну обробку результатів досліджень. Постановка мети, завдань та обговорення одержаних результатів проводилась спільно із науковим керівником.

Побудова математичної моделі та створення комп’ютерної програми спрощеної ідентифікації ентеробактерій здійснювались за допомогою консультацій професора Каца М.Д. та с.н.с., к.м.н. Деркач С.А., за що ми висловлюємо їм подяку.

У роботі використано архівну та звітну документацію, клінічний матеріал, наданий співробітниками Обласної дитячої інфекційної клінічної лікарні м. Харкова.

**Апробація результатів дисертації.** Основні наукові положення дисертації доповідались та обговорювались на науково-практичній конференції за міжнародної участі і пленумі Асоціації інфекціоністів України «Хіміотерапія та імунокорекція інфекційних хвороб» (м. Тернопіль, 30 травня-1 червня 2005 р.), Українському конгресі з питань антимікробної терапії (м. Харків, 2006 р.), Всеукраїнській науково-практичній конференції за міжнародної участі (м. Харків, 12 квітня 2006 р.), науково-практичній конференції за міжнародної участі «Експериментальна та клінічна ендокринологія: від теорії до практики (Шості Данілевські читання)» (м. Харків, 22-23 лютого 2006 р.), VIІ Міжнародній міждисциплінарній науково-практичній конференції «Сучасні проблеми науки та освіти» (Харків-Сімеїз, 25 червня-2 липня 2006 р.), Національному з`їзді фармацевтів України «Досягнення та перспективи розвитку фармгалузі України» (м. Харків, 28-30 вересня 2005 р.), науково-практичній конференції «Пошук та розробка профілактичних і лікувальних протимікробних засобів, антисептиків, дезінфектантів та пробіотиків» (м. Харків, 20-21 листопада 2006 р.), ІІІ з’їзді мікробіологів Узбекистану (Ташкент, 9-10 листопада, 2005р.), науково-практичній конференції за міжнародної участі «Інфекції в практиці клініциста. Антибактеріальна та антивірусна терапія на догоспітальному та госпітальному етапах» (м.Харків, 27-28 березня 2008 р.).

**Публікації.** На тему дисертації опубліковано 18 наукових праць (3 одноосібно), у тому числі 8 статей у фахових виданнях, визначених ВАК України, 1 патент на винахід, 9 тез в матеріалах науково-практичних конференцій, з’їздах, конгресах та пленумах.

**Обсяг і структура дисертації.** Повний обсяг дисертації становить 144 сторінки машинописного тексту, складається із вступу, огляду літератури, опису матеріалів і методів дослідження, чотирьох власних розділів, аналізу й узагальнення результатів досліджень, висновків. Робота ілюстрована 27 таблицями та 12 рисунками. Список використаних джерел викладено на 25 сторінках; робота містить 219 посилань, серед яких 180 – на українські та російські джерела, 39 – на роботи іноземних авторів.

**ОСНОВНИЙ ЗМІСТ ДИСЕРТАЦІЇ**

У огляді літератури представлено характеристику бактерій роду Shigella та Salmonella як збудників ГКІ. Розглянуто основні методи діагностики ГКІ. Проаналізовано дані щодо факторів патогенності бактеріальних збудників кишкових інфекцій, їх чутливості до антибіотиків та бактеріофагів.

Основу дисертації склали результати досліджень, проведених у 2004-2007 рр. на базі Обласної дитячої інфекційної клінічної лікарні м. Харкова і лабораторії екологічного та епідеміологічного моніторингу ДУ «Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України».

**Матеріали і методи досліджень.** Проведено порівняльний аналіз епідемічних особливостей ГКІ в окремих регіонах Сходу і Заходу України за 1990-2007 рр.

Обстежено 399 хворих із діагнозом ГКІ, які знаходились на стаціонарному лікуванні в Обласній дитячій інфекційній клінічній лікарні м.Харкова. Вік обстежених – від 2 місяців до 16 років. Всього вилучено та ідентифіковано 237 штамів сальмонел, 162 штама шигел та 161 штам УПМ. Створено авторську колекцію штамів мікроорганізмів роду Shigella та Salmonella. Штами, що виявились полірезистентними, виділені від хворих із тяжким перебігом ГКІ, з атиповою клінічною картиною, а також ізольовані з нетипових осередків (ліквор, кров), передано на зберігання до колекції музею мікроорганізмів ДУ «ІМІ ім. І.І. Мечникова АМН України» та музею патогенних для людини мікроорганізмів ІЕІХ ім. Л.В. Громашевського (акти від 22.11.2005 №534 та від 16.06.2006 №360.). Усього ліофілізовано 13 штамів шигел та 11 штамів сальмонел.

Чутливість виділених штамів ентеробактерій (шигел, сальмонел та УПМ) до хіміотерапевтичних препаратів і бактеріофагів визначали загально-прийнятими методами. Для визначення фагочутливості використовували „Дизфаг”, „Интестифаг” та „Бактериофаг сальмонеллёзный ABCDE в таблетках с кислотоустойчивым покрытием”, виробництва ГУДП «Биофаг» (Росія).

Для оцінки змін антибіотикорезистентності та вірулентності шигел і сальмонел проведено порівняльне вивчення штамів, виділених від хворих із 40 музейними штамами шигел та 40 музейними штамами сальмонел, що циркулювали у 50-60 рр. минулого століття.

Вивчення адгезивних властивостей ентеробактерій проводилось розгорнутим пробірковим методом. Адгезивність вважали нульовою при значеннях середнього показника адгезії (СПА) від 0 до 1,0; низькою – при СПА від 1,01 до 2,0; середньою – від 2,01 до 4,0; високою – понад 4,0. Також визначали індекс адгезивності мікроорганізму (ІАМ) та коефіцієнт участі еритроцитів в адгезивному процесі (К).

Антилізоцимну активність мікроорганізмів (АЛА) визначали прискореним методом В.Ю. Соколова. При рівні АЛА менше 2 мкг її вважали низькою, від 2 до 3 мкг – середньою і більше 3 мкг – високою.

Визначення антикомплементарної активності (АКА) проводили за допомогою фотометричного методу. АКА вважали низькою при рівні менше 5,0 анти-СН50; середньою при 5,1-15,0 анти-СН50; високою –понад 15,1анти-СН50.

Побудова математичної моделі та створення комп’ютерної програми для спрощеної ідентифікації ентеробактерій здійснювалось за допомогою методу мозаїчного портрету (ММП), що був запропонований М.Д.Кацем (1981).

Дослідження повторювалося п’ять разів. Отримані результати досліджень оброблено методом варіаційної статистики за допомогою програм Biostat-4 і MS Excel 2000 із використанням критерію Стьюдента та коефіцієнта кореляції.

**Порівняльна характеристика епідемічної ситуації відносно ГКІ у Східному та Західному регіонах України.** За останні 17 років загальна захворюваність на ГКІ в Україні зменшилась в 1,7 рази (у 1990 році - 267,0 випадків на 100 тис. населення, у 2007 році - 158,1), та в цілому ще залишається на досить високому рівні. Результати аналізу динаміки захворюваності кишковими інфекціями у Західному (м. Тернопіль) та Східному (м. Харків) регіонах свідчать про наявність ряду особливостей, а саме:

1. Як у Харкові, так і у Тернополі захворюваність кишковими інфекціями в період з 1990 року по 2007 рік була досить високою, хоча її показники і не перевищували загальноукраїнські (рис.1).

2. Майже у всі роки (за винятком 1990 р., 1994 р. та 2003 р.) інтенсивні показники захворюваності ГКІ на Харківщині були дещо вищими, ніж на Тернопільщині (р<0,01).

Виділено наступні епідеміологічні особливості дизентерії залежносто від регіону розповсюдження. Шигельоз у м. Харкові реєструється у 1,4-2,9 рази частіше, ніж у м. Тернополі (рис.2). Ця різниця може бути зумовлена різним індустріальним рівнем розвитку Сходу й Заходу України, високими показниками урбанізації та міграції населення в умовах мегаполісу. Більшість хворих в обох регіонах становлять діти віком до 14 років. Періоди спаду захворюваності на дизентерію у м. Харкові з 1990 року по 2007 рік змінюються періодами її підвищення кожні 2-4 роки, що обумовлено домінуванням у якості збудника шигел Зонне (84,0 – 53,0)%; натомість у м. Тернополі домінує шигельоз Флекснера, при якому циклічність не так чітко проявляється (рис.1, 2).

на 100 тис. нас.

Рис. 1. Захворюваність ГКІ у Східному та Західному регіонах (на прикладі м. Харкова і м. Тернополя) та по Україні за період 1990-2007 рр.

на 100 тис. нас.

Рис. 2. Захворюваність на шигельоз у м. Харкові та м. Тернополі за період  1990-2007 рр.

Наведені показники вказують на необхідність постійного моніторингу рівнів захворюваності ГКІ як на території окремих областей, так і по Україні в цілому. Систематичний збір таких даних та їх аналіз можуть бути використані для проведення більш ефективних профілактичних заходів.

**Біологічні властивості патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, вилучених від хворих на ГКІ.** Встановлено, що шигели, сальмонели та умовно-патогенні мікроорганізми (S.aureus, E.cloacae, P.mirabilis, K.pneumoniae), виділені від хворих на ГКІ дітей, мають різний ступінь прояву факторів патогенності: адгезивної, антилізоцимної та антикомплементарної активності. Для більшості штамів S.sonnei характерна середня адгезивність – (78,9±3,8)% та висока антикомплементарна активність – (83,3±3,5)%. Шигелам Флекснера притаманна середня антикомплементарна активність – (60,4±7,1)% та середні показники адгезії – (62,5±7,1)%. При порівнянні адгезивних властивостей шигел статистично достовірну внутрішньовидову різницю виявлено за показником «висока адгезивність» (р<0,05), яка виявилась більш характерною для S.flexneri (табл.1). Антилізоцимна активність для обох видів мікроорганізмів виявилась середньою та високою (табл.1, 2).

*Таблиця 1*

**Ступінь адгезивної активності патогенної та умовно-патогенної**

**мікрофлори кишечника**

|  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Назва штаму | Низька адгезивність | | Середня адгезивність | | | Висока адгезивність | |
| Частота вилучення штамів, % | | | | | | |
| абс.ч. | М±m | | абс.ч. | М±m | абс.ч. | М±m |
| S.flexneri | 9 | 18,75±5,7 | | 30 | 62,5±7,1 | 9 | (18,75±5,7)**1** |
| S.sonnei | 18 | 15,8±3,4 | | 90 | 78,9±3,8 | 6 | (5,3±2,1)**1** |
| S.enteritidis | 9 | 6,1±2,0 | | 99 | 67,3±4,0 | 39 | (26,6±3,7)**2** |
| S.typhimurium | 27 | 45,0±6,5 | | 30 | 50,0±6,5 | 3 | (5,0±2,8)**2** |
| Сальмонели груп В, С \* | 15 | 50,0±9,3 | | 9 | 30,0±8,5 | 6 | 20,0±7,4 |
| K.pneumoniae | 23 | 46,0±7,1 | | 17 | 34,0±6,8 | 10 | 20,0±5,7 |
| P.mirabilis | 7 | 31,8±10,2 | | 13 | 59,1±10,7 | 2 | 9,1±6,3 |
| E.cloacae | 7 | 29,2±9,5 | | 14 | 58,3±10,3 | 3 | 12,5±6,9 |
| S.aureus | 15 | 23,1±5,3 | | 24 | 36,9±6,0 | 26 | 40,0±6,1 |

Примітки: \* **-** S.tchiongwe, S.chincol, S.saintpaul, S.caledon, S.lagos; **1** – достовірно вища кількість високоадгезивних штамів S.flexneri порівняно з S.sonnei (р<0,05); **2** – достовірно вища кількість високоадгезивних штамів S.enteritidis порівняно з S.typhimurium (р<0,05).

У групі сальмонел відмічається домінантне значення середньої адгезивної активності штамів S.enteritidis та S.typhimurium, але з високою адгезивною властивістю достовірно лідирують ізоляти S.enteritidis. Для штамів обох видів сальмонел характерні високі показники антикомплементарної активності: (74,8±3,6) % та (96,7±2,3) % відповідно. Антилізоцимна активність у більшості випадків була середньою або високою.

Отже, деякі фактори патогенності доцільно використовувати для внутрішньовидової диференціації збудників, виділених від хворих на дизентерію та сальмонельоз, і застосувати для визначення рівня патогенності циркулюючих штамів.

*Таблиця 2*

**Частота виділення шигел та сальмонел із різною**

**антикоплементарною активністю, %**

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Назва штаму | Низька АКА | | Середня АКА | | Висока АКА | |
| абс.ч. | М±m | абс.ч. | М±m | абс.ч. | М±m |
| S.flexneri | - | - | 29 | 60,4±7,1 | 19 | 39,6±7,1 |
| S.sonnei | - | - | 19 | 16,7±3,5 | 95 | 83,3±3,5 |
| S.enteritidis | 18 | 12,2±2,7 | 19 | 12,9±2,8 | 110 | 74,8±3,6 |
| S.typhimurium | - | - | 2 | 3,3±2,3 | 58 | 96,7±2,3 |
| Сальмонели груп В, С \* | 2 | 6,7±4,6 | 15 | 50,0±9,3 | 13 | 43,3±9,2 |

Примітка. **\* -** S.tchiongwe, S.saintpaul, S.chincol, S.caledon, S.lagos.

Визначення адгезивності УПМ (K.pneumoniae, P.mirabilis, E.cloacae та S. aureus), виділених від хворих на ГКІ дітей, показало, що найбільша кількість високоадгезивних штамів притаманна S.aureus (40,0±6,1)%. Для P.mirabilis та E.cloacae характерне домінування середньоадгезивних штамів (59,1±10,7)% та (58,3±10,3)% відповідно. Ізоляти із низьким рівнем адгезії найчастіше у даному дослідженні зустрічались у групі K.pneumoniae - (46,0±7,1)%. Вивчення антилізоцимної активності УПМ показало, що в більшості випадків це були штами із середніми значеннями, (86,2±4,3) % ізолятів S. aureus цієї ознаки не мали.

Порівняльний аналіз основних властивостей шигел та сальмонел, вилучених у різні роки, дозволив установити, що сучасні штами S.sonnei та S.flexneri стають більш адгезивними та володіють вираженою антилізоцимною активністю (р<0,01) (рис.3, 4).

Серед сальмонел виявлено достовірне зменшення відсотку штамів S.typhimurium із низькою антилізоцимною активністю та збільшення кількості мікроорганізмів із середньою антилізоцимною активністю (р<0,01).

Рис.3. Порівняння адгезивних властивостей музейних та сучасних штамів мікроорганізмів

Рис.4. Порівняння АЛА музейних та сучасних штамів мікроорганізмів

Отримані дані дозволяють припустити, що в останні роки спостерігається очевидне зростання вірулентності за показниками адгезивності та антилізоцимної активності збудників шигельозу (викликаного S.sonnei або S.flexneri) та сальмонельозу (обумовленого S.typhimurium), що дозволяє прогнозувати можливість погіршення епідемічної ситуації в найближчому майбутньому.

Результати аналізу зв’язку ступеня тяжкості хвороби з наявністю факторів патогенності у етіологічно значущих мікроорганізмів свідчать про відсутність чіткої залежності між ступенем тяжкості перебігу хвороби та здатністю шигел і сальмонел до адгезії, їх антилізоцимною, антикомплементарною активністю (коефіцієнт кореляції r=0,1...0,47). Вказане можна пояснити перш за все тим, що дані фактори є мікробною „зброєю” інфікування та колонізації і відіграють свою важливу роль у початковому етапі розвитку інфекційного процесу. На тяжкість більше впливають інші фактори (токсигенність збудника, імунний статус хворого, наявність супутних захворювань, дисбіотичних змін тощо).

Визначення чутливості бактерій до антибіотиків показало, що незначна частина збудників ГКІ чутлива до таких антибіотиків, що широко використовуються, як левоміцетин, ампіцилін тощо (табл.3).

*Таблиця 3*

**Загальна кількість чутливих штамів патогенних мікроорганізмів до антибактеріальних препаратів**

|  |  |  |
| --- | --- | --- |
| Препарати | Питома вага штамів, % | |
| Shigella, М±m, n=162 | Salmonella, М±m, n=237 |
| Амікацин | 88,3±2,5 | 84,0±2,4 |
| Канаміцин | 88,9±2,5 | 78,9±2,7 |
| Гентаміцин | 93,8±1,9 | 82,7±2,5 |
| Норфлоксацин | 96,3±1,5 | 93,7±1,6 |
| Офлоксацин | 97,5±1,2 | 94,1±1,5 |
| Ципрофлоксацин | 96,3±1,5 | 95,4±1,4 |
| Цефтріаксон | 79,6±3,2 | 73,8±2,9 |
| Цефтазідім | 92,0±2,1 | 81,4±2,5 |
| Цефотаксім | (88,3±2,5)\* | 55,7±3,2 |
| Левоміцетин | (66,6±3,7)\* | 24,9±2,8 |
| Доксициклін | (77,2±3,3)\* | 9,7±1,9 |
| Ампіцилін | (57,4±3,9)\* | 12,2±2,1 |

Примітки. \* – достовірно вища чутливість шигелл, ніж сальмонелл (р<0,01); n – загальна кількість штамів (абс. число).

Установлено достовірно вищу чутливість шигел, ніж сальмонел, до цефотаксіму, левоміцетину, доксицикліну та ампіциліну (р<0,01). Найвищі показники чутливості як серед сальмонел, так і серед шигел, спостерігались до фторхінолонів.

Досить високі показники чутливості притаманні патогенній мікрофлорі та S.aureus до цефалоспоринів (рис.5).

Рис. 5. Порівняльна характеристика чутливості патогенних та УПМ до антибактеріальних препаратів

Рис.6. Порівняння чутливості музейних та сучасних штамів мікроорганізмів

Достовірно нижчу чутливість до цих препаратів проявляють K.pneumoniae, P.mirabilis та E.cloacae (р<0,05). Порівняння антибіотикочутливості сучасних та музейних штамів свідчить про зменшення чутливості нині циркулюючих шигел до левоміцетину та ампіциліну і зниження чутливості клінічних штамів сальмонелл до ампіциліну, доксицикліну, левоміцетину, канаміцину та цефотаксіму (р<0,01) (рис.6).

Таким чином, у зв’язку з появою серед сучасних ізолятів значної кількості резистентних мікроорганізмів, необхідно суттєво обмежити застосування антибіотиків без визначення чутливості до них штамів-збудників. З іншого боку, актуальним є пошук нових антибактеріальних препаратів для профілактики і лікування ГКІ та розробка альтернативних антибіотикам лікувально-профілактичних протимікробних засобів.

Одними з таких альтернативних засобів можна вважати бактеріофаги. Використання їх стає можливим за умов достатньої специфічності та вираженої літичної активності. Нами досліджено чутливість клінічно значущих штамів шигел (n=162) та сальмонел (n=237), виділених від хворих дітей, до літичної дії виробничих бактеріофагів. Близько 60% досліджених штамів шигел, виділених від хворих на ГКІ дітей, мали високу чутливість (зливний лізис) до дизфагу та інтестифагу. Відносно S.sonnei зливний лізис спостерігався під дією дизфагу у (57,6±4,6)%, інтестифагу – у (65,8±4,5)%. Така ж тенденція спостерігалась і для S.flexneri: чутливість до дизфагу та інтестифагу була (45,8±7,3)% та (60,4±7,1)% відповідно. Сальмонели виявились менш чутливими до бактеріофагів, ніж шигели. Майже в 90% випадків був відсутній зливний лізис як під дією бактеріофагу сальмонельозного ABCDE (в лікарській формі таблеток), так і інтестифагу. Серед S.enteritidis виявлено достовірно вищу чутливість до інтестифагу, ніж до бактеріофагу сальмонельозного ABCDE. Так, під дією бактеріофагу сальмонельозного напівзливний лізис спостерігався у (6,8±2,0)%, інтестифагу – у (17,7±3,2)%; кількість негативних колоній (до 10) у першому випадку мали (32,0±3,9)% штамів, у другому – (15,6±3,0)% штамів (р<0,01). У групі S.typhimurium та серед інших представників роду Salmonella (S.tchiongwe, S.saintpaul, S.chincol, S.caledon, S.lagos) літична дія інтестифагу також виявилась дещо вищою, ніж бактеріофагу сальмонельозного (р>0,1).

Зіставлення фагочутливості музейних та нині циркулюючих штамів показало достовірно вищу чутливість музейних штамів шигел та сальмонел до інтестифагу. Крім цього, штами сальмонел, що циркулювали у минулому столітті, так само як і сучасні, проявили низьку чутливість до бактеріофагу сальмонельозного ABCDE в лікарській формі таблеток (табл.4).

Отже, результати проведених досліджень підтверджують, що виробничі препарати бактеріофагів матють різну активність. Також має місце зростання фагорезистентності серед сучасних штамів патогенних мікроорганізмів. У зв’язку з цим актуальною проблемою постає вивчення їх ефективності щодо циркулюючих штамів. На нашу думку, використання бактеріофагів для лікування ГКІ є досить перспективним в умовах зростання серед патогенів кількості антибіотикорезистентних штамів, а також ураховуючи відсутність побічних ефектів відомих виробничих бактеріофагів.

*Таблиця 4*

**Загальна чутливість музейних штамів до бактеріофагів**

|  |  |  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| Ступінь лізису | Найменування мікроорганізму | | | | | | | |
| Shigella, n=40 | | | | Salmonella, n=40 | | | |
| Дизфаг | | Інтестифаг | | Бактеріофаг сальмонельоз-ний ABCDE | | Інтестифаг | |
| абс.ч. | М±m | абс.ч. | М±m | абс.ч. | М±m | абс.ч. | М±m |
| CL | 27 | 67,5±7,5 | 33 | (82,5±6,1)\* | 3 | 7,5±4,2 | 22 | (55,0±8,0)\* |
| SCL | 7 | 17,5±6,1 | 5 | 12,5±5,3 | 5 | 12,5±5,3 | 7 | 17,5±6,1 |
| +++ | 1 | 2,5±2,5 | 1 | 2,5±2,5 | 17 | 42,5±7,9 | 5 | 12,5±5,3 |
| ++ | 4 | 10,0±4,8 | 1 | 2,5±2,5 | 11 | 27,5±7,1 | 3 | 7,5±4,2 |
| + | 1 | 2,5±2,5 | 0 | - | 4 | 10,0±4,8 | 3 | 7,5±4,2 |
| - | 0 | - | 0 | - | 0 | - | 0 | - |

Примітки: \* - достовірно вища чутливість порівняно із сучасними штамами (р<0,01); CL – зливний лізис; SCL – напівзливний лізис; +++ – окремі негативні колонії кількістю >20; ++ – окремі негативні колонії кількістю від 10 до 20; + – окремі негативні колонії кількістю до 10; - – відсутність лізису.

**Спосіб таксономічної ідентифікації ентеробактерій.** Розроблено програмне математичне забезпечення для персонального комп’ютера, здатне аналізувати результати стандартних біохімічних тестів щодо наявності та кількісного співвідношення тест-комплексів, специфічних для певних видів ентеробактерій. Запропоновано для ідентифікації виділеної культури мікроорганізмів уведення десяти-двадцяти тестів зі стандартного переліку Берджі. Якщо під час аналізу отриманих результатів виявляються тест-комплекси переважно одного (або тільки одного) мікроорганізму, ідентифікація вважається закінченою. У випадку, коли результати аналізу свідчать про переважну наявність (>50 %) тест-комплексів різних мікроорганізмів, програма, на основі фактичних даних та ступеня їх відповідності певним групам тест-комплексів окремих видів, пропонує додаткові два-три тести, що дозволяють остаточно з’ясувати питання диференційної діагностики. Ідентифікація вважається закінченою, коли загальна кількість виявлених тест-комплексів, характерних для певного виду, перевищить сумарну кількість тест-комплексів, що зустрічаються у інших бактерій, тобто складе більш, ніж 50 % всіх виявлених тест-комплексів.

Для перевірки ефективності створеної комп’ютерної програми застосовано різні можливі варіанти значень тих чи інших тестів як з використанням усіх сорока дев’яти тестів, так і за результами скороченої (до 15-20 тестів) схеми ідентифікації (табл.5, 6).

*Таблиця 5*

Ідентифікація Salmonella bongori N 78 за комп’ютерною програмою з використанням лише частини тестів

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| №  п/п | 1. Тест | Оцінка теста за класифі­кацією Берджі | Варіанти оцінки тестів, позначених дослідником | | | |
| I | II | III | IV |
| 1 | Індол | - | - | - | - | - |
| 2 | Метилрот | P [+] | ? | + | - | + |
| 3 | Фогес-Проскауер | - | - | - | - | - |
| 4 | Цитрат Сіммонса | + | + | + | + | + |
| 5 | Н2S (сірководень) | + | + | + | + | + |
| 6 | Сечовина | - | - | - | - | - |
| 7 | Феніланін | - | - | - | - | - |
| 8 | Лізин | + | + | + | + | + |
| 9 | Аргинін | + | + | + | + | + |
| 10 | Орнітин | + | + | + | + | + |
| 11 | Рухомість | + | + | + | + | + |
| 12 | Желатина | - | - | - | - | - |
| 13 | Малонат натрію | - | - | - | - | - |
| 14 | Газ із глюкози | P [+] | ? | + | - | - |
| 15 | Лактоза | - | - | - | - | - |
| 16 | Сахароза | - | - | - | - | - |
| 17 | Маніт | + | + | + | + | + |
| 18 | Дульцит | + | + | + | + | + |
| 19 | Саліцин | - | - | - | - | - |
| 20 | Адоніт | - | - | - | - | - |
| 21 | Інозіт | - | - | - | - | - |
| 22 | Сорбіт | + | + | + | + | + |
| 23 | Рафіноза | - | - | - | - | - |
| 24 | Рамноза | + | + | + | + | + |
| 25 | Арабіноза | + | + | + | + | + |
| Висновок за результатами ідентифікації | |  | =5т.к. | =12т.к. | =9т.к. | =9т.к |

Примітка. т.к. – тест-комплекс.

Оскільки в основі моделі лежить саме опис видового фенотипу за 49 тестами з усіма вірогідними варіантами згідно з визначником Берджі, внесення в комп’ютер значень усіх сорока дев’яти тестів, в будь-якому з можливих варіантів комбінації їх значень, досягається 100 % (від імовірного) рівень вірогідності результату. Аналіз триває кілька хвилин.

*Таблиця 6*

Ідентифікація Citrobacter freundii N 9 за комп’ютерною програмою з використанням лише частини тестів

|  |  |  |  |  |  |  |
| --- | --- | --- | --- | --- | --- | --- |
| №  п/п | 1. Тест | Оцінка теста за класифі­кацією Берджі | Варіанти оцінки тестів, позначених дослідником | | | |
| I | II | III | IV |
| 1 | Індол | - | - | - | - | - |
| 2 | Метилрот | + | + | + | + | + |
| 3 | Фогес-Проскауер | - | - | - | - | - |
| 4 | Цитрат Сіммонса | + | + | + | + | + |
| 5 | Н2S (сірководень) | P [+] | ? | + | - | - |
| 6 | Сечовина | P d | ? | + | - | + |
| 7 | Феніланін | - | - | - | - | - |
| 8 | Лізин | - | - | - | - | - |
| 9 | Аргинін | P d | ? | + | - | + |
| 10 | Орнітин | P [-] | ? | + | - | - |
| 11 | Рухомість | - | - | - | - | - |
| 12 | Желатина | - | - | - | - | - |
| 13 | Малонат натрію | P [-] | ? | + | - | - |
| 14 | Газ із глюкози | + | + | + | + | + |
| 15 | Лактоза | P d | ? | + | - | - |
| 16 | Сахароза | P d | ? | + | - | - |
| 17 | Маніт | + | + | + | + | + |
| 18 | Дульцит | P d | ? | + | - | - |
| 19 | Саліцин | - | - | - | - | - |
| 20 | Адоніт | - | - | - | - | - |
| 21 | Інозіт | - | - | - | - | - |
| 22 | Сорбіт | + | + | + | + | + |
| 23 | Рафіноза | P d | ? | + | - | - |
| 24 | Рамноза | + | + | + | + | + |
| 25 | Арабіноза | + | + | + | + | + |
| Висновок за результатами ідентифікації | |  | =1т.к. | =13т.к. | =7т.к. | =7т.к |

Примітка. т.к. – тест-комплекс

За умов використання меншої кількості тестів для бактеріологічної ідентифікації циркулюючих штамів мікроорганізмів переваги запропонованої комп’ютерної програми стають особливо відчутними: на основі ідентичного за обсягом первинного матеріалу спосіб дозволяє в значно коротші терміни проводити більш точну диференційну діагностику серед схожих за фенотипічними ознаками представників різних таксономічних груп (порівняно із стандартними методами).

**ВИСНОВКИ**

У дисертації наведено теоретичне узагальнення і нове вирішення наукового завдання щодо підвищення ефективності мікробіологічної діагностики гострих кишкових інфекцій.

1. Сучасний рівень захворюваності на ГКІ як у Східному, так і у західному регіонах України (на прикладі м. Харкова і м. Тернополя) залишається на досить високому рівні, хоча її показники не перевищують загальноукраїнські. За період із 1990 року по 2007 рік інтенсивні показники захворюваності ГКІ на Харківщині були дещо вищими, ніж на Тернопіллі (за винятком 1990р., 1994р. та 2003р.).

2. Захворюваність на шигельоз у вище зазначених регіонах має ряд особливостей. У м. Харкові дизентерія реєструється у 1,4-2,9 рази частіше, ніж на Тернопільщині. Більшість хворих в обох регіонах становлять діти віком до 14 років. У Східному регіоні домінує шигельоз Зонне, у Західному – має перевагу шигельоз Флекснера. Це вказує на необхідність постійного моніторингу рівня захворюваності на ГКІ як на території окремих областей, так і по Україні в цілому. Збір таких даних та їх аналіз можуть бути використані для підвищення ефективності профілактичних заходів.

3. Шигели, сальмонели та умовно-патогенні мікроорганізми (S.aureus, E.cloacae, P.mirabilis, K.pneumoniae), виділені від хворих на ГКІ дітей, мають різний ступінь прояву факторів патогенності: адгезивної, антилізоцимної та антикомплементарної активності. Існують внутрішньовидові відмінності збудників, виділених від хворих на дизентерію та сальмонельоз. Для більшості штамів S.sonnei характерна середня адгезивність та висока антикомплементарна активність, а для S.flexneri притаманна висока адгезивність (р<0,05) та середня антикомплементарна активність. У групі сальмонел спостерігається домінантне значення середньої адгезивної активності штамів S.enteritidis та S.typhimurium, але з високою адгезивною властивістю достовірно лідирують ізоляти S.enteritidis. Для штамів обох видів сальмонел характерні високі показники антикомплементарної активності. Ці особливості можуть бути використані в якості епідеміологічних маркерів для диференціації патогенності мікроорганізмів.

4. Клінічні штами S.sonnei та S.flexneri, порівняно з музейними, мають виразну адгезивність та більшу антилізоцимну активність (р<0,01). Спостерігається достовірне зменшення відсотку штамів S.typhimurium із низькою антилізоцимною активністю та збільшення кількості мікроорганізмів із середньою антилізоцимною активністю (р<0,01). Зростання вірулентності за показниками адгезивності та антилізоцимної активності збудників шигельозу, викликаного S.sonnei або S.flexneri, та сальмонельозу, обумовленого S.typhimurium, свідчить про можливе погіршення епідемічної ситуації щодо гострих кишкових інфекцій. Між ступенем тяжкості хвороби та здатністю шигел і сальмонел до адгезії, їх антилізоцимною і антикомплементарною активністю чіткої залежності не виявлено (коефіцієнт кореляції r=0,1...0,47).

5. Найвищі показники чутливості як серед сальмонел, так і серед шигел, спостерігались до групи фторхінолонів, цефалоспоринів та аміноглікозидів, достовірно нижча чутливість до цефалоспоринів K.pneumoniae, P.mirabilis та E.cloacae (р<0,05). Спостерігається зменшення чутливості нині циркулюючих штамів до ампіциліну, доксицикліну, левоміцетину, канаміцину та цефотаксіму (р<0,01), що свідчить про необхідність суттєвого обмеження застосування цих антибіотиків у зв’язку із появою серед сучасних штамів значної кількості резистентних мікроорганізмів. Актуальним є пошук нових антибактеріальних препаратів для лікування ГКІ та розробка альтернативних антибіотикам лікувально-профілактичних засобів.

6. Близько 60 % всіх штамів шигел, виділених від хворих дітей на ГКІ, мали абсолютну чутливість до дизфагу та інтестифагу. Сальмонели виявили більш низьку чутливість до бактеріофагів, ніж шигели.

7. Зіставлення фагочутливості музейних та нині циркулюючих штамів показало достовірно вищу чутливість музейних штамів шигел та сальмонел до інтестифагу. Крім цього, штами сальмонел, що циркулювали у минулому столітті, так само, як і сучасні, проявили низьку чутливість до сальмонельозного бактеріофагу ABCDE.

Дослідження підтвердили, що комерційні препарати бактеріофагів проявляють різну активність. Спостерігається тенденція до зростання фагорезистентності серед клінічних штамів патогенних мікроорганізмів. Застосування бактеріофагів для лікування ГКІ є досить перспективним, особливо в умовах зростання кількості антибіотикорезистентних штамів, але потребує вивчення їх ефективності на циркулюючі штами.

8. Побудована математична модель шляхом розробки тест-комплексів та створення комп’ютерної програми для спрощеної ідентифікації родів і видів бактерій родини Enterobacteriaceae, експериментальна перевірка якої показала високу ефективність і об’єктивність одержаних результатів.

9. Інформативність візуально-аналітичного аналізу результатів стандартних біохімічних тестів, які використовуються при ідентифікації ентеробактерій, покращується за рахунок визначення та використання специфічних для окремих представників родини тест-комплексів. Заміна візуально-аналітичного методу комп’ютерним аналізом, оптимізація процедури ідентифікації та принципово новий підхід до проблеми аналізу суттєво спрощує діагностику та підвищує достовірність та експресність методу при одержані нетипових значень біохімічних тестів та їх комбінацій.

Вказане є основою для подальшого розвитку цього науково-практичного напрямку.

**СПИСОК ОПУБЛІКОВАНИХ ПРАЦЬ НА ТЕМУ ДИСЕРТАЦІЇ**

1. Воронкіна І. А. Деякі питання гострих кишкових інфекцій та мікроекології / І. А. Воронкіна // Анали Мечниковського інститу. – 2006. – № 3. –С. 56 - 60. – Режим доступу до журн.: [www.imiamn.org](http://www.imiamn.org)/journal.htm.

2. Адгезивні та антилізоцимна активність свіжовилучених від хворих дітей шигел і сальмонел / І. А. Воронкіна, С. А. Деркач, А. І. Носатенко, Л. С. Габишева, І. Ю. Кучма, Л. А. Білоконова // Вісник Сумського державного університету. – 2007. – № 2. – С. 38 - 43. (Здобувач визначив адгезивну та антилізоцимну активність мікроорганізмів, статистично обрахував, проаналізував результати та підготував матеріали до публікації).

3. Епідеміологічний моніторинг захворюваності шигельозом у різних областях України / В. С. Копча, С. А. Деркач, І. Г. Йовко, І. В. Бенч, Т. Ю. Іванова, І. А. Воронкіна // Інфекційні хвороби. – 2005. – № 4. – С. 49 - 53. (Здобувач провів аналіз звітної документації епідеміологічного відділу міської СЕС м.Харкова та аналіз захворюваності шигельозом у Східному регіоні).

4. Бактеріальні діареї у дітей: чутливість збудників до антибіотиків та проблеми антибактеріальної терапії / Ю. Л. Волянський, М. А. Геогіянц, В. А. Корсунов, І. А. Воронкіна // Проблеми медичної науки та освіти. – 2006. – № 4. – С. 15 - 17. (Здобувач визначив чутливість збудників бактеріальних діарей до антибіотиків, статистично обрахував, проаналізував результати та підготував матеріали до публікації).

5. Особливості мікроценозу кишечника у дітей з кишковими захворюваннями інфекційного ґенезу / С. А. Деркач, Л. М. Руденко, В. М. Номеровченко, А. І. Носатенко, І. А. Воронкіна, І. А. Крилова // Biomedical and biosocial anthropology. – 2006. – № 6. – С. 164 - 167. (Здобувач провів дослідження мікроценозу кишечника хворих шигельозом та сальмонельозом, підготував матеріали до публікації).

6. Особливості складу мікробного біоценозу кишок дітей при інфекційних і неінфекційних захворюваннях / А. І. Носатенко, С. А. Деркач, І. А. Воронкіна, В. С. Копча, І. А. Крилова, Л. С. Габишева, Г. Н. Рибалко // Інфекційні хвороби. – 2007. – № 2. – С. 12 - 15. (Здобувач провів дослідження мікроценозу кишечника хворих шигельозом та сальмонельозом, статистично обрахував, проаналізував результати та підготував матеріали до публікації).

7. Вплив різних абіотичних факторів на життєдіяльність культур Salmonella typhimurium / С. А. Деркач, А. І. Носатенко, І. А. Крилова, Л. С. Габишева, І. А. Воронкіна // Експериментальна і клінічна медицина. –2005. –№ 3. –С.57 - 60. (Здобувач виділив штами S. typhimurium від хворих на гостру кишкову інфекцію, підготував матеріали до публікації).

8. Аналіз антибіотикорезистентності патогенних та умовно-патогенних мікроорганізмів, вилучених від дітей, хворих на гостру кишкову інфекцію / І. А. Воронкіна, С. А. Деркач, О. В. Коцар, А. І. Носатенко, І. А. Крилова, М. А. Піддубна, Л. С. Габишева // Анали Мечниковського інституту. –2008. –№ 1. – С. 30 - 37. – Режим доступу до журн.: [www.imiamn.org](http://www.imiamn.org)/journal.htm. (Здобувач визначив резистентність мікроорганізмів до антибіотиків, статистично обрахував, проаналізував результати та підготував матеріали до публікації).

9. Пат. 84772 Україна, МПК (2006) С12Q 1/04 G01N 33/48. Спосіб таксономічної ідентифікації ентеробактерій / Деркач С. А., Кац М. Д., Носатенко А. І., Давиденко О. М., Кучма І. Ю., Крилова І. А., Воронкіна І. А., Волков Т. О., Волянський А. Ю., Кондратьєв А. Ю. – № а2006 13975; заявл. 28.12.2006). – 12 с.

10. Антибіотикорезистентність збудників бактеріальних діарей у дітей – мікробіологічне обґрунтування раціональної антибіотикотерапії / Ю. Л. Волянський, М. А. Георгіянц, В. А. Корсунов, І. А. Воронкіна // Матеріали І Українського конгресу з питань антимікробної терапії, 2006 р. : тези доп. – Х., 2006. – С. 21 - 23. (Здобувач визначив резистентність мікроорганізмів до антибіотиків, статистично обрахував, проаналізував результати та підготував матеріали до публікації).

11. Воронкіна І. А. Особливосі чутливості збудників дизентерії до антибактеріальних препаратів / І. А. Воронкіна, С. А. Деркач, Л. А. Білоконова // Вклад молодих вчених в розвиток медичної науки і практики: Всеукр. наук.-практ. конф. (з міжнар. участю), 12 квіт. 2006 р. : тези доп. – Х., 2006. – С. 20. (Здобувач визначив чутливість збудників дизентерії до антибактеріальних препаратів, статистично обрахував, проаналізував результати, підготував доповідь та матеріали для публікації).

12. Воронкина И. А. Дисбиоз кишечной микрофлоры у детей острыми кишечными заболеваниями / И. А. Воронкина // Експериментальна та клінічна ендокринологія: від теорії до практики (Шості Данілевські читання): міжнар. наук.-практ. конф., 22-23 лют. 2007 р. : тези доп. – Х., 2007. – С. 129 - 131. (Здобувач провів бактеріологічне обстеження хворих на гостру кишкову інфекцію, визначив характер дизбіотичних змін, підготував доповідь).

13. Микробиологический мониторинг антибиотикорезистентности кишечной флоры / Л. Г. Мироненко, И. А. Воронкина, Е. Г. Перетятко, Т. В. Холодная // Сучасні проблеми науки та освіти: 7-а міжнар. міждисцип. наук.-практ. конф., 25 черв.-2 лип 2006 р. : тези доп. – Х., 2006. – С. 98. (Здобувач визначив резистентність мікроорганізмів до антибіотиків, статистично обрахував, проаналізував результати та підготував матеріали до публікації).

14. Воронкіна І. А. Мікробіологічна характеристика патогенів вилучених у хворих на гострі кишкові інфекції / І. А. Воронкіна // Досягнення та перспективи розвитку фармгалузі України: VI Національний з`їзд фармацевтів України, 28 - 30 вер. 2005 р. : тези доп. – Х., 2005. – С. 498 - 499. (Здобувач провів бактеріологічне обстеження хворих на гостру кишкову інфекцію, підготував доповідь та матеріали до публікації).

15. Москаленко С. В. Эпидемиологические и клинические особенности сальмонеллеза у детей промышленного региона Украины / С. В. Москаленко, И. А. Воронкина // I междунар. (X Всероссийск.) Пироговск. студенческ. науч.-мед. конф., 16 мар. 2006 г. : тезисы докл. – М.,2006. – С. 404. (Здобувач провів аналіз звітної документації епідеміологічного відділу міської СЕС м.Харкова щодо захворюваності на сальмонельоз серед дітей, підготував матеріали для публікації).

16. Воронкіна І. А. Адгезивні властивості шигел та сальмонел, виділених від хворих та носіїв / І. А. Воронкіна, С. А. Деркач // Пошук та розробка профілактичних і лікувальних протимікробних засобів, антисептиків, дезінфектантів та пробіотиків: наук.-практ. конф., 20-21 лист. 2006 р. : тези доп. – Х., 2006. – С. 69. (Здобувач дослідив адгезивність мікроорганізмів, статистично обрахував, проаналізував результати та підготував матеріали для доповіді та публікації).

17. Анализ особенностей сальмонеллезной инфекции в г.Харькове (Украина) / С. А. Деркач, Л. А. Клещар, А. И. Носатенко, И. А. Воронкина, И. А. Крылова, Т. А. Хирная // ІІІ съезд микробиологов Узбекистана, 9-10 нояб., 2005г. : тезисы докл. – Ташкент, 2005. –С. 32. (Здобувач провів аналіз звітної документації епідеміологічного відділу міської СЕС м. Харкова щодо захворюваності на сальмонельоз, підготував матеріали для публікації).

18. Копча В. С. Сучасна ефективність антибактерійного лікування хворих на гострі кишкові інфекції / В. С. Копча, С. А. Деркач, І. А. Воронкіна // Інфекції в практиці клініциста. Антибактеріальна та антивірусна терапія на догоспітальному та госпітальному етапах : міжнар. наук.-практ. конф., 27-28 берез. 2008 р. : тези доп. –Х., 2008. – С. 171 - 172. (Здобувач визначив резистентність бактерійних збудників гострої кишкової інфекції до антибіотиків, статистично обрахував, проаналізував результати та підготував матеріали до публікації).

**АНОТАЦІЯ**

**Воронкіна І.А. Особливості біологічних властивостей бактерійних збудників гострої кишкової інфекції у дітей та нові підходи до ідентифікації ентеробактерій.**

**Дисертація на здобуття вченого ступеня кандидата медичних наук за спеціальністю 03.00.07 – мікробіологія. –ДУ „Інститут мікробіології та імунології ім. І.І. Мечникова АМН України”, Харків, 2009.**

Захворюваність на ГКІ як у Східному, так і у Західному регіонах України залишається на досить високому рівні.

Встановлено зростання вірулентності за показниками адгезивності та антилізоцимної активності збудників шигельозу (S.sonnei, S.flexneri) та сальмонельозу, обумовленого S.typhimurium.

Дослідження антибіотикочутливості показало зменшення чутливості сучасних штаммів, збудників ГКІ до ампіциліну, доксіцикліну, левоміцетину, канаміцину та цефотаксіму (р<0,01).

Побудована математична модель шляхом розробки тест-комплексів та створення комп’ютерної програми для спрощеної ідентифікації родів і видів бактерій родини Enterobacteriaceae, експериментальна перевірка якої показала високу ефективність.

**Ключові слова:** шигельоз, сальмонельоз, фактори патогенності, антибіотикочутливість, фагочутливість, ідентифікація ентеробактерій.

**АННОТАЦИЯ**

**Воронкина И.А. Особенности биологических свойств бактериальных возбудителей острой кишечной инфекции у детей и новые подходы к идентификации энтеробактерий.**

**Диссертация на соискание ученой степени кандидата медицинских наук по специальности 03.00.07. – микробиология. – ГУ „Институт микробиологии и иммунологии им. И.И. Мечникова АМН Украины”, Харьков, 2009.**

Диссертация посвящена проблеме острых кишечных инфекций (ОКИ). Установлены особенности заболеваемости ОКИ в Восточном и Западном регионах Украины. На примере г. Харькова и г. Тернополя показано, что заболеваемость кишечными инфекциями в этих регионах сохраняется на достаточно высоком уровне. За период с 1990 года по 2007 год интенсивные показатели заболеваемости ОКИ в Харькове были выше, чем в Тернополе. Большинство заболевших в обоих регионах составляли дети в возрасте до 14 лет. На Востоке Украины доминировал шигеллез Зонне, на Западе – Флекснера. Все эти факторы указывают на необходимость постоянного мониторинга за уровнем заболеваемости ОКИ как на территории отдельных областей, так и по Украине. Эти данные позволят более эффективно проводить профилактические мероприятия.

Изучение факторов патогенности шигелл, сальмонелл и условно-патогенных микроорганизмов позволило выделить ряд особенностей. Для большинства штаммов S.sonnei характерны средние показатели адгезивности и высокая антикомплементарная активность; S.flexneri присуща высокая адгезивность (р<0,05) и средняя антикомплементарная активность. Антилизоцимная активность у обоих видов микроорганизмов была средней и высокой. В группе сальмонелл доминировали средние значения адгезии и были характерны высокие показатели антикомплементарной активности. Антилизоцимная акивность сальмонелл, также как и шигелл, оказалась средней и высокой. Существуют внутривидовые различия возбудителей, выделенных от больных дизентерией и сальмонеллезом. Эти особенности могут быть использованы в качестве эпидемиологических маркеров для дифференциации патогенности микроорганизмов.

Проведен ретроспективный анализ факторов патогенности шигелл и сальмонелл, выделенных в 50-60 гг. прошлого столетия и сравнение полученных данных с биологическими свойствами современных клинических штаммов. Установлено, что клинические штаммы S.sonnei и S.flexneri проявляют выраженную адгезивность и обладают большей антидизоцимной активностью (р<0,01). Также наблюдается достоверное уменьшение процента штаммов S.typhimurium, имеющих низкую антилизоцимную активность, и увеличение количества микроорганизмов со средними показателями данного признака (р<0,01). Таким образом, происходит повышение вирулентности современных штаммов S.sonnei, S.flexneri и S.typhimurium, что свидетельствует об угрозе ухудшения эпидемической ситуации касательно ОКИ.

Изучение антибиотикочувствительности возбудителей ОКИ показало: сальмонеллы и шигеллы наиболее чувствительны к фтохинолонам, цефалоспоринам и аминогликозидам. Значительная часть возбудителей (80-90%) резистентна к левомицетину и ампициллину. Кроме этого, отмечается уменьшение чувствительности клинических штаммов к ампициллину, доксициклину, левомицетину, канамицину и цефотаксиму (р<0,01), по сравнению с музейными. Достоверно ниже (р<0,05) чувствительность представителей условно-патогенной микрофлоры K.pneumoniae, P.mirabilis и E.cloacae к цефалоспоринам. Существует необходимость ограничения применения антибиотиков для лечения ОКИ и поиск альтернативных препаратов. Такими препаратами могут быть бактериофаги.

Около 60% всех штаммов шигелл обладали абсолютной чувствительностью к дизфагу и интестифагу. Сальмонеллы были менее чувствительны к бактериофагам, чем шигеллы. Сравнение фагочувствительности музейных и современных штаммов показало достверно более высокую чувствительность музейных штаммов шигелл и сальмонелл к интестифагу. Кроме этого, штаммы сальмонелл, циркулировавшие в прошлом столетии, так же как и современные, проявили низкую чувствительность к бактериофагу сальмонеллезному ABCDE в таблетках. Из этого следует, что коммерческие препараты бактериофагов могут иметь различную активность, отмечается тенденция увеличения фагорезистентности среди клинических штаммов. В связи с этим актуальной проблемой является изучение эффективности фагов в отношении циркулирующих штаммов, хотя их применение является достаточно перспективным, особенно в условиях увеличения количества антибиотикорезистентных штаммов.

Своевременная диагностика всегда была одной из самых важных задач медицины, в этом плане и диагностика ОКИ не является исключением. Построена математическая модель путем разработки основных для определенного вида бактерий тест-комплексов. На её основе при помощи метода мозаичного портрета создано программное обеспечение для персонального компьютера, которое позволяет провести идентификацию выделенной культуры. Разработанный метод значительно упрощает диагностику ОКИ и повышает её точность.

**ABSTRACT**

**Voronkina I.A. The features of biological properties of bacterial agents of acute enteric infection in children and new approaches to the Enteribacteriaceae identification.**

**Thesis for scientific degree of candidate of medical sciences by speciality 03.00.07 – microbiology. – SE “Mechnikov Institute of Microbiology and Immunology of the AMS of Ukraine”, Kharkiv, 2009.**

The present morbidity rate in both of Ukraine remains on the sufficiently high level.

The increase in virulence according to such parameters as adhesion and anti-lisozyme activity in agents of shigellosis (S.sonnei, S.flexneri), salmonellosis (S.typhimurium).

The research of antibiotics sensitivity has shown a decrease in sensitivity of modern strains of agents of acute enteric infection to ampicillin, doxycyclin, levomycetine, kanamycine and cefotaxim.

According to the test complexes development and with the help of computer software a mathematical model for simplification of Enteribacteriaceae genera and species identification was built. The experimental test has shown high efficiency.

**Key words:** Shigellosis, salmonellosis, pathogenicity factors, sensitivity to antibiotics, phagosensitivity, enterobacteria identification.

**СПИСОК СКОРОЧЕНЬ**

ГКІ – гостра кишкова інфекція;

УПМ – умовно-патогенні мікроорганізми;

ММП – метод мозаїчного портрету;

ПК – персональний комп’ютер;

АЛА – антилізоцимна активність;

АКА – антикомплементарна активність;

СПА – середній показник адгезії;

К – коефіцієнт участі еритроцитів в адгезивному процесі;

ІАМ – індекс адгезивності мікроорганізму.